

RnD10-1537

## KAJIAN FITOKIMIA DAN BIOAKTIVITI KE ATAS TINOSPORA CRISPA (PATAWALI)

Shakirah Abd. Shukor, How Siew Eng, Mustapha Salleh

Agensi Nuklear Malaysia, Bangi, 43000 Kajang, Malaysia

Sekolah Sains Dan Teknologi (SST), Universiti Malaysia Sabah, 88400 Kota Kinabalu, Sabah.



MY1204143

### Abstract

Solvent extraction method run on *Tinospora crispa*'s stem had resulted 5 extracts which were hexane, chloroform, butanol, aqueous and methanol. Phytochemical screening of hexane extract showed existence of alkaloid, flavonon, polyphenol substances and steroid type saponins. Chloroform extract consists alkaloid and triterpenoid type saponins while alkaloid, flavon and polyphenol substances found in butanol extract. Aqueous extract consist free acid and steroid type saponins whereas alkaloid, tannin and triterpenoid type saponins were found in methanol extract. Hexane, chloroform, and butanol extracts shows inhibition zone for bacteria gram-positive, *S.aureus* where each extracts give inhibitory zone diameter of 1.5 cm, 1.3 cm, and 1.2 cm. There is no inhibitory zone for methanol and aqueous extract. As for bacteria gram-negative, *E.coli* shows negative result for inhibitory zone. The  $LC_{50}$  acute for hexane, chloroform, butanol, aqueous and methanol extracts are 3162.28 ppm, 7813.71 ppm, 380.72 ppm, 662.87 ppm, and 1847.85 ppm respectively.  $LC_{50}$  chronic for hexane, chloroform, butanol, aqueous and methanol extracts are 273.84 ppm, 259.29 ppm, 17.78 ppm, 12.02 ppm, dan 15.44 ppm respectively. Butanol, aqueous and methanol extracts gives higher relative toxicity compared to potassium dichromate. Overall, *Tinospora crispa*'s extracts are toxic compared with relative toxicity of potassium dichromate.

### Abstrak

Lima ekstrak telah diperolehi dari batang *Tinospora crispa* melalui kaedah pengekstrakan pelarut iaitu ekstrak heksana, kloroform, butanol, akueus dan metanol. Ekstrak heksana mengandungi alkaloid, sebatian flavonon, sebatian polifenol dan saponin jenis steroid. Ekstrak kloroform pula mengandungi alkaloid dan saponin jenis triterpenoid manakala ekstrak butanol pula mengandungi alkaloid, flavon dan sebatian polifenol. Bagi ekstrak akueus pula mengandungi asid bebas dan saponin jenis steroid sementara ekstrak metanol mengandungi alkaloid, tanin dan saponin jenis triterpenoid. Ekstrak heksana, kloroform, dan butanol menunjukkan zon perencatan oleh bakteria dari gram-positif iaitu *S.aureus* dimana masing-masing mencatatkan diameter zon perencatan sebanyak 1.5 cm, 1.3 cm, dan 1.2 cm. Bagi ekstrak metanol dan ekstrak akueus pula tidak menunjukkan zon perencatan. Bagi bakteria gram-negatif, *E.coli* menunjukkan keputusasan yang negatif. Nilai  $LC_{50}$  akut bagi ekstrak heksana, kloroform, butanol, akueus dan metanol masing-masing ialah 3162.28 ppm, 7813.71 ppm, 380.72 ppm, 662.87 ppm, dan 1847.85 ppm.  $LC_{50}$  kronik ekstrak-ekstrak heksana, kloroform, butanol, akueus dan metanol pula mencatatkan nilai 273.84 ppm, 259.29 ppm, 17.78 ppm, 12.02 ppm, dan 15.44 ppm masing-masing. Ekstrak butanol, akueus dan metanol memberikan ketoksikan relatif yang lebih ringgi dari nilai kalium dikromat. Secara keseluruhan, ekstrak-ekstrak *Tinospora crispa* didapati agak bertoksik berdasarkan nilai ketoksikan relatif terhadap kalium dikromat.

**Keywords/Kata kunci:** *Tinospora Crispa*. Solvent Extraction.

## PENGENALAN

*Tinospora crispa* telah lama digunakan oleh penduduk di Malaysia untuk merawat penyakit-penyakit dan untuk tujuan terapeutik (Shahimi & Mohsin, 1982; Fasihuddin & Hasmah, 1993). Tumbuhan ini tumbuh secara meliar di serata tempat di dunia khususnya di kawasan tropika seperti di Asia, Asia Tenggara, Africa, dan Australia (Maurya *et al.*, 1994). Tumbuhan ini dipercayai mampu merawat penyakit darah tinggi, kencing manis (diabetes mellitus, demam kepialu, demam cacar, ubat cacing, sengal-sengal, malaria, sakit perut, demam kuning, kusta, cirit-birit, gout, penawar racun, sakit kulit, sakit mara, dan luka. (Fasihuddin & Hasmah, 1993; Shahimi *et al.*, 1995). Tumbuhan ini tidak boleh diambil secara berlebihan, kerana akan mengakibatkan mulut kering dan pandangan pula menjadi kabur. Ini adalah disebabkan *Tinospora Crispa* mengandungi alkaloid, daunnya mengandungi saponin steroid yang dikenali sebagai *torvonin-A* (Fasihuddin & Hasmah, 1993), dan batangnya mengandungi kumpulan terbitan *diterpenes* yang memberikan rasa pahit (Maurya *et al.*, 1994). Oleh kerana disebabkan rasanya yang pahit, banyak pengamal ubat tradisional meletakkan serbuk *Tinospora crispa* di dalam kapsul gelatin (Shahimi & Mohsin, 1983). Kepentingan tumbuhan ubatan dan penjagaan kesihatan secara tradisional dalam menyelesaikan masalah kesihatan dunia semakin meraih perhatian dan minat para penyelidik bukan sahaja di peringkat tempatan bahkan juga di peringkat antarabangsa (Krishnaraju *et al.*, 2005).

Penggunaan ubatan terapeutik tradisional ini adalah berikutan kesan sampingan yang dihadapi akibat pengambilan ubatan terapeutik moden yang menjejaskan kesihatan dan boleh mengundang kematian. Di Amerika Syarikat, dilaporkan seramai 180,000 orang meninggal dunia setiap tahun akibat daripada kecederaan iatrogenik (kecederaan yang disebabkan oleh doktor) (Leape, 1994) dan seramai 106,000 orang pula meninggal dunia akibat penggunaan ubat moden yang kurang baik (Holland & Degruy, 1997; Lazarou *et al.*, 1998). Menurut Classen *et al.* (1997), pengambilan ubatan moden sebagai langkah rawatan bagi pesakit yang masuk ke hospital akan hanya akan melipatgandakan kadar kematian. Ini ternyata bahawa ubatan moden hanya mampu merawat penyakit yang sedia ada berbanding mencegahnya dari awal. Melihat kepada keupayaan ubat terapeutik moden yang berbahaya dan kurang efektif, telah menimbulkan rasa tidak puas hati di kalangan pesakit dan pengguna. Maka mereka mencari alternatif lain iaitu dengan menggunakan ubatan tradisional dan semulajadi (Eisenberg *et al.*, 1993). Oleh sebab itu, kebanyakan negara membangun mengamalkan penggunaan ubatan tradisional sebagai budaya (Krishnaraju *et al.*, 2005).

## OBJEKTIF KAJIAN

1. menyinggih sebatian fitokimia yang hadir di dalam *Tinospora crispa*
2. menilai aktiviti biologi ke atas *Tinospora crispa*

## KAEDAH DAN BAHAN

Sampel batang *Tinospora crispa* di keringkan, dikisar dan menjalani proses refluks selama 8 jam menggunakan metanol. Ekstrak mentah ini kemudian diekstrak kepada beberapa jenis pelarut iaitu pelarut heksana, kloroform, butanol, dan akueus. Untuk mengetahui sebatian aktif yang mempunyai ciri ubatan ialah dengan melakukan penyingiran fitokimia bagi mengetahui kehadiran jenis-jenis sebatian kimia yang terkandung di dalam *Tinospora crispa*. Dalam kajian ini, penyingiran yang dilakukan adalah penyingiran alkaloid, flavonoid, antrakuinon, saponin, tanin dan sebatian polifenol. Bagi setiap ujian yang dijalankan, sebanyak 3 replika disediakan dan 1 larutan sebagai kawalan bagi setiap sampel yang telah diekstrak dengan ekstrak heksana, ekstrak kloroform, ekstrak butanol dan ekstrak akueus. Langkah-langkah penyingiran penentuan sebatian yang aktif adalah mengikut kaedah yang dicadangkan oleh Fasihuddin & Hasmah (1993) dan Marini-Bettolo (1981). Ujian bioaktiviti iaitu ujian antimikrobal terhadap bakteria *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan ujian ketoksikan terhadap udang air laut, *Artemia salina*. (Mitchell & Carter, 2000; Sam, 1993; Krishnaraju *et al.* 2005). Ujian bioaktiviti ini dijalankan adalah untuk mengetahui tindakan dan kesan yang mungkin diperolehi apabila ekstrak-ekstrak berinteraksi dengan organisma biologi.

## KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Di dapati bahawa ekstrak mentah metanol mengandungi campuran sebatian yang sangat kompleks dan memberikan hasil yang positif terhadap ke semua ujian ini kerana ekstrak mentah metanol mengandungi alkaloid, tanin dan saponin jenis triterpenoid. Bagi ekstrak-ekstrak heksana, kloroform, butanol dan akueus pula campuran sebatian adalah kurang kompleks setelah menjalani ekstrak-ekstrak pelarut. Oleh itu, ekstrak heksana *Tinospora crispa* ini mengandungi alkaloid, sebatian flavonon, sebatian polifenol dan saponin jenis steroid. Ekstrak kloroform pula mengandungi alkaloid dan saponin jenis triterpenoid manakala ekstrak butanol pula mengandungi alkaloid, flavon dan sebatian polifenol. Bagi ekstrak akueus mengandungi asid bebas dan saponin jenis steroid. Ringkasan keputusan penyingiran fitokimia bagi ekstrak-ekstrak heksana, kloroform, butanol, akueus dan ekstrak mentah metanol adalah seperti didalam Jadual 1.1.

**Jadual 1.1** Ringkasan keputusan penyingiran fitokimia bagi ekstrak-ekstrak heksana, kloroform, butanol, akueus dan ekstrak mentah metanol.

Ujian penyingiran	Ekstrak				
	Heksana	Kloroform	Butanol	Akueus	Ekstrak mentah Metanol
Penyingiran Alkaloid					
- Ujian Wagner	+	+	+	-	+
- Ujian dragendroft	+	+	+	-	+
Penyingiran Flavonoid					
- Ujian Wilstatter-Sianidin	Flavonon	-	Flavon	-	-
- Ujian Bate-Smith&Metcalf	-	-	-	-	-
Penyingiran Antrakuinon					
- Ujian Borntrager	-	-	-	-	-
- Ujian C-glikosida	-	-	-	-	-
Penyingiran Saponin					
- Ujian buih	+	+	+	+	+
- Ujian Liebermann-Burchard	Saponin steroid	Saponin triterpenoid	Saponin steroid	Saponin steroid	Saponin triterpenoid
Penyingiran Tanin dan Sebatian Polifenol					
- Ujian Gelatin	-	-	-	-	+
- Ujian Ferum Klorida	+	-	+	-	+

Ekstrak heksana, kloroform, dan butanol menunjukkan zon perencatan oleh bakteria dari gram-positif iaitu *Staphylococcus aureus* dimana masing-masing mencatatkan diameter zon perencatan sebanyak 1.5 cm, 1.3 cm, dan 1.2 cm. Bagi ekstrak mentah metanol pula, zon perencatan terlalu kecil. Ekstrak akueus menunjukkan tiada zon perencatan. Ini jelas menunjukkan keputusan adalah negatif terhadap perencatan bakteria. Bagi bakteria gram-negatif, *Escherichia coli* keputusan menunjukkan negatif, iaitu tiada zon perencatan ke atas pertumbuhan bakteria oleh ke semua ekstrak. Di sini jelas menunjukkan ekstrak-ekstrak heksana, kloroform dan butanol dari *Tinospora crispa* mampu merencatkan pertumbuhan bakteria. Aktiviti ini boleh memberikan gambaran bahawa tumbuhan *Tinospora crispa* mampu bertindak sebagai pertahanan kimia terhadap patogen (Svoboda & Hampson, 1999)

Bagi ujian ketoksikan dengan udang air laut, nilai-nilai LC<sub>50</sub> akut, LC<sub>50</sub> kronik, dan ketoksikan relatif diperolehi seperti yang terdapat dalam Jadual 1.2 dan Jadual 1.3. Nilai LC<sub>50</sub> akut bagi ekstrak mentah metanol, ekstrak heksana, kloroform, butanol, dan akueus masing-masing ialah 1847.85 ppm, 3162.28 ppm, 7813.71 ppm, 380.72 ppm, dan 662.87 ppm. LC<sub>50</sub> kronik ekstrak mentah metanol, ekstrak-ekstrak heksana, kloroform, butanol, dan akueus pula mencatatkan nilai 15.44 ppm, 273.84 ppm, 259.29 ppm, 17.78 ppm, dan 12.02 ppm masing-masing. Kalium dikromat merupakan sejenis bahan kimia yang beracun dan sesuai digunakan sebagai kawalan ujian positif dalam ujian ketoksikan ini. Hasil ekstrak mentah metanol, ekstrak butanol, dan akueus telah memberikan ketoksikan relatif yang lebih tinggi dari nilai kalium dikromat. Secara keseluruhan, ekstrak-ekstrak *Tinospora crispa* didapati agak bertoksik berdasarkan nilai ketoksikan relatif terhadap kalium dikromat. Walaubagaimanapun, terdapat banyak faktor lain yang menyebabkan udang air laut yang dikaji tidak bergerak atau sememangnya telah mati semasa diperhatikan).

**Jadual 1.2** Nilai Kemautan LC<sub>50</sub> akut (6 jam)

Ekstrak	Nilai Kemautan LC <sub>50</sub> Kronik (ppm)	Had Keyakinan 95 % (ppm)	Ketoksikan Relatif
Heksana	273.84	562 ~ 17,805	0.2943
Kloroform	259.29	48 ~ 1394	0.3108
Butanol	17.78	3 ~ 111	4.5321
Akueus	12.02	2 ~ 75	6.7038
Metanol	15.44	40 ~ 1156	5.2189
Kalium Dikromat	80.58	17 ~ 385	1.0000

Jadual 1.3 Nilai Kemautan LC<sub>50</sub> kronik (24 jam)

Ekstrak	Nilai Kemautan LC <sub>50</sub> Akut (ppm)	Had Keyakinan 95 % (ppm)	Ketoksikan Relatif
Heksana	3162.28	554 ~ 18,059	0.1940
Kloroform	7813.71	1629 ~ 37,494	0.0785
Butanol	380.72	71 ~ 2051	1.6117
Akues	662.87	112 ~ 3936	0.9257
Metanol	1847.85	323 ~ 10,570	0.3321
Kalium Dikromat	613.59	535 ~ 2419	1.000

### KESIMPULAN

Secara keseluruhan, objektif kajian ini telah tercapai. Kehadiran sebatian kimia yang berbeza dalam setiap ekstrak menunjukkan perbezaan yang sangat ketara didalam hasil ujian bioaktiviti. Ini mungkin disebabkan oleh sesetengah sebatian aktif dari penyaringan fitokimia yang hadir dalam ekstrak-ekstrak tersebut mempunyai perbezaan kepekatan dan mengambil masa yang lebih panjang untuk bertindak secara aktif. Walaupun demikian, kajian lanjut harus dijalankan ke atas tumbuhan ini kerana *Tinospora crispa* mempunyai potensi dalam bidang perubatan mahupun bidang pertanian dan tidak seharusnya dipersia-siakan.

## REFERENCES

- Classen, D. C., Pestonik, S. L., Evans, R. S., Lloyd, J. F., Burke, J. P., 1997. Adversed drug events in hospitalized patients. Excess length stay, extra cost, and attributable mortality. *Journal of the American Medical Association* **277**, 301-306.
- Eisenberg, D. M., Kessler, R. C., Foster, C., Norlock, F. E., Calkins, D. R., 1993. Unconventional medicine in the United States: Prevalence, costs, and patterns of use. *New England Journal of Medicine* **328** (4), 277-287.
- Fasihuddin, A., dan Hasmah, R., 1993. *Kimia hasilan semulajadi dan tumbuhan ubatan*. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur.
- Holland, E. G., and Degruy, F., 1997. Drug-induced disorders. *American Family Physicians* **56**, 1781-1788.
- Krishnaraju, A. V., Rao, T. V. N., Sundararaju, D., Vanisree, M., Tsay, H. S., Subbaraju, G. V., 2005. Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. *International Journal of Applied Science and Engineering* **2**, 125-134.
- Lazarou, J., Pomeraz, B. H., Corey, P. N., 1998. Incident of adverse drug reaction in hospitalized patients: a meta analysis of perspective studies. *Journal of the American Medical Association* **279** ( 15 ), 1200-1205.
- Leape, L., 1994. Error in medicine. *Journal of the American Medical Association* **272** ( 23 ), 1851-1857.
- Marini-Bettolo, G. B., Nicoletti, M., and Patamia, M., 1981. Plant screening by chemical and chromatographic procedures under field condition. *Journal of Chromatography* **213**, 113-127.
- Maurya, R., Wazir, V. dan Kapil, R. S., 1993. Biotherapeutic diterpene glucosides from *Tinospora* species. *Journal Of Indian Chemical Society* **71** .
- Mitchell, J. K. and Carter, W. E., 2000. Modeling antimicrobial activity of clorox™ using an agar-diffusion test: A new twist on an old experiment. *Bioseene* **26** ( 3 ).
- Sam, T. W., 1993. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina* dalam colegate. S. M. & Molyneux, R. J., Bioactive natural products detection, isolation and structural determination. CRC Press, USA.
- Shahimi, M. M. dan Mohsin, S. S., 1983. Effects of *Tinospora crispa* on the cardiovascular system, body weight, and blood glucose in experimental animals. *Jurnal Perubatan UKM* **4** (2), 87-92.
- Shahimi, M. M., Tariq, A. R., Bik, C. K., Suhaimi, S. and Yap, C. G., 1995. Effect on ethanolic of *Tinospora crispa* on insulin release in isolated pancreas of rats. Petaluduk Publications: Kuala Lumpur.
- Svoboda, K. P. and Hampson, J. B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, Antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacology activities.