

Uji mutagenisitas fraksi ekstrak kloroform daun ambre (*Geranium radula*) terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, dan TA1535 serta profil kandungan kimia fraksi teraktif

Mutagenicity test of the fraction of ambre leaf (*Geranium radula*) chloroform extract against *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA1535 and chemistry profile of active fraction

TANTI PRIYANI, TJAHHADI PURWOKO, ARTINI PANGASTUTI

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126

Manuskrip diterima: 7 Agustus 2014. Revisi disetujui: 4 Februari 2015.

Abstract. Priyani T, Purwoko T, Pangastuti A. 2015. Mutagenicity test of the fraction of ambre leaf (*Geranium radula*) chloroform extract against *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA1535 and chemistry profile of active fraction. *Biofarmasi* 13: 34-39. Ambre (*Geranium radula* Cavan.) is a plant with toxicity effect based on Brine Shrimp Lethality Test (BST) method and so that, it potentially can be used as anticancer agent. The cancer cell, can be normalized by repairing the abnormal gen with selective reverse mutation efforts until its function normal again. The aim of this investigation has examined mutagenic effect from fraction chloroform extract Ambre leaf to bacteria *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, and TA1535, and to get the profile of the most actively chemical contents within which has the biggest mutagenic effect, that can be used to result how much its ability as the anticancer agent. The method in this research is a separation chemical compound components by fractionation of partitioned dissolved result of chloroform extract Ambre leaf using column chromatography with the stationary phase of silica gel GF254 (E. Merck) and mobile phase of wash-benzene, ethyl acetate, chloroform, and methanol. The composition profile of chemical compound is monitored by using Thin Layer Chromatography (TLC). The fraction with different chromatogram profile was tested to its mutagenicity using Ames method. Then its most active fraction that shows the biggest mutagenic effect, executed to which group is its chemical compound belongs. The mutagenicity test result shows that fraction IV has the biggest mutagenic effect with the highest bacterial colony growth at concentration 500 μ l/mL. Fraction IV as the most active fraction was identified on its chemical compound classification with TLC method. The detection result shows that fraction IV has a number of terpenoid and phenolic in its composition.

Keywords: Ambre, Ames method, anticancer, mutagenicity

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di dunia (Astuti et al. 2005). Beberapa publikasi menyebutkan bahwa agen antikanker dapat menyebabkan mutasi. Mutasi merupakan perubahan yang terjadi pada bahan genetik (DNA maupun RNA), baik pada taraf urutan gen maupun kromosom (Moutschen 1985; Mulyadi 1996). Penanggulangan sel kanker dapat dilakukan dengan mereparasi gen abnormal dengan cara mutasi balik selektif sedemikian rupa sehingga akan mengembalikan fungsi normal gen tersebut (Malik 2005). Uji yang digunakan untuk mengetahui adanya mutasi balik selektif adalah uji mutagenisitas dengan menggunakan metode Ames. Metode Ames merupakan metode yang berdasarkan sistem mutasi balik guna mendeteksi adanya *point of mutation* (Isnawati dan Sukmayati 2004).

Saat ini banyak sekali bahan alam yang digunakan sebagai obat alternatif untuk menanggulangi penyakit kanker. Ambre (*Geranium radula* Cavan.) merupakan salah satu tanaman yang menunjukkan efek toksisitas berdasarkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) (Wahyuni dan Rakhmawati 2008). Berdasarkan penelitian

menggunakan metode BST menunjukkan bahwa fraksi IV dari ekstrak kloroform daun Ambre memiliki aktivitas toksisitas dengan nilai LC50 sebesar 758,578 μ g/mL (Ambarwati, *unpublished*). Penelitian lain menyebutkan bahwa partisi larut *wash-benzena* dari ekstrak kloroform daun Ambre memiliki efek mutagenisitas terbesar terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, TA 100 dan TA1535.

Berdasarkan informasi di atas, maka perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sifat mutagenik fraksi dari ekstrak kloroform daun Ambre sehingga dapat diketahui kemampuannya sebagai agen antikanker. Uji mutagenisitas dengan metode Ames menggunakan bakteri strain mutan *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA1535. Hasil positif dari bahan uji yang diperiksa jika mengandung mutagen, maka bakteri dalam media akan mengalami pertumbuhan dengan terbentuknya koloni. Metode pemisahan fraksi ekstrak kloroform daun Ambre dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dan dimonitor profil kandungan senyawa kimianya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi dengan profil kromatogram yang berbeda diuji mutagenisitasnya, selanjutnya fraksi teraktif yang

menunjukkan sifat mutagenik terbesar ditentukan golongan senyawa kimianya.

Tujuan Penelitian ini adalah: Mengetahui potensi efek mutagenik fraksi dari ekstrak kloroform daun *Ambre* terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA1535. Mengetahui profil kandungan senyawa kimia dari fraksi teraktif daun *Ambre* yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Sub Lab Biologi Laboratorium Pusat FMIPA UNS, Surakarta dan Laboratorium Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta pada bulan Juni-Oktober 2009.

Bahan penelitian

Bahan utama adalah hasil partisi larut *wash-benzena* daun *Ambre* yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) Tawang Mangu yang dilakukan proses maserasi dan partisi.

Bahan untuk fraksinasi kandungan senyawa kimia

Fase diam silika gel GF254 (E. Merck), fase gerak *wash-benzena*, etil asetat, kloroform dan metanol berderajat pro analisis (PA).

Bahan untuk uji mutagenisitas

Biakan murni bakteri *Salmonella typhimurium* strain mutan TA98, TA100 dan TA1535 yang diperoleh dari *Environmental Biodetection Products Inc.* (EBPI), Canada. Bahan kimia untuk pembuatan media, kontrol positif sodium azide dan 2-Nitrofluorene serta kontrol negatif DMSO (dimetil sulfoksida).

Bahan untuk penentuan golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Fase diam plat silika gel 60 PF254 (E. Merck), fase gerak kloroform dan etil asetat berderajat pro analisis (PA), pereaksi semprot Serium (IV) Sulfat ((Ce (IV) SO₄)), FeCl₃, Dragendorff, Vanilin H₂SO₄/Vanilin asam sulfat dan Libermann Burchard.

Cara kerja

Fraksinasi kandungan senyawa kimia

Pemisahan kandungan senyawa kimia hasil partisi larut *wash-benzena* daun *Ambre* dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom (*Column Chromatography*). Pembuatan fase diam menggunakan metode basah dan penggunaan fase gerak berdasarkan polaritas dari pelarut yang polaritas rendah hingga ke pelarut dengan polaritas tinggi yaitu *wash-benzena*, etil asetat, kloroform dan methanol. Perbandingan antara larutan tersebut tergantung dari tingkat kepolaran yang diinginkan, yaitu *wash-benzena* 100%, *wash-benzena*: kloroform (15:1; 10:1; 5:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:5; 1:10 (v/v)), kloroform 100%, kloroform: etil asetat

(10:1; 5:1; 3:1; 1:1; 1:3; 1:5; 1:10 (v/v)), etil asetat 100 % dan methanol 100%.

Proses fraksinasi menghasilkan 9 fraksi. Sembilan fraksi yang diperoleh dimonitor profil kandungan kimia masing-masing fraksi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam plat silika gel 60 PF254 dan fase gerak kloroform 100% yang diletakkan dalam bejana pengembang. Kemudian plat KLT di letakkan di bawah sinar UV254 dan UV366 serta disemprot dengan menggunakan pereaksi spesifik Serium (IV) Sulfat untuk mengetahui profil kandungan kimia masing-masing fraksi. Berdasarkan hasil KLT tersebut, fraksi-fraksi dengan profil kromatogram yang hampir sama dijadikan satu fraksi. Fraksi yang diperoleh adalah 4 fraksi hasil penggabungan. Fraksi hasil penggabungan selanjutnya diuji mutagenisitas untuk mengetahui fraksi mana yang paling aktif.

Uji mutagenisitas

Persiapan larutan uji (500, 100, 10 dan 5 µg/mL); Persiapan larutan stok (stok garam, stok dekstroza, stok histidin dan biotin); Pembuatan biakan bakteri semalam; Pembuatan media/agar plates; Uji mutagenisitas larutan uji; Uji kontrol positif; Uji kontrol negatif.

Penentuan golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Penentuan golongan senyawa kimia fraksi teraktif dilakukan menggunakan metode KLT. Hasilnya dideteksi dengan sinar UV254 nm dan UV366 nm dan disemprot dengan pereaksi spesifik Dragendorff, Vanilin asam sulfat (Vanilin H₂SO₄), FeCl₃ dan Libermann Burchard. Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi kuning jingga. Vanilin H₂SO₄ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi biru, merah atau coklat. FeCl₃ digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa fenolik dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi biru sampai kelabu. Libermann Burchard digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa triterpenoid (steroid) dengan respon positif menunjukkan perubahan warna menjadi kuning jingga.

Analisis data

Data hasil uji mutagenisitas diperoleh secara kuantitatif dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dari setiap bakteri uji pada seri konsentrasi 500, 100, 10 dan 5 µg/mL yang diberikan. Dimana jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada mutagen standar sebagai kontrol positifnya harus lebih besar dari jumlah koloni revertan spontan sebagai kontrol negatifnya. Untuk menetapkan adanya efek mutagenik, koloni revertan sampel uji paling sedikit harus mencapai dua kali revertan kontrol negatif dan menunjukkan adanya respon sekurang-kurangnya pada tiga seri konsentrasi yang digunakan.

Analisis data hasil KLT dilakukan secara deskriptif terhadap bercak-bercak yang dinyatakan dengan nilai Rf (*Retardation factor*) dimana:

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

Bercak yang ditunjukkan merupakan bercak yang memberikan respon positif terhadap pereaksi spesifik yang diberikan untuk mengetahui golongan senyawa mutagenik berdasarkan warna yang terbentuk dan nilai R_f -nya. Golongan senyawa fraksi yang teraktif akan menunjukkan sifat mutagenik terbesar yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu proses untuk memurnikan ekstrak atau dengan kata lain fraksinasi dimaksudkan untuk mendapatkan senyawa dalam fraksi dengan profil KLT yang lebih sederhana dan lebih jelas (Wahyuono 2002). Profil KLT masing-masing fraksi hasil fraksinasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Uji mutagenisitas

Uji mutagenisitas berdasarkan test Ames merupakan suatu uji jangka pendek untuk menetapkan kadar mutasi balik guna mendeteksi mutagenisitas suatu senyawa kimia yang dapat menghasilkan kerusakan genetik yang menyebabkan adanya mutasi gen (Ames et al. 1973). Hasil uji mutagenisitas masing-masing fraksi ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa fraksi yang paling mutagenik adalah fraksi IV dengan jumlah koloni bakteri yang tumbuh terbesar. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi yang lebih besar yaitu 500 $\mu\text{g/mL}$ dapat menumbuhkan lebih banyak koloni bakteri yang tumbuh dibandingkan dengan konsentrasi 100, 10 dan 5 ($\mu\text{g/mL}$). Konsentrasi tersebut telah memenuhi persyaratan dari uji Ames dimana batas suatu uji dikatakan mutagen jika konsentrasi yang memberikan hasil positif kurang dari 10.000 ($\mu\text{g/mL}$) (Radji et al. 2004).

Setiap strain mengandung gen mutasi histidin, mutasi *rfa*, mutasi *uvrB* dan faktor resisten (faktor *R*) untuk meningkatkan kepekaan bakteri terhadap senyawa mutagenik (Ames dan Maron 1982). Terjadinya perubahan atau penambahan mutasi/penambahan genotip dapat membuat strain lebih sensitif terhadap senyawa kimia mutagen tertentu (Mortelmans dan Zeiger 2000).

Mutasi *DNA-Repair* (*uvrA/B*) menghilangkan sistem *excision-repair* pada DNA, sistem *excision-repair* merupakan jalur perbaikan DNA yang rusak akibat terkena sinar UV dan mutagen tertentu. Adanya mutasi *uvrA/B* membuat strain tersebut lebih sensitif terhadap beberapa partikel yang diujikan yaitu mempengaruhi terjadinya kerusakan DNA dengan menyebabkan terjadinya banyak luka pada DNA (Mortelmans dan Zeiger 2000). Mutasi *uvrA/B* juga menyebabkan terjadinya delesi pada gen biotin yang menyebabkan bakteri tidak dapat mensintesis biotin untuk pertumbuhannya, mutasi *uvrA/B* ditandai dengan kepekaan terhadap sinar UV. Strain TA 102 tidak mengandung mutasi *uvrB* karena dibuat untuk mendeteksi

mutagen yang membutuhkan sistem *excision repair* utuh (Ames et al. 1973).

Mutasi *rfa* dapat mengubah struktur dinding sel bakteri dan mengakibatkan hilangnya kapsul/penghalang lipopolisakarida (LPS) sehingga meningkatkan permeabilitas sel terhadap bahan kimia tertentu. Mutasi *rfa* ditandai oleh sensitifitas/kepekaan terhadap kristal violet (Ames et al. 1973). Plasmid faktor *R* (pKM101) membuat strain lebih responsif/peka terhadap bermacam jenis mutagen dan sinar UV yang dapat menyebabkan terjadinya mutasi melalui peningkatan kesalahan rekombinasi jalur perbaikan DNA (McCann et al. 1975; Walker dan Dobson 1979). Plasmid membawa satu gen resisten ampicillin, dimana gen tersebut merupakan marker/penanda untuk mendeteksi keberadaan plasmid (Mortelmans dan Stocker 1979). Plasmid pAQ1 membawa sebuah gen resisten tetracycline, dimana gen resisten tetracycline menunjukkan bahwa strain TA102 mempertahankan plasmid (Ames dan Maron 1982).

Pada strain *S. typhimurium* TA98 menunjukkan adanya respon mutasi yang lemah (Lopes et al. 2004). Dari uji yang dilakukan terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98 menunjukkan hasil bahwa bakteri yang dapat bermutasi balik jumlahnya lebih kecil dibandingkan dengan uji menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 dan 1535. *S. typhimurium* TA 98 tergantung pada keberadaan histidin karena mutasi pada gen *hisD3052* yang merupakan penghilangan 1-frameshift DNA (Levin dan Ames 1986; DeMarini 2000). Mutasi *hisD3052* yang dimiliki oleh strain TA98 merupakan mutasi *frameshift* yang mempengaruhi pembacaan kerangka berulang urutan sekuen -C-G-C- G-C-G-C-G- (Isono dan Youno 1974).

Hasil uji mutagenisitas terhadap bakteri *S. typhimurium* TA100 dan 1535 menunjukkan bahwa bakteri yang bermutasi balik jumlah koloni lebih banyak dibandingkan dengan uji menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA98. Hasil ini sesuai dengan Kaleeswaran *et al* (2009) yang menyebutkan bahwa pada bakteri *S. typhimurium* TA100 dan 1535 kemungkinan terjadi mutasi substitusi pasangan basa DNA. *S. typhimurium* TA100 tergantung pada keberadaan histidin karena mutasi pada gen *hisG46* yang menyebabkan substitusi pasangan basa suatu leusin (GAG/CTC) oleh suatu prolin (GGG/CCC), mutagen yang menyebabkan terjadinya substitusi pasangan basa (transisi atau transversasi) pada pasangan GC, dapat dimutasi kembali oleh strain bakteri tersebut (Levin dan Ames 1986; DeMarini 2000). Setiap strain mengandung gen mutasi histidin, mutasi *rfa*, mutasi *uvrB* dan faktor resisten (faktor *R*) untuk meningkatkan kepekaan bakteri terhadap senyawa mutagenik (Ames dan Maron 1982).

Fraksi IV yang menunjukkan efek mutagenik terbesar kemudian dianalisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui kandungan senyawa kimianya.

Deteksi golongan senyawa kimia fraksi teraktif

Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi teraktif dianalisis menggunakan metode KLT dengan beberapa pereaksi penampak bercak. Fase diam yang digunakan adalah silika gel PF254 dengan fase gerak

kloroform:etil asetat dengan perbandingan 1:3, serta jarak pengembangan 7,5 cm. Deteksi menggunakan sinar UV254, sinar UV366 dan beberapa pereaksi penampak bercak, yaitu Dragendorff, Vanilin-asam sulfat (Vanilin H₂SO₄), FeCl₃ dan Libermann Burchard (Tabel 2).

Deteksi kromatogram fraksi IV dengan sinar UV254 memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa zona gelap berlatar belakang fluoresensi hijau. Peredaman yang terjadi pada UV254 ini menunjukkan adanya keberadaan suatu senyawa yang mengandung minimal dua ikatan rangkap. Deteksi dengan sinar UV366 memperlihatkan beberapa bercak yang berpendar dan berwarna. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran dengan UV gelombang panjang. Profil kromatogram fraksi IV hasil fraksinasi dari partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre dengan berbagai pereaksi penampak bercak dapat dilihat pada Gambar 2.

Pemeriksaan terpenoid

Pemeriksaan terpenoid menggunakan pereaksi warna Valinin-asam sulfat, bila terdapat senyawa terpenoid maka akan menunjukkan bercak berwarna antara biru sampai

ungu (Sulistijowati dan Gunawan 2001). Hasil kromatogram menunjukkan munculnya tiga bercak berwarna biru hingga ungu dengan harga Rf 0,16; 0,44 dan 0,85 yang menandakan bahwa di dalam fraksi IV terdapat senyawa golongan terpenoid (Gambar 3.C).

Penggunaan fase gerak kloroform:etil asetat (1:3 (v/v)) pada KLT didasarkan karena fase gerak tersebut dapat memisahkan senyawa dengan baik. Keduanya mempunyai indeks polaritas masing-masing sebesar 4,1 dan 4,4 yang dapat menarik senyawa non-polar sampai semi-polar. Menurut Sastrohamidjojo (1985), senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid bersifat non-polar. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa fraksi IV yang mengandung senyawa terpenoid bersifat non-polar.

Pemeriksaan fenolik

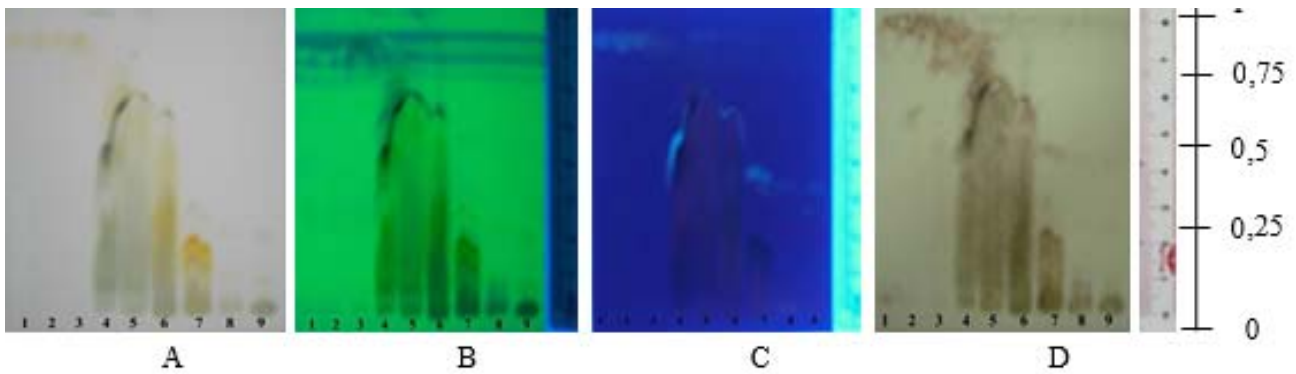
Pemeriksaan fenolik menggunakan pereaksi warna Uap ammonia (FeCl₃), bila terdapat senyawa fenolik maka akan menunjukkan bercak berwarna biru sampai kelabu (Harborne 1987). Pada hasil kromatogram menunjukkan munculnya dua bercak berwarna biru dengan harga Rf 0,44 dan 0,58 yang menandakan bahwa di dalam fraksi IV terdapat senyawa golongan fenolik (Gambar 3.F).

Tabel 1. Hasil uji mutagenisitas masing-masing fraksi

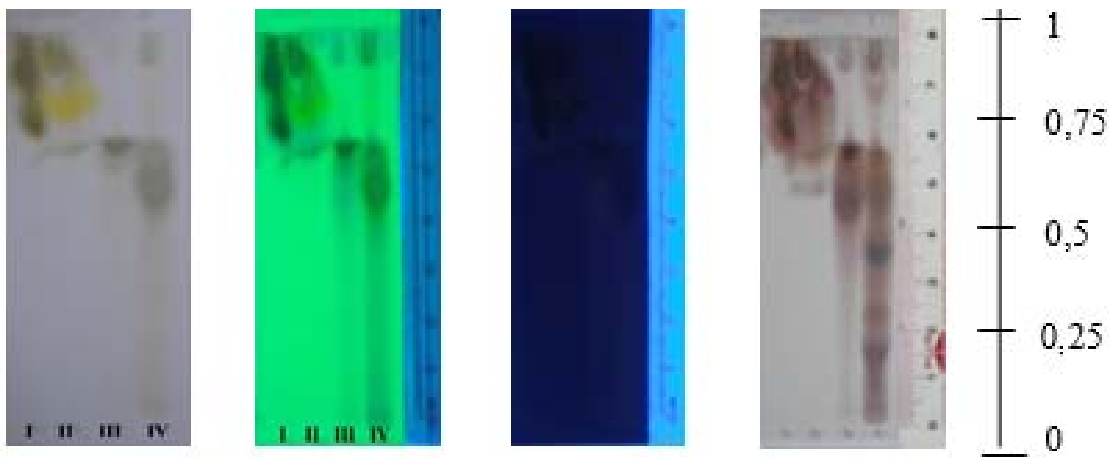
Sampel uji	Konsentrasi (µg/mL)	Rerata koloni <i>S. typhi</i> TA98	Rerata koloni <i>S. typhi</i> TA100	Rerata koloni <i>S. typhi</i> TA1535
Fraksi I	500	0	0	1
	100	0	0	0
	10	3	2	0
	5	0	0	0
Fraksi II	500	38	67	49
	100	35	57	46
	10	21	41	8
	5	29	25	1
Fraksi III	500	85	Tak hingga	49
	100	44	109	30
	10	35	99	29
	5	34	97	53
	500	87	Tak hingga	270
Fraksi IV	100	72	225	87
	10	53	115	67
	5	58	99	16
Kontrol negatif (DMSO)		40	63	31
Kontrol Positif (2-Nitroflourene ©TA98) (Sodium Azide © TA100 dan TA1535)	-	99	173	94

Tabel 2. Hasil uji KLT

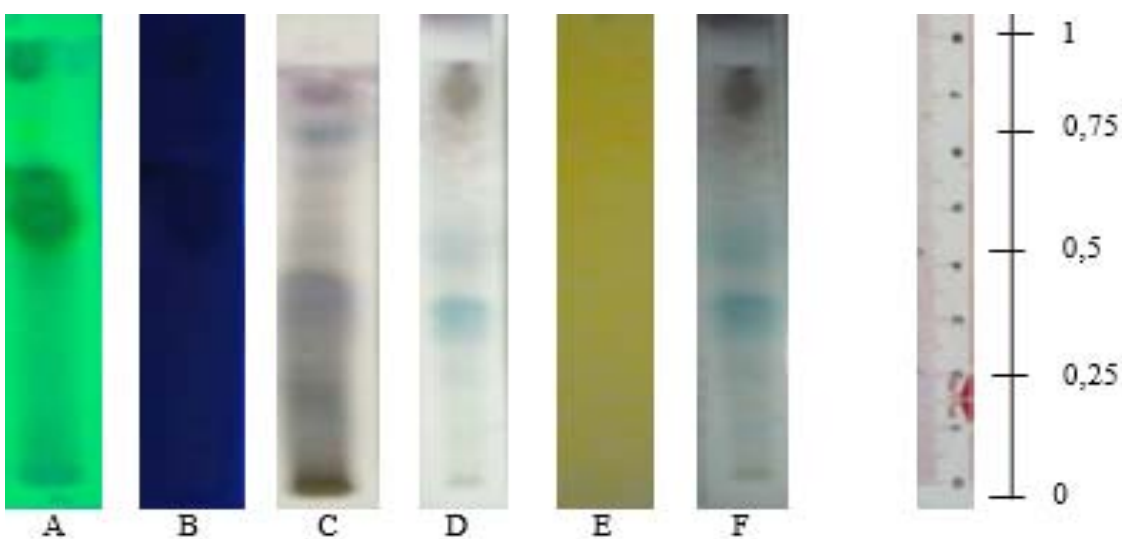
Rf	Penampak bercak					
	UV254	UV366	FeCl ₃	Vanilin- asam sulfat	Libermann Burchard	Dragen-dorff
0,16	-	-	-	Ungu	-	-
0,44	-	-	Biru	Ungu	-	-
0,58	Peredaman	-	Biru	-	-	-
0,68	Peredaman	Berpendar	-	-	-	-
0,85	-	-	-	Ungu	-	-



Gambar 1. Profil kromatogram masing-masing fraksi hasil fraksinasi partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre dengan deteksi Sinar tampak / visible (A) UV254, (B) UV366, (C) Serum (IV) sulfat (D)



Gambar 2. Profil KLT hasil penggabungan fraksi-fraksi



Gambar 3. Profil kromatogram fraksi IV hasil fraksinasi dari partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun Ambre dengan berbagai pereaksi penampak bercak. (A) UV254, (B) UV366, (C) Vanilin-asam sulfat, (D) Libermann Burchard, (E) Dragendorff, dan (F) FeCl_3

Penggunaan fase gerak kloroform:etil asetat (1:3 (v/v)) pada KLT didasarkan karena fase gerak tersebut dapat memisahkan senyawa dengan baik. Keduanya mempunyai indeks polaritas masing-masing sebesar 4,1 dan 4,4 yang dapat menarik senyawa non-polar sampai semi-polar. Menurut Cannell (1998), senyawa fenolik bersifat kurang larut dalam pelarut organik non-polar. Berdasarkan referensi tersebut, dapat diketahui bahwa fraksi IV yang memiliki kandungan senyawa fenolik cenderung bersifat semi-polar.

Pemeriksaan alkaloid

Dragendorff merupakan pereaksi khusus untuk mendeteksi keberadaan senyawa yang mengandung basa nitrogen secara umum dan senyawa alkaloid. Alkaloid dan basa nitrogen akan menunjukkan bercak berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff (Padmawinata dan Soediro 1996). Pada hasil kromatogram tidak menunjukkan adanya bercak berwarna coklat jingga, sehingga dapat disimpulkan bahwa di dalam fraksi IV tidak terdapat senyawa yang mengandung basa nitrogen dan alkaloid. Ketidakhadiran senyawa alkaloid disebabkan karena fraksi IV cenderung bersifat non-polar sampai semi-polar, sedangkan senyawa alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar (Sastrohamidjojo 1991).

Pemeriksaan triterpenoid (steroid)

Pemeriksaan triterpenoid (steroid) menggunakan pereaksi warna Libermann Burchard, bila terdapat senyawa triterpenoid (steroid) maka akan menunjukkan bercak berwarna kuning jingga. Pada hasil kromatogram menunjukkan tidak adanya bercak berwarna kuning jingga. Ketidakhadiran triterpenoid (steroid) disebabkan karena steroid termasuk ke dalam fraksi lipid (Croteau *et al* 2000), berdasarkan hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom, kandungan senyawa lipid terdapat pada fraksi

Berdasarkan referensi tersebut dapat disimpulkan bahwa pada fraksi IV tidak terdapat kandungan senyawa triterpenoid (steroid) karena fraksi IV tidak mengandung fraksi lipid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Hasil uji mutagenisitas fraksi IV dari fraksinasi partisi larut *wash-benzena* ekstrak kloroform daun *Ambre (Geranium radula Cavan.)* menunjukkan efek mutagenik terbesar terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA1535 dan berpotensi untuk diteliti lebih lanjut ke arah senyawa antikanker. Pada fraksi IV ditemukan senyawa golongan terpenoid dan fenolik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ames, BN, Lee FD, Durston WE. 1973. An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 782-786.
- Ames, BN, Maron D. 1982. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutat Res* 113: 173-215.
- Astuti, P, Gemini A, Mae SH, Sari D, Subagus W. 2005. Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari *Spona Petrosia* sp. Potensial Pengembangan Sebagai Antikanker. *Majalah Farmasi Indonesia* 16 (1): 58-62.
- Cannell, RJP. 1998. *Natural Products Isolation*. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey.
- Croteau, R, Kutchan TM, Lewis NG. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). In Buchanan B, Grisse W, Jones R (eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, New York.
- DeMarini, DM. 2000. Influence of DNA Repair on Mutation Spectrain Salmonella. *Mutat Res* 450: 5-17.
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. (Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro). ITB Press, Bandung.
- Isnawati A, Alegantina S. 2004. Efek Mutagenik Ekstrak Etanol Daun Kejibeling (*Strobilanthus crispus*). *Penelitian Kesehatan*: 32 (3): 112-118. Puslitbang Farmasi dan Obat, Badan Litbangkes.
- Isono K, Yourno J. 1974. Chemical carcinogens as frameshift mutagens: salmonella DNA sequence sensitive to mutagenesis by polycyclic carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 71 (5): 1612-1617.
- 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.
- Levin, DE, Ames BN. 1986. Classifying mutagens as to their specificity in causing the six possible transitions and transversions: a simple analysis using the *Salmonella* mutagenicity assay. *Environ Mutagen* 8-28.
- Lopes MIL, Saffi J, Sergio E, Henriques JAP, Salvador M. 2004. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* in biological systems. *J Ethnopharmacol* 95: 437-445.
- Malik, A. 2005. RNA Therapeutic, Pendekatan Baru Dalam Terapi Gen. *Majalah Ilmu Kefarmasian II*: 51-61. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, Depok.
- McCann, J, Spingam NE, Kobori J, Ames BN. 1975. Detection of Carcinogens as Mutagens: Bacterial Tester Strains with R Factor Plasmids. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 979-983.
- Mortelmans K, Stocker BAD. 1979. Segregation of the Mutator Property of Plasmid R46 from its Ultraviolet-Protection Properties. *Mol Gen Genet* 167: 317-327.
- Mortelmans, K, Zeiger E. 2000. *The Ames Salmonella / Microsome Mutagenicity Assay*. *Mutat Res* 455: 29-60.
- Moutschen, J. 1985. *Introduction to Genetic Toxicology*. John Wiley and Son Inc., New York.
- Mulyadi. 1996. *Kanker, Karsinogen, Karsinogenesis dan Antikanker*. Edisi I. PT. Tiara Wacana, Yogyakarta.
- Padmawinata K, Soediro I. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan Kedua. Penerbit ITB, Bandung.
- Radji, M, Sumiati A, Indani N.. 2004. Uji mutagenisitas dan anti kanker ekstrak aseton dan n-heksana dari kulit batang sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.). *Majalah Ilmu Kefarmasian I* (2): 69-78.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Liberty, Yogyakarta.
- Sulistijowati, A, Gunawan D. 2001. Efek Ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* 130: 32-36.
- Wahyuni DSC, Rakhmawati R. 2008. Skrining Toksisitas Beberapa Tanaman di Kawasan Tawangmangu Surakarta dan Profil Kandungan Kimianya. *Laporan Penelitian LPPM*. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Wahyuono, S. 2002. Penemuan obat baru dari bahan alam. *Majalah Obat Tradisional* 7 (22): hal 6-8.
- Walker GC, Dobson PP. 1979. Mutagenesis and Repair Deficiencies of *Escherichia coli* umuC Mutans are Suppressed by the Plasmid pKM101. *Mol Gen Genet* 172: 17-24.