

Uji Mutagenik Ames untuk Melengkapi Data Keamanan Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Novi Sulistyaningrum¹, Lina Rustanti¹, Sukmayati Alegantina¹

¹Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan-Badan Litbangkes Kemenkes RI
email: novisulistya@litbang.depkes.go.id

Abstract

The main compound of Uncaria gambir Roxb. (gambir), catechin and its derivatives have been believed to be potential as antiviral. Epigallocatechin gallate (EGCG) and epicatechin are catechin derivatives which are found to be potential as antiviral against Human Immunodeficiency Virus (HIV). However, gambir extract also contains quercetin that has possibility to be mutagenic. Therefore, a preliminary study towards safety of those compounds within gambir extract, mutagenicity assay using Ames Method has been performed. Sample (gambir extract) was obtained from West Sumatera, Indonesia. The extract was characterized according to Farmakope Herbal Indonesia and WHO methods. Mutagenicity test by Ames method utilized a colorimetric microplate in 6 various concentration (125 mg/mL; 62.5 mg/mL; 31.25 mg/mL; 15.625 mg/mL; 7.81 mg/mL dan 3.91 mg/mL) against mutant bacteria Salmonella typhimurium TA 98, Salmonella typhimurium TA 100 and Escherichia coli WP2 uvrA with and without the addition of S-9 enzyme. Extract of gambir in this study contains 86.60% of catechin, 12.92% moisture content, 22.49% water-soluble extract content, 80.63% ethanol-soluble extract content, 0.81% total ash, 0.32% acid insoluble ash content and 10.38% in dryness level. From the mutagenicity test and calculation, fold increase (over baseline) of the sample in 6 various concentration with and without adding S-9 enzyme are lower than 2. Gambir extract from West Sumatra with catechin contains 86.6% hasn't showed mutagenic effect due to the fold increase (over baseline) of mutagenicity test lower than 2.

Keywords: *Uncaria gambir* Roxb., Ames method, Mutagenic, Catechin, HIV

Pendahuluan

Uncaria gambir (Hunter) Roxb. (gambir) merupakan tanaman khas dari Sumatera Barat, Sumatera Selatan dan Bengkulu. Namun 90% pasokan gambir untuk ekspor dihasilkan dari Sumatera Barat.¹

Secara tradisional, gambir banyak digunakan sebagai obat diare, disentri, luka bakar dan sariawan mulut (obat kumur).² Ekstrak gambir

terbukti menurunkan kadar kolesterol, LDL dan trigliserid dalam darah tikus.³ Selain itu, juga memiliki aktivitas antibakteri⁴ dan berkhasiat sebagai obat tukak lambung.⁵ Kandungan kimia gambir adalah katekin (7-33%), asam katechu tannat (20-55%), *pyrocatechol* (20-30%), gambir fluoresen (1-3%), katechu merah (3-5%), kuersetin (2-4%), fixed oil (1-2%), lilin (1-2%) dan alkaloid dalam kadar kecil.⁶ *Epigallocatechin gallate*

(EGCG) dan *epicatechin* merupakan derivat katekin yang berpotensi sebagai antivirus terhadap *Human Immunodeficiency Virus* (HIV).^{7,8} Terdapat 3 faktor penting yang harus dipenuhi di dalam pengembangan suatu obat, yaitu *safety, efficacy, quality*.⁹ Oleh karena itu diperlukan serangkaian penelitian keamanan pada sediaan obat dan obat tradisional, mencakup uji toksisitas umum (toksisitas akut dan toksisitas subkronik) serta uji toksisitas khusus (uji mutagenik, teratogenik dan karsinogenik). Uji toksisitas akut ekstrak gambir pada mencit sudah dilakukan dengan hasil LD₅₀ >5000 mg/kg berat badan, yang berarti aman untuk digunakan.³ Untuk melengkapi data toksisitasnya, selain uji toksisitas subkronik, perlu dilanjutkan dengan uji toksisitas khusus, salah satunya adalah uji mutagenik.

Uji mutagenik merupakan uji skrining primer yang dilakukan untuk mengetahui kemungkinan adanya senyawa yang bersifat mutagen. Metode yang digunakan untuk mendeteksi efek mutagenik adalah metode *Ames*, berdasarkan sistem mutasi balik. Dari beberapa penelitian, zat yang bersifat mutagenik kemungkinan dapat bersifat karsinogenik.¹⁰

Penelitian terdahulu menemukan bahwa kuersetin mempunyai potensi mutagenik.^{11,12} Meskipun kadar kuersetin kecil dalam gambir, namun pada pemakaian yang terus menerus, misalnya sebagai obat antikolesterol dimungkinkan terjadi akumulasi. Selain itu, penelitian lain menemukan bahwa *pyrocatechol*, yang juga merupakan salah satu kandungan gambir, terbukti dapat menaikkan potensi karsinogenik ketika digunakan bersama zat lain yang bersifat karsinogenik.¹³ Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan menginformasikan potensi mutagenik ekstrak gambir berdasarkan tabel hitungan statistik untuk

memastikan keamanan ekstrak gambir, terutama dalam penggunaannya sebagai obat tradisional yang digunakan jangka panjang.

Potensi mutagenik yang dihasilkan perlu dilanjutkan dengan konfirmasi mutagenik melalui uji yang lain dengan metode *Chromosom test* (in vitro) dan *Micronucleus test* (in vivo).^{10,14}

Pada artikel ini membahas hasil penelitian mengenai efek mutagenisitas ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan metode *Ames* menggunakan tiga galur bakteri.

Metode

Penelitian menggunakan sampel ekstrak gambir dari Propinsi Sumatera Barat. Tempat penelitian di Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan Jakarta pada Tahun 2011.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kloroform, etil asetat, asam format, larutan penampak noda FeCl₃ 1%, plat KLT silika gel Merck 60 F₂₅₄, DMSO. Uji mutagenik Metode Ames menggunakan Kit Xenometrix *S9 Cofactor Kit (S9-Buffer-Salts, S9-G-6-P, S9-NADP)*, *Ames MPF 98/100 - 1 sample kit - Rat Liver S9 - positive control*, *Ames MPF E.coli uvrA - 1 sample kit - Rat liver S9 - positive control.*, reagen MgCl₂, KCl, bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, dan *Escherichia coli* WP2 uvrA dengan dan tanpa penambahan S-9, 384-well plate.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi chamber Kromatografi Lapis Tipis (KLT), neraca digital analitik, oven, perangkat distilasi, laminar air flow, shaker, *tips for micropipette*, *centrifuge*, 96-well plate, 384-well plate, mikropipet, plat pola untuk membaca jumlah koloni bakteri.

Cara Kerja

Karakterisasi ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Ekstrak gambir dikarakterisasi sesuai dengan prosedur standar analisa bahan alam dan Farmakope Herbal Indonesia¹⁵ meliputi kadar katekin dalam ekstrak, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol. Identifikasi senyawa katekin melalui KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan eluen kloroform: etil asetat: asam format (5:4:1)¹⁶, dengan fase diam silika gel dan penampak noda FeCl₃ 1%.

Uji mutagenik ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Sediaan dibuat dalam 6 tingkat dosis dalam DMSO 125 mg/mL; 62,5 mg/mL; 31,25 mg/mL; 15,625 mg/mL; 7,81 mg/mL dan 3,91 mg/mL. Sediaan yang telah dipindah dan diinkubasi dalam 384-well plate (triplicate) diidentifikasi secara kolorimetri, dihitung jumlah well positif dan dianalisa statistik.¹⁷ Untuk membuktikan kevalidan metode dalam penelitian ini digunakan kontrol negatif serta kontrol positif (senyawa pembanding yang telah terbukti memiliki efek mutagenik) pada Tabel 1.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (*Waiver Informed Consent*).

Tabel 1. Senyawa pembanding (kontrol positif) uji mutagenik Ames terhadap ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Galur Bakteri	<i>S.typhimurium</i> TA 98	<i>S.typhimurium</i> TA 100	<i>E.coli</i> WP2 uvrA
(-) S-9	2-NF* (0.02 µg/well)	4-NQO† (0.001 µg/well)	4-NQO† (0.01 µg/well)
(+) S-9	2AA‡ (0.7 µg/well)	2AA‡ (0.7 µg/well)	2AA‡ (0.5 µg/well)

*2-NF: 2-Nitrofluorene; †4-NQO: 4-Nitroquinoline N-oxide; ‡2AA: (2-Aminoantrasena)



Gambar 1. (a). Tumbuhan gambir (*Uncaria gambir* Roxb.),
(b). Ekstrak padat gambir

Hasil dan Pembahasan

Karakterisasi ekstrak Gambir

Sampel berupa ekstrak padat gambir (*Uncaria gambir* Roxb.), yang diperoleh melalui proses pengolahan daun gambir.

Karakterisasi ekstrak gambir yang diuji dalam penelitian ini meliputi identifikasi senyawa katekin melalui KLT, kadar katekin, kadar air, kadar sari larut air dan etanol, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam serta susut pengeringan.

Karakterisasi ekstrak gambir tersebut dilakukan memiliki tujuan masing-masing, sesuai yang dipersyaratkan untuk bahan baku obat tradisional/herbal berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia, Materia Medika Indonesia dan WHO. Katekin merupakan salah satu kandungan dalam ekstrak gambir yang memiliki khasiat obat. Identifikasi katekin menggunakan KLT¹⁶ dilakukan untuk mengetahui keberadaan katekin dalam ekstrak gambir. Khasiat obat dari ekstrak gambir dipengaruhi oleh adanya kandungan katekin⁵, sehingga kadar katekin dijadikan parameter standar kualitas gambir dalam Farmakope Herbal Indonesia.¹⁵ Penetapan besar susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui berapa jumlah komponen yang hilang (air

dan komponen volatil) ketika dilakukan pemanasan 105°C.¹⁸ Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui besar kandungan air dalam ekstrak gambir. Kelebihan kandungan air dalam material bahan obat dapat memicu pertumbuhan mikroba, adanya jamur maupun serangga. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk mengetahui besarnya material yang tersisa setelah pembakaran (suhu 700°C). Material yang tersisa meliputi *physiological ash*, yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri maupun *non-physiological ash* yang merupakan residu dari material asing yang menempel pada permukaan tanaman (misalnya pasir dan tanah). Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk mengukur keberadaan silika, terutama yang berwujud pasir dan *siliceous earth* yang tidak larut asam.¹⁹ Penetapan kadar sari larut air adalah untuk mengetahui berapa % senyawa-senyawa larut air yang terkandung di dalam ekstrak gambir. Penetapan kadar sari larut etanol dimaksudkan untuk mengetahui besar kandungan senyawa-senyawa dalam ekstrak yang dapat larut dalam etanol terutama katekin yang merupakan komponen dominan dari ekstrak gambir. Hasil dari karakterisasi tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dari Sumatera Barat

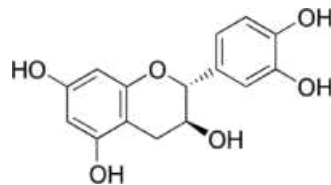
Parameter	%	Materia Medika Indonesia (%)	Farmakope Herbal Indonesia (%)	Kesimpulan
Katekin	86,60	-	≥ 90,00	Tidak sesuai standar FHI*
Kadar air	12,92	-	≤ 14,00	Sesuai standar FHI*
Kadar sari larut air	22,49	≥ 31,00	-	Tidak sesuai standar MMI†
Kadar sari larut etanol	80,63	≥ 70,50	-	Sesuai standar MMI†
Kadar abu total	0,81	≤ 4,00	≤ 0,50	Sesuai standar MMI†, tidak sesuai standar FHI*
Kadar abu tidak larut asam	0,32	≤ 2,00	≤ 0,10	Sesuai standar MMI†, tidak sesuai standar FHI*
Susut pengeringan	10,38	-	-	Sesuai standar Merck Index

* FHI : Farmakope Herbal Indonesia

† MMI : Materia Medika Indonesia

Pada Tabel 2 terlihat bahwa kandungan katekin (potensi antiviral) dalam ekstrak gambir dari Propinsi Sumatera Barat sebesar 86,6% atau 3,4% di bawah standar Farmakope Herbal Indonesia (FHI).

Katekin dalam ekstrak gambir terdeteksi sebagai noda berwarna biru



Gambar 2. Struktur molekul katekin

Sesuai hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer UV dan perhitungan, kadar katekin yang diperoleh dalam penelitian ini sebesar 86,6 % atau 3,4 % lebih kecil dari standar terendah Farmakope Herbal Indonesia yang mensyaratkan tidak kurang dari 90%. Berdasarkan informasi yang diperoleh dari Kepala Kebun Tanaman Obat Universitas Andalas, ekstrak gambir yang berasal dari tempat tersebut memiliki kadar katekin di atas 90%. Rentang waktu antara proses pengambilan sampel dan penetapan kadar katekin dalam penelitian ini sangat dimungkinkan terjadi proses degradasi oleh lingkungan, sehingga menurunkan kadar katekin dalam ekstrak gambir.

Susut pengeringan sebesar 10,38%, memenuhi standar The Merck Index (1983) seperti yang tercantum dalam jurnal Sains,¹⁸ kadar maksimal susut pengeringan sebesar 16%.

Kadar air yang diperoleh dalam ekstrak gambir sebesar 12,92%, yang berarti memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu dibawah 14%. Kadar air seharusnya lebih kecil dibandingkan kadar susut pengeringan, karena di dalam ekstrak gambir terdapat pula kandungan senyawa-senyawa lain

keunguan (Rf 0,53) setelah dielusi dengan fase gerak kloroform: etil asetat: asam format (5:4:1), pada fase diam silika gel dan disemprot dengan penampak noda FeCl₃. Baku standar katekin digunakan sebagai tolok ukur.

yang mudah menguap pada pemanasan 105 °C. Namun dalam penelitian ini prosentase kadar air ekstrak gambir lebih besar dibandingkan susut pengeringan, yang disebabkan oleh sifat higroskopis ekstrak gambir, yaitu mudah menyerap air dari udara selama proses penetapan kadar air.

Kadar abu total yang diperoleh sebesar 0,81% sesuai dengan yang disyaratkan dalam Materia Medika (1989)²⁰ yaitu dibawah 4%, namun tidak memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia (2008) yaitu kadar abu total di bawah 0,5%. Kadar abu tidak larut asam berdasarkan hasil pengukuran adalah sebesar 0,32%. Nilai tersebut memenuhi standar Materia Medika Indonesia (1989) yaitu tidak lebih dari 2%, namun tidak memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia (2008) yang mensyaratkan kadar abu tidak larut asam ≤ 0.1%.

Hasil pengukuran kadar sari larut air adalah sebesar 22,49%, kurang memenuhi standar Materia Medika Indonesia (1989), yaitu kadar air tidak kurang dari 31%. Katekin merupakan senyawa golongan flavonoid jenis flavanol yang memiliki gugus -OH lebih dari satu dalam strukturnya, yang mengindikasikan

bahwa senyawa tersebut adalah senyawa yang relatif polar sehingga dapat terlarut dalam etanol. Kadar sari larut etanol yang diperoleh sebesar 80,63%, memenuhi standar Materia Medika Indonesia (1989) yaitu tidak kurang dari 70,5%.

Penetapan potensi mutagenik

Dosis sediaan uji ekstrak gambir untuk penetapan potensi mutagenik dibuat dalam 6 rangkaian dosis. Penentuan dosis disesuaikan dengan kelarutan ekstrak dalam pelarut dan juga aktivitas ekstrak (sediaan uji) terhadap bakteri. Beberapa laporan penelitian menyebutkan bahwa ekstrak gambir memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak etil asetat gambir terbukti memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*,²¹ sedangkan ekstrak etanol gambir memiliki aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dengan MIC 6,25 mg/mL.²² Berdasarkan hal tersebut, maka dosis yang digunakan untuk penetapan potensi mutagenik berada di dalam rentang dosis aktivitas antibakterinya, sehingga diharapkan bakteri uji yang digunakan tidak akan mati akibat potensi antibakteri dari sediaan uji yang digunakan. Pemilihan pelarut DMSO untuk melarutkan sediaan uji karena DMSO dapat melarutkan ekstrak, tidak bersifat mutagen dan juga tidak mematikan bakteri uji yang digunakan.

Bakteri uji yang digunakan pada Metode Ames penelitian ini ada 3 galur bakteri, yaitu *Salmonella typhimurium* TA 98 (mendeteksi adanya *frameshift mutation*), TA 100 dan *Escherichia coli* WP2 uvrA (mendeteksi adanya *base-pair*

mutation). Respon mutagenik pada senyawa mutagen tergantung dari struktur kimia senyawa mutagen.²³ Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, *Salmonella typhimurium* TA 98 dan TA 100 dapat mendeteksi lebih dari 250 senyawa mutagen, termasuk kuersetin yang dideteksi sebagai senyawa penyebab mutagenik dalam ekstrak gambir.²³⁻²⁴ Uji mutagenisitas dengan metode Ames didasarkan terjadinya mutasi balik untuk mendeteksi adanya *point of mutation* (mutasi substitusi pasangan basa/*base pair mutation* atau mutasi pergeseran kerangka/*frame shift mutation*). Biakan induk (*wild-type*) dari bakteri uji dapat tumbuh dalam media tanpa penambahan asam amino esensial histidin/triptofan, karena dapat mensintesa sendiri. Pada mutan bakteri uji tidak dapat tumbuh tanpa asam amino esensial histidin/triptofan karena mutasi ditujukan pada gen yang mengkode pada jalur biosintesis histidin/triptofan. Mutan *auxotroph* yang berinteraksi dengan sediaan uji berubah menjadi *prototroph* dapat tumbuh dengan baik pada media tanpa histidin/triptofan, diidentifikasi dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pada media dalam *well* (kolorimetri).

Pengujian dilakukan dengan dan tanpa campuran enzim aktivasi metabolik (campuran S-9). Bila hasil uji mutagenisitas tanpa S-9 positif, berarti sediaan uji bersifat mutagen. Namun bila hasil positif baru didapatkan dengan penambahan S-9, berarti metabolit sediaan uji yang bersifat mutagen.¹⁷

Tabel 3. Mutagenisitas ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan dan tanpa penambahan enzim S-9 terhadap *S.typhimurium* TA 98

Konsentrasi (mg/mL)	Enzim	Rerata Well(+) (n=3)	Standar Deviasi	Baseline	Fold Increase (over baseline)	Mutagenisitas (FI* >2)
0,00	(+) S9	6,67	2,08	8,75		
	(-) S9	4,33	1,53	5,86		
3,91	(+) S9	6,33	3,79		0,72	Tidak
	(-) S9	5,33	2,08		0,91	Tidak
7,81	(+) S9	5,00	1,73		0,57	Tidak
	(-) S9	5,00	3,00		0,85	Tidak
16,63	(+) S9	7,67	3,06		0,88	Tidak
	(-) S9	5,33	3,79		0,91	Tidak
31,25	(+) S9	6,00	2,65		0,69	Tidak
	(-) S9	2,33	1,53		0,40	Tidak
62,50	(+) S9	6,67	3,51		0,76	Tidak
	(-) S9	5,67	3,51		0,97	Tidak
125,00	(+) S9	11,00	2,00		1,26	Tidak
	(-) S9	4,00	1,00		0,68	Tidak

* FI : Fold Increase

Tabel 4. Mutagenisitas ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan dan tanpa penambahan enzim S-9 terhadap *S.typhimurium* TA 100

Konsentrasi (mg/mL)	Enzim	Rerata Well(+) (n=3)	Standar Deviasi	Baseline	Fold Increase (over baseline)	Mutagenisitas (FI* >2)
0,00	(+) S9	8,67	2,08	10,75		
	(-) S9	6,67	2,08	8,75		
3,91	(+) S9	10,67	3,06		0,99	Tidak
	(-) S9	8,67	2,08		0,99	Tidak
7,81	(+) S9	10,33	3,06		0,96	Tidak
	(-) S9	11,67	3,06		1,33	Tidak
16,63	(+) S9	12,00	4,36		1,12	Tidak
	(-) S9	13,00	5,29		1,49	Tidak
31,25	(+) S9	12,33	3,06		1,15	Tidak
	(-) S9	9,33	3,06		1,07	Tidak
62,50	(+) S9	14,00	6,24		1,30	Tidak
	(-) S9	9,67	3,79		1,10	Tidak
125,00	(+) S9	11,00	4,00		1,02	Tidak
	(-) S9	9,67	3,06		1,10	Tidak

* FI : Fold Increase

Hasil uji mutagenik ekstrak gambir terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* TA 98, dengan dan tanpa penambahan S-9 pada Tabel 3 serta terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* TA 100, dengan

dan tanpa penambahan S-9 pada Tabel 4 memperlihatkan nilai *folding increase* kurang dari 2, yang berarti sediaan ekstrak gambir dan aktivitas metabolit tidak berpotensi sebagai senyawa mutagen

Tabel 5. Mutagenisitas ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dengan dan tanpa penambahan enzim S-9 terhadap *E.coli* WP2 uvrA

Konsentrasi (mg/mL)	Enzim	Rerata Well(+) (n=3)	Standar Deviasi	Baseline	Fold Increase (over baseline)	Mutagenisitas (FI* >2)
0,00	(+) S9	2,67	2,52	5,18		
	(-) S9	2,33	1,53	3,86		
3,91	(+) S9	1,67	1,53		0,32	Tidak
	(-) S9	3,33	1,53		0,86	Tidak
7,81	(+) S9	2,33	1,53		0,45	Tidak
	(-) S9	2,33	1,53		0,60	Tidak
16,63	(+) S9	1,67	1,53		0,32	Tidak
	(-) S9	3,33	2,89		0,86	Tidak
31,25	(+) S9	3,33	2,08		0,64	Tidak
	(-) S9	1,67	1,53		0,43	Tidak
62,50	(+) S9	2,33	2,31		0,45	Tidak
	(-) S9	2,00	1,00		0,52	Tidak
125,00	(+) S9	2,00	1,00		0,39	Tidak
	(-) S9	2,33	1,53		0,60	Tidak

* FI : Fold Increase

Hasil uji mutagenik terhadap bakteri *Escherichia coli* WP2 uvrA, dengan dan tanpa penambahan S-9 pada Tabel 5 juga memperlihatkan nilai *folding increase* kurang dari 2, yang berarti sediaan ekstrak gambir dan aktivitas metabolitnya tidak berpotensi mutagenik.

Kandungan dalam ekstrak gambir selain katekin yang berfungsi sebagai bahan obat, juga mengandung kuersetin yang disebutkan memiliki potensi mutagenik. Ekstrak gambir yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini, dengan kadar katekin tidak

memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia, terbukti tidak berpotensi mutagenik. Dengan demikian bila diperoleh ekstrak gambir dengan kadar katekin sesuai atau di atas standar Farmakope Herbal Indonesia, maka kandungan kuersetin di dalamnya akan lebih sedikit, yang berarti semakin kecil pula potensi mutageniknya. Namun untuk itu, diperlukan data kuersetin total yang terkandung dalam ekstrak gambir. Tidak tersedianya data kadar total kuersetin merupakan kekurangan dari penelitian ini

karena pengukuran tersebut tidak dilakukan.

Kesimpulan

Ekstrak gambir dari Perkebunan Tanaman Obat Universitas Andalas Sumatera Barat mengandung katekin dengan karakteristik: kadar katekin 86,60%, kadar air 12,92%, kadar sari larut air 22,49%, kadar sari larut etanol 80,63%, kadar abu total 0,81%, kadar abu tidak larut asam 0,32%, susut pengeringan 10,38%. Beberapa parameter ekstrak gambir kurang memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia. Hasil pengujian dengan metode Ames serta analisa statistik *fold increase* dan t-test menunjukkan bahwa ekstrak gambir tidak memperlihatkan adanya potensi mutagenik terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* strain TA98, TA100 dan *E.coli* WP2 uvrA) dengan dan tanpa penambahan S-9.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Badan Litbangkes sebagai instansi yang telah mendanai penelitian ini, pembimbing penelitian Risbinkes 2011, Ka. Kebun Tanaman Obat Universitas Andalas, Ka. Lab dan staf litkayasa Lab. Farmasi Badan Litbangkes, tim sekretariat Risbinkes 2011, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Daftar Rujukan

1. Dhalimi A. Permasalahan gambir (*Uncaria gambir* L.) di Sumatera Barat dan alternatif pemecahannya. *Perspektif* 2005; 5 (4):46-59.
2. Zein U. Pemanfaatan tumbuhan obat dalam upaya pemeliharaan kesehatan. e-USU Respository. Universitas Sumatera Utara; 2005.
3. Widowati, L. Ekstrak gambir sebagai antihiperlipidemia. *Laporan Penelitian*; 2010.
4. Pambayun R, Gardjito M, Sudarmaji S, Kuswanto KR. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 2007;18(3):141-46.
5. Tika FH, Mukhtar H, Bakhtiar A. Efek katekin dari gambir terhadap tukak lambung tikus putih betina. *Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVI*. Padang; 2004.
6. Isnawati A. Analisa kualitatif dan kuantitatif senyawa katekin dan kuersetin pada 3 kualitas mutu ekstrak gambir. *Laporan Penelitian*. Pusat penelitian dan pengembangan biomedis dan farmasi badan litbang kesehatan; 2009.
7. Nance CL, Siwak EB, Shearer WT. Preclinical development of the green tea catechin, epigallocatechin gallate as an HIV-1 therapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123(2): 459-65.
8. Samir N, Muznabanu B, Deepti H, Joseph PS. Catechins protect neurons against mitochondrial toxins and HIV proteins via activation of the BDNF pathway. *Journal of Neurovirology*; 2012.
9. WHO. Research guidelines for evaluation the safety and efficacy of herbal medicinal. Manila; 1993.
10. Mortelmans K, Zeiger E. The ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*. 2000;455(1-2):29-60.
11. Bjeldanes LF, Chang GW. Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science*. 1977;197(4303):577-78.
12. Ogawa S, Hirayama T, Tokuda M, Hirai K, Fukui S. The effect of quercetin, a mutagenicity-enhancing agent, on the metabolism of 2-acetylaminofluorene with mammalian metabolic activation systems. *Mutat Res*. 1986;162(2): 179-86.
13. Liebert MA. Final report on the safety assessment of hydroquinone and pyrocatecol. *J. Am. Coll. Toxicol*. 1986; 5:123-159.
14. Isnawati A, Sukmayati A. Efek mutagenik ekstrak etanol daun kejobeling (*Strobilantus crispus*). *Bulletin Penelitian Kesehatan*. 2004;32(3): 112-18.
15. Kementerian Kesehatan RI. Farmakope Herbal Indonesia. Ed. 1. Dirjen pelayanan farmasi dan alat kesehatan. Jakarta; 2008.
16. Devi G, A.John RS, Devi VA, Prabhakaran. Pharmacognostical studies on acacia catechu wild and identification of antioxidant principles. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2011; 3(2): 108-11.
17. Pusat Riset Obat dan Makanan. Pedoman uji toksisitas non klinik secara in vitro. Badan POM Republik Indonesia. 2011; 13-17.

18. Henny L, Amri B, Wina AA, Formulasi sediaan antiseptik mulut dari katekin gambir. *J. Sains Tek. Far.* 2007; 12(1).
19. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. WHO Geneva; 1998.
20. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta; 1989:139.
21. Pambayun R, Murdijati G, Slamet S, Kapti RK. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 2007; 18(3): 141-46.
22. Voravuthikuncai S, A Lortheeranuwat, W. Jeeju, T. Sririrak, S. Phongpaichit, T. Supawita. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 94: 49-54.
23. Kubo T, K. Urano, H. Utsumi. Mutagenicity characteristics of 255 environmental chemicals. *Journal of Health Science*. 2002; 48(6): 545-54.
24. Hakura A, H. Shimada, M. Nakajima, H. Sui, S. Kitamoto, S. Suzuki, T. Satoh. *Salmonella*/human S9 mutagenicity test: a collaborative study with 58 compounds. *Mutagenesis*. 2005; 20(3): 217-27.