

## Pemeriksaan L-Dopa Pada Fraksi dan Isolat Biji Koro Benguk (*Mucuna pruriens L.*) Sebagai Obar Herbal Fertilitas

Sri Winarni<sup>\*)</sup>, Martini<sup>\*\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Staf Pengajar Bagian Biostatistik FKM UNDIP

<sup>\*\*)</sup> Staf Pengajar Pada Bagian Epidemiologi FK UNDIP

### ABSTRACT

*Based on previous research, the active ingredient of "koro benguk" (*Mucuna pruriens L.*), namely L-dopa can affect sperm quality. This study aims to measure the levels of L-dopa as the active ingredient in fractions and isolate seed of "koro benguk".*

*It was an experimental research to measure and describe the content of L-dopa in the seed of "koro benguk" based process / method of processing. The measurement content of L-Dopa used HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method. The process of the selected fractions used the method MWEL-1299. While the isolation of the selected process is to boil the seed of "koro benguk" fraction in boiling water and filtered in the hot position.*

*The result of this research is koro benguk seed (*Mucuna pruriens L.*) is the content of L-dopa on the fraction of 14.7% and the isolation of 56.47%.*

**Keywords:** HPLC, *Mucuna pruriens L.*, L-dopa.

### PENDAHULUAN

Penanganan dan pengolahan koro benguk yang tepat membuat tanaman ini berpotensi tinggi. Di India banyak memanfaatkan kadar mikroelemen dan makroelemen ekstrak biji koro benguk ini. Pada hewan coba terbukti meningkatkan aktifitas seksual hewan coba tikus putih jantan yang normal.<sup>1</sup> Selain itu juga dimanfaatkan sebagai obat herbal mengurangi stres dan meningkatkan kualitas sperma<sup>2</sup>, memperbaiki profil semen dan parameter biokimia seminal plasma<sup>3</sup>, dan meningkatkan fertilitas pria.<sup>4</sup> Semua ini didukung oleh bahan yang terdapat pada koro benguk. Terutama kandungan mikroelemen non protein asam amino (-)-3-(3-4-dihydroxyphenyl)-L-alanine (L-DOPA) (4,2% – 6,8%).<sup>5,6</sup> Dengan pengolahan, pembuatan preparat yang benar dan dosis yang tepat L-DOPA bisa dimanfaatkan

Hasil penelitian yang dilakukan Martini menyatakan kandungan flavonoid dari tempe benguk sebesar 0,55%. Dimana kandungan flavonoid terutama isoflavon dapat dipakai sebagai pengobatan antikanker.

Kandungan L-DOPA yang tinggi, dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal dalam penanganan infertilitas, disamping manfaat yang sering diperoleh yaitu berupa produk tempe benguk. Hal ini mengingat infertilitas dalam dekade terakhir ini semakin meningkat. Insiden infertilitas meningkat sejak 40 tahun terakhir.<sup>7</sup> Kurang lebih 10-15% jumlah penduduk mengalami infertilitas. Panati (1989) menyatakan bahwa dua dari

setiap sepuluh pasangan suami istri infertil, sedangkan Aesoph (1998) menjelaskan bahwa 10-15% pasangan suami isteri infertil. Dikatakan bahwa 50% kasus infertil, faktor pria terlibat di dalamnya, baik sebagai problem primer atau kombinasi dengan pasangan wanitanya.<sup>8</sup> Ada pendapat lain bahwa penyebab infertil 40% dari pihak pria dan 40% terdapat pada wanita serta 30% pada pihak pria dan wanita.<sup>9</sup> Olsen melaporkan bahwa konsentrasi spermatozoa berkurang sebanyak 50% dalam kurun waktu 50 tahun (1940-1990), yaitu adanya penurunan konsentrasi sperma dari 113 juta spermatozoa/ml menjadi 66 juta spermatozoa/ml. Rata-rata konsentrasi spermatozoa kelompok infertil selama satu tahun di poli Andrologi FK Unair-RSUD Dr. Soetomo (1993) adalah 21,1 juta/ml.<sup>10</sup>

Harapan dan penyembuhan baru bagi pasangan-pasangan yang tidak mempunyai anak merupakan perhatian utama dalam kemajuan-kemajuan medis di bidang seksologi selama tahun 1980-an. Menurut Panati (1989) perawatan ini ditujukan tidak hanya untuk para wanita, tetapi juga para pria, karena diketahui bahwa para suami menyebabkan hampir sepertiga masalah infertilitas. Hal ini didukung oleh *royal college of obstetricians and gynaecologist* (RCOG) sebagai hasil Capri Workshop tahun 2000 yang menyatakan bahwa sperma analisa merupakan penentu pertama diagnosa infertilitas disamping patensi tuba, diagnosis ovulasi.<sup>11</sup> Sehingga faktor spermatozoa sangat penting dalam mengatasi kasus infertilitas.



Keberhasilan proses fertilisasi salah satunya dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa yang dihasilkan testis.

Misra mendapatkan bahwa dengan metoda ekstrak MWEL-1299 diperoleh hasil L-DOPA yang maksimal dibandingkan dengan metoda lain.<sup>12</sup> Oleh karena itu sebelum dilakukan pengujian koro benguk sebagai obat herbal, perlu dilakukan kajian prosedur ekstrak dalam mendapatkan bahan aktif (L-DOPA) yang maksimal. Perumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut : Seberapa besar kandungan L-DOPA dalam fraksi etanol 96% dan isolat biji koro benguk?

Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat membuka kemungkinan pengembangan penelitian lebih lanjut untuk memanfaatkan koro benguk sebagai obat herbal yang dapat sebagai obat infertilitas dan menyehatkan masyarakat dari berbagai penyakit seperti yang telah terbukti pada tempe kedelai.

### MATERI DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Penelitian dilakukan dengan tujuan utama untuk menggambarkan kandungan L-DOPA pada biji koro benguk berdasarkan proses/cara pengolahan. Prosedur penelitian digambarkan sebagai berikut:

1. Pada tahap awal penelitian ini mengidentifikasi jenis-jenis biji koro benguk.
2. Melakukan pemrosesan biji koro benguk warna putih menjadi fraksi di laboratorium Fakultas farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.
3. Fraksi yang digunakan dipilih dengan menggunakan metode MWEL-1299.
4. Mengeringkan biji koro benguk.
5. Menumbuk biji koro benguk dan mengayaknya.
6. Merendam dan mengocok 500 gram biji koro benguk dalam 1500 ml aceton pro analisa, selama 48 jam pada suhu kamar.
7. Menyaringnya dan ampas dianginkan, sedangkan filtratnya dibuang.
8. Merendam dan mengocok ampas tersebut ke dalam campuran aquadest dan etanol (1:1) dengan ditambah asam askorbat 2,5 gram, selama semalam. (Proses diulang tiga kali)

9. Filtrat hasil dari tiga kali penyaringan dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan rotavapor R-153 (Buchi) dengan *water bath* suhu luar 58 °C-59°C, suhu dalam 40°C, kecepatan 50 rpm, dengan pendingin air es. Hasil yang diperoleh adalah L-DOPA kasar.
10. Proses selanjutnya melakukan rekristalisasi/purifikasi dengan menggunakan air panas (mendidih). Isolat biji *M. pruriens* diperoleh dengan cara melakukan proses isolasi dari bahan uji fraksi etanol 96% biji *M. pruriens* direkristalisasi/purifikasi dengan air panas (mendidih).<sup>12</sup> Hasil yang diperoleh adalah isolat atau fraksi terpurifikasi dengan hasil separuh dari fraksi biji koro benguk.
11. Melakukan pemeriksaan kandungan L-DOPA pada biji koro benguk dengan menggunakan metode HPLC di LPPT Unit I, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Data penelitian yang didapat merupakan data primer yaitu dari hasil pemeriksaan kuantitatif di laboratorium dari identifikasi kadar L-DOPA dan analisis yang digunakan adalah analisis deskriptif.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan metode spektrofotometri dinyatakan bahwa kandungan flavonoid pada tempe benguk adalah 0,55 %. Pada penelitian kali ini bahan yang digunakan adalah biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.). Biji *M. pruriens* ini merupakan tanaman budidaya yang diperoleh dari petani di desa Banyakprada, kecamatan Tirtomoyo, kabupaten Wonogiri, propinsi Jawa Tengah. Daerah tersebut terletak pada ketinggian 171 m diatas permukaan air laut. Biji tersebut diperoleh dari petani, sekitar bulan November 2009 (hasil panen dari musim kemarau). Panen maksimal dari biji *M. pruriens* terjadi pada musim kemarau. Tumbuhan ini lebih menyukai iklim yang lembab, panas dengan curah hujan tahunan 1000-2500 mm, dan cukup tahan terhadap kekeringan. Suhu untuk pertumbuhan biji *M. pruriens* terbaik berkisar 19-27 °C.

Tabel 1. Hasil fraksi etanol 96% biji *M. pruriens* dengan metoda MWEL-1299

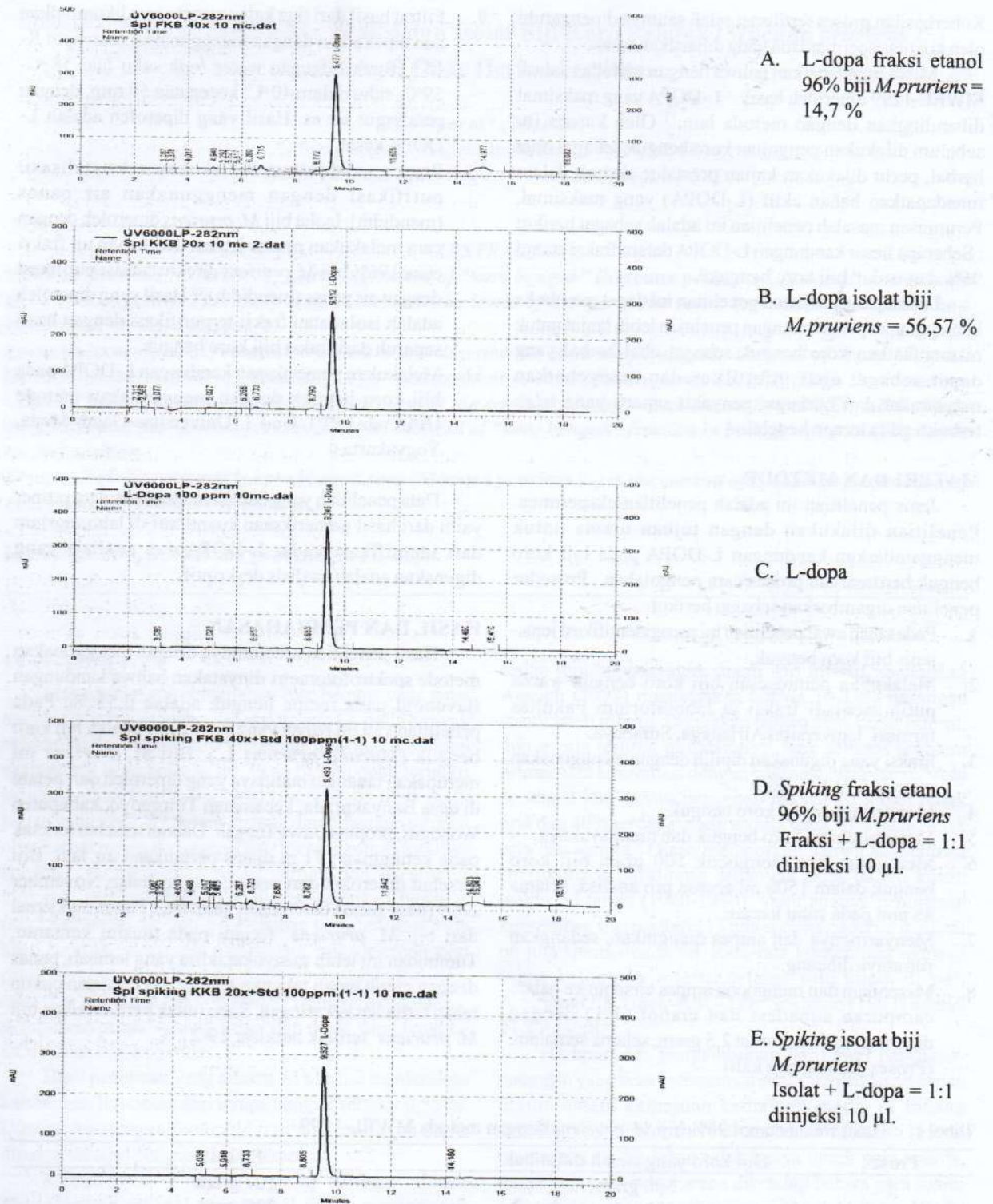
Proses	Biji koro yang sudah ditumbuk	Fraksi
I	500 gram	107 gram
II	600 gram	285 gram

Tabel 2. Hasil isolasi dari fraksi biji *M. pruriens*

Proses	Fraksi etanol 96%	Isolat
I	107 gram	6,58 gram dalam 60 gram fraksi
II	285 gram	3,63 gram dalam 40 gram fraksi



Pemeriksaan L-Dopa Pada ... (Sri W, Martini)



Gambar 1. Perbandingan hasil HPLC, *spiking* dari fraksi, isolat biji *M.pruriens* dengan L-dopa.

Keterangan: A. Fraksi biji *M.pruriens*, B. Isolat biji *M.pruriens*, C.L-dopa,  
 D. Spiking fraksi biji *M.pruriens*, E. Spiking isolat biji *M.pruriens*,  
 FKB = fraksi etanol 96% biji *M.pruriens*, KKB = isolat biji *M.pruriens*.



Sebelum difraksinasi, biji *M. pruriens* yang kering ditumbuk dan disaring. Kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode MWEL-1299, dengan variasi direbus dalam suhu 100°C, selama 2 jam. Caranya adalah biji kering *M. pruriens* direndam dengan 1500 ml acetone dan dikocok selama 48 jam dalam suhu kamar. Bahan ini disaring, ampasnya diambil dan dianginkan pada suhu kamar. Ampas tersebut dilarutkan dengan campuran air dan etanol 96% dengan perbandingan 1:1 dengan 2,5 gram asam askorbat dalam 2500 ml dan dikocok semalam. Proses ini diulang tiga kali. Filtratnya diambil sedangkan ampasnya dibuang. Hasil dari penyaringan dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotavapor R-153 (Buchi) dengan *water bath* suhu luar 58°C - 59°C, suhu dalam 40°C, kecepatan 50 rpm, dengan pendingin air es. Hasil yang diperoleh bisa dilihat pada tabel 1. Pada proses pertama fraksinasi, besarnya biji *M. pruriens* yang diolah adalah 500 gram, sedangkan proses yang kedua 600 gram.

Hasil fraksi dari metode MWEL-1299 dilanjutkan proses membuat isolat, yaitu dengan cara fraksi biji *M. pruriens* direbus kedalam air mendidih, kemudian disaring dalam keadaan masih panas. Hasil yang diperoleh dihilangkan kandungan airnya. Isolat yang diperoleh lebih kering dibandingkan dengan fraksi etanol 96% biji *M. pruriens*, yang masih banyak mengandung air. Hasil isolat dari fraksi biji *M. pruriens* dapat dilihat pada tabel 2.

Penelitian yang sudah ada di luar negeri (terutama India), menyatakan bahwa biji *M. pruriens* ini mengandung L-dopa, maka fraksi dan isolat ini dilakukan uji L-dopa secara kuantitatif dengan menggunakan HPLC. Teknik HPLC ini menggunakan metode gradien dengan kolom Eurospher (100-5 C<sub>18</sub>, panjang 25 cm), kecepatan aliran 0,8 ml/menit, panjang gelombang 282 nm, dengan menginjeksikan 10 µl masing-masing sampel. Untuk meyakinkan hasil tersebut, uji HPLC ini ditambah dengan teknik *spiking*. Hasil akhir yang diperoleh, membuktikan L-dopa dalam fraksi dan isolat memiliki kemiripan dengan L-dopa. Hal ini bisa dilihat dari *retention time* dalam ukuran menit dan *spiking* antara fraksi dan isolat dengan L-dopa. Hasil yang diperoleh dari HPLC bisa dilihat pada gambar 1.

Proses fraksinasi pada penelitian ini menggunakan metode M-WELL 1299 dengan variasi direbus dalam suhu 100°C (tidak boleh lebih), selama 2 jam. Titik lebur (*m.p.*) L-dopa adalah 276-278°C. Di antara beberapa metoda, M-WELL 1299 yang digunakan pada penelitian ini dikarenakan fraksi etanol 96% dan isolat yang diperoleh bisa mempunyai kandungan L-dopa yang maksimal, menunjukkan aktifitas antioksidan yang maksimal (EC 50 = 2,5 µg) melawan DPPH radikal, dan melawan ion yang toksik MPP<sup>+</sup> (*l-methyl-4-*

*phenylpyridium*). Teknik yang digunakan untuk memperoleh isolat antara lain dengan tahapan atau proses yang berasal dari fraksi etanol 96% biji *M. pruriens* direbus di dalam air mendidih, kemudian disaring dalam posisi masih panas.<sup>12</sup>

Hasil HPLC menunjukkan bahwa fraksi etanol 96% biji *M. pruriens* memiliki 19 *peak*, satu puncak dominan dimiliki oleh L-dopa, dengan proporsi 77,6 %, isolat biji *M. pruriens* memiliki 10 *peak*, satu puncak dominan dimiliki oleh L-dopa, dengan kemurnian 94,7 %, dan L-dopa memiliki 9 *peak*, satu puncak dominan dimiliki oleh L-dopa, dengan kemurnian 94,2 %. Pada penelitian ini, kemurnian isolat dan L-dopa yang diperoleh hampir sama dan masih tercampur dengan pengotor atau bahan lain (belum murni 100%). Kandungan L-dopa di dalam fraksi etanol 96% dan isolat biji *M. pruriens* belum murni 100%, karena masih mengandung bahan-bahan lain yang tidak bisa muncul dengan panjang gelombang 282 nm pada pemeriksaan HPLC. Kemurnian L-dopa tidak 100% karena adanya pengotor selama pemeriksaan HPLC. Kandungan L-dopa dalam isolat sebesar 56,57% dan fraksi etanol 96% biji *M. pruriens* sebesar 14,7%. Hal ini bisa dilihat bahwa komponen utama bahan aktif dari biji *M. pruriens* adalah L-dopa, alkaloids, asam askorbat, protein (albumin, globulin, prolamin, glutein) dan amin (triptamin, alkilamin), lipid (<sup>2</sup>-sitosterol, lechitin), asam amino (metionin, valin, isoleusin, leusin, tirosin, histidin), mineral, serat, debu, asam lemak (*oleic acid*, *linoleic acid*, *palmitic acid*, dan *stereic acid*), dan karbohidrat.<sup>3</sup> Isolat yang diperoleh adalah sepersepuluh dari bahan fraksi etanol 96% biji *M. pruriens* yang dipurifikasi.

Data yang terkumpul bisa membuktikan bahwa dengan metode M-WELL 1299 dengan variasi direbus dengan suhu 100°C selama 2 jam bisa meminimalkan bahkan menghilangkan bahan toksik dan memaksimalkan kadar L-dopa yang terkandung dalam biji koro benguk. Harapan untuk penelitian selanjutnya bisa menggunakan bahan perlakuan ini untuk peningkatan kualitas spermatozoa. Perlu dilakukan penelitian pada hewan coba terlebih dahulu sebelum diterapkan ke manusia.

## SIMPULAN

Hasil penelitian tentang pemeriksaan kimiawi untuk pemurnian L-dopa pada fraksi dan isolat biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) sebagai obat herbal untuk fertilitas dapat disimpulkan bahwa proses fraksinasi dengan metode M-WELL 1299 pada biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) dapat menghasilkan L-dopa sebesar 14,7% dan isolasi dengan air mendidih menghasilkan L-dopa sebesar 56,47%.



## SARAN

Saran yang bisa diberikan agar tercapainya kesempurnaan penelitian ini adalah:

1. Melakukan penelitian kandungan residu pestisida, dan HCN pada biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat sehingga bisa mengoptimalkan manfaat dari L-DOPA untuk obat herbal fertilitas.
2. Melakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh fraksi dan isolat biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) terhadap kualitas spermatozoa pada hewan coba (mencit, kelinci, monyet).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Suresh S, Prithviraj E, Prakash S. Dose and time dependent effects of ethanolic extract of mucuna pruriens linn. seed on sexual behaviour of normal male rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009; 122 (3): 497-501
2. Shukla KK, Mahdi AA, Ahmad MK, Jaiswar SP, Shankwar SN, Tiwari SC. *Mucuna pruriens reduces stress and improves the quality of semen in infertile men*. eCAM Advance Access published; 2007, pp 1-8.
3. Ahmad MK, Mahdi AA, Shukla KK *et al.* Effect of mucuna pruriens on semen profile and biochemical parameters in seminal plasma of infertile man. *Fertility and Sterility journal*, 2008; 90(3): 627-635.
4. Shukla KK, Mahdi AA, Ahmad MK, Shankwar SN, Rajender S, Jaiswar SP. *Mucuna pruriens improve male fertility by its action on the hypothalamus-pituitary-gonadal axis*. American Society for Reproductive Medicine Publisher, 2008.
5. Siddhuraju P, Becker K. Effect of various domestic processing methods on antinutrients and in vitro protein and starch digestibility of two indigenous varieties of Indian tribal pulse, *Mucuna pruriens* var. *utilis*. *J Agric Food Chem*, 2001; Vol 49, pp 3058 - 3067.
6. Pugalenthi M, Vadivel V, Siddhuraju P. Alternative food/feed perspectives of an underutilized legume mucuna pruriens var. *utilis*-A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2005; Vol 60, pp 201-218.
7. Rayburn WF dan Carey JC. *Obstetri dan Ginekologi* (Obstetrics and Gynecology). Alih bahasa oleh Chalik TMA. Jakarta: EGC; 2004, hlm 313-332.
8. Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, and Arap S. Effects of medical therapy, alcohol, smoking, and endocrine disruptors on male infertility. *Rev. Hosp. Clin. Med. S. Paulo*, 2004; 59(6): 375-382.
9. Speroff L, & Fritz MA. *Clinical gynecology endocrinology and infertility*. 7<sup>th</sup> edition. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 1996.
10. Soehadi K. dan Winarso H. *Infertilitas pria masa kini dan masa akan datang*, Dalam Seminar Penanganan Andrologik pada Infertilitas dan Impotensi. Poli Andrologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan Lab. Biomedik Fakultas Kedokteran Unair. Surabaya: 20 April 1996.
11. RCOG Guidelines. The first category the basic routine infertility, investigation grade B recommendation 1999 in ESHRE Capri Workshop. National Guidelines Clearinghouse, 2000.
12. Misra L, Wagner H. Extraction of bioactive principles from mucuna pruriens seeds. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2007; Vol 44: p.56-60.