

Kandungan *L-3, 4-dihydroxyphenylalanine* Suatu Bahan Neuroprotektif pada Biji Koro Benguk (*Mucuna pruriens*) Segar, Rebus, dan Tempe

*(L-3,4-DIHYDROXYPHENYLALANINE CONTENT AS A NEUROPROTECTIVE
MATERIAL ON FRESH, COOKED AND FERMENTED OF KORO BENGUK
(MUCUNA PRURIENS) BEANS*

Tri Wahyu Pangestiningih, Trini Susmiati, Hery Wijayanto

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,
Jalan Fauna, No. 2, Karangmalang, Yogyakarta, Indonesia, 55281.
Telp: 0274 560862; email: estifkh@ugm.ac.id

Abstrak

Indonesia sangat kaya dengan keanekaragaman flora yang potensial untuk terapi herbal, salah satunya tanaman *koro benguk* (*Mucuna pruriens*) yang bijinya bisa diolah menjadi tempe sebagai konsumsi harian masyarakat di sekitar Yogyakarta dan Jawa Tengah. Biji *koro benguk* diketahui mengandung *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) tinggi dan berpotensi menjadi agen neuroprotektor pada penyakit Parkinson. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan L-DOPA mulai dari biji *koro benguk* segar, rebus, dan bahan olahannya yaitu tempe benguk. Uji dilakukan pada biji *koro benguk* mentah kulit berwarna putih (BR D) dan hitam (BR A) asal Wonogiri, Jawa Tengah, serta biji *koro benguk* mentah kulit berwarna putih (KP C), biji *koro benguk* yang sudah direbus dua kali, dan *tempe benguk* asal Kulon Progo, Yogyakarta. Sampel diekstraksi menggunakan pelarut etanol dan n-propanol, kemudian dianalisis dengan teknik *high-performance liquid chromatography* (HPLC) untuk melihat kadar kandungan L-DOPA-nya. Hasil penelitian menunjukkan, kadar L-DOPA tertinggi (8,56%) ditemukan pada biji *koro benguk* mentah dengan warna kulit putih asal Wonogiri yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol, sedangkan kadar L-DOPA terendah (0,016%) ditemukan pada sediaan tempe yang diekstraksi dengan n-propanol asal Kulon Progo. Secara umum, ekstraksi menggunakan pelarut etanol memberikan hasil kadar L-DOPA yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut n-propanol. Semua ekstraksi sampel, mulai biji *koro benguk* segar, rebus sampai bentuk tempennya mengandung L-DOPA, dengan kadar tertinggi terdapat pada biji *koro benguk* segar berkulit putih asal Wonogiri, Jawa Tengah yang diekstraksi menggunakan etanol, sedangkan kadar terendah dijumpai pada tempe benguk dari Kulon Progo, Yogyakarta yang diekstraksi menggunakan n-propanol.

Kata-kata kunci: biji koro benguk; ekstraksi; L-DOPA, HPLC

Abstract

Indonesia is rich in flora potentially used for herbal medication. One of the potential herbal is *koro benguk* (*Mucuna pruriens*) beans, where in Central Java and Yogyakarta is processed into tempe (fermented *mucuna* beans) for daily human consumption. *Koro benguk* has high level of *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) which has a potential neuroprotective effect on Parkinson's disease. The aim of this study was to investigate the L-DOPA content in fresh beans, cooked and fermented of *koro benguk* beans. The investigation were done in fresh *mucuna* beans, white color (BRD) and black color (BR A) beans originated from Wonogiri, Central Java, and fresh, white color (KP C), cooked and fermented beans collected from Kulon Progo, Yogyakarta. The samples were extracted using ethanol and n-propanol solutions and were analyzed using *high-performance liquid chromatography* (HPLC) technique. The results show that the highest L-DOPA level (8,56%) was found in fresh white *koro benguk* beans from Wonogiri extracted using ethanol. The lowest L-DOPA level (0,016%) was found in fermented beans that extracted using n-propanol. Extraction using ethanol yield a higher L-DOPA level as compared to that of using n-propanol. In brief, all of the samples starting from fresh bean, cooked and fermented *koro benguk* beans contain L-DOPA, with highest L-DOPA level was found in the white fresh *koro benguk* beans, from Wonogiri, Central Java. The lowest ingredient L-DOPA level was found in the fermented beans from Kulon Progo, Yogyakarta.

Key words: *Mucuna pruriens* beans; extraction; L-DOPA; *high-performance liquid chromatography* technique

PENDAHULUAN

Potensi obat herbal di Indonesia sebagai negara megabiodiversitas sangat tinggi. Banyak tanaman yang sudah digunakan sebagai obat-obatan dan dipercaya mampu mengatasi keluhan berbagai penyakit. Meski begitu, masih banyak tanaman yang potensial menjadi obat herbal, tetapi belum digali potensi dan kandungan zat aktifnya. Salah satunya adalah *koro benguk* yang mengandung *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) dan potensial untuk mengatasi penyakit Parkinson. Tanaman *koro benguk* merupakan tumbuhan merambat, berdaun lebar, bunganya berwarna putih, merah muda, atau ungu, polong dipenuhi rambut halus seperti beludru. Warna kulit biji bervariasi dari putih keabu-abuan, hitam, dan kuning kecokelatan dengan bercak-bercak hitam, dan daging bijinya berwarna putih (Lampariello *et al.*, 2012). Tanaman *koro benguk* mudah ditemukan di kawasan tropis di semua benua, mulai dari Afrika, Kepulauan Karibia, Australia Utara, India, dan Asia Tenggara (termasuk Indonesia). Rataan kandungan L-DOPA pada biji *koro benguk* yang dianalisis dengan metode *high performance thin layer chromatography* sebesar 3,28% (Raina dan Kathri, 2011). Senyawa L-DOPA diketahui merupakan prekursor untuk sintesis dopamin di neuron dopaminergik yang ada di otak. Sejauh ini pemberian L-DOPA merupakan *gold-standart* untuk pengobatan penyakit Parkinson, karena bahan tersebut mampu menembus barier darah-otak, sehingga dapat mencapai neuron dopaminergik. Sebagai penyakit neurodegeneratif, Parkinson dapat menyerang manusia berusia di atas 55 tahun dengan gejala klinis tremor, bradikinesia, hipokinesia, gangguan keseimbangan, dan gangguan dalam berjalan. Gejala tersebut terjadi karena adanya kerusakan neuron dopaminergik di substansia nigra pars kompakta atau terganggunya *nigro-striatal pathway* (Emborg, 2004). Pasien penderita penyakit Parkinson mendapatkan terapi L-DOPA dengan dosis 150–2000 mg setiap hari, dengan rata-rata pemberian dosis sebesar 570,9 mg (Pawlukowska *et al.*, 2015).

Kandungan L-DOPA pada biji *koro benguk* dapat digunakan untuk pengobatan penyakit neurologi dan sebagai *aphrodisiac* (Lee *et al.*, 2005), bahkan mampu meningkatkan spermatogenesis (Winarni *et al.*, 2011). Pada mencit percobaan yang diinduksi aloksan, ekstrak etanolik biji *koro benguk* mampu

menurunkan gula darah (Majekodunmi *et al.*, 2011) dan menurut Yadav *et al.* (2014) ekstrak etanolik biji *koro benguk* juga mampu melindungi otak terhadap penyakit Parkinson dibandingkan dengan pemberian estrogen pada mencit percobaan yang diinduksi *1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine* (MPTP). Pada ekstraksi menggunakan akuades, biji *koro benguk* mampu menurunkan stress oksidatif pada jaringan *nigro-striatal* terhadap penyakit Parkinson pada mencit percobaan yang diinduksi parakuat (Yadav *et al.*, 2013). Ekstrak metanolik daun *koro benguk* dapat membantu penanganan stres oksidatif pada penyakit kulit yang diduga dengan cara mencegah terjadinya modifikasi protein setelah translasi (Cortelazo *et al.*, 2014). Secara tradisional biji *koro benguk* sudah dimanfaatkan sebagai agen hipotensif dan hipoglikemik, obat cacing, diare, asma, batuk, pleuritis, diuretik, gigitan anjing, dan kanker (Lee *et al.*, 2005).

Masyarakat Yogyakarta dan Jawa Tengah telah lama mengkonsumsi biji *koro benguk* yang diolah menjadi tempe dengan cara direbus sebanyak dua kali kemudian difermentasi. Belum diketahui, apakah dengan proses pengolahan tersebut menurunkan kadar L-DOPA. Menurut Misra dan Wagner (2007), teknik ekstraksi biji *koro benguk* menggunakan pelarut etanol dapat menghasilkan kadar L-DOPA yang cukup tinggi, akan tetapi, kemampuan neuroproteksi L-DOPA ternyata lebih baik jika diekstraksi menggunakan larutan n-propanol dibanding etanol. Untuk mengetahui konsentrasi L-DOPA yang diekstraksi dari berbagai sediaan, pada penelitian ini dilakukan ekstraksi biji *koro benguk* dalam bentuk sediaan mentah, rebusan, dan tempe, dengan dua metode ekstraksi, yaitu menggunakan pelarut etanol dan n-propanol.

METODE PENELITIAN

Materi penelitian berupa biji *koro benguk* (*M. pruriens*) mentah dari Baturetno, Wonogiri, Jawa Tengah yang memiliki warna kulit putih (BR D) dan warna kulit hitam (BR A) dan biji mentah dari Sentolo, Kulonprogo, DIY (KP C) serta biji rebus dan tempe benguk dari Sentolo, Kulonprogo, DIY. Bahan untuk ekstraksi meliputi etanol, n-propanol, asam askorbat, aseton. Standar L-DOPA yang dipakai sebagai pembanding adalah L-DOPA produk Sigma, Catalog No. 9628.

Metode Ekstraksi L-DOPA dari Biji dan Koro Benguk (Modifikasi Metode Lee et al., 2005 serta Misra dan Wagner, 2007)

Ekstraksi Menggunakan Etanol dan Air Perbandingan 1:1 (MWEL-1299). Bubuk biji *koro benguk* mentah, rebus dan tempe seberat 100 g masing-masing dilarutkan dalam 300 mL aseton (untuk menghilangkan lemak), diaduk selama selama 48 jam, pada suhu ruang. Bahan kemudian diekstrak dalam akuades-etanol (1:1) dan ditambahkan 0,1 % asam askorbat, sebanyak 500 mL, dilakukan tiga kali. Residu dihilangkan dengan menyaring dan filtrat dikumpulkan kemudian dipekatkan. Konsentrat setelah kristalisasi menghasilkan L-DOPA.

Ekstraksi Menggunakan n-propanolol (MPL 0100). Bubuk biji *koro benguk* mentah, rebus, dan tempe seberat 20 g masing-masing dilarutkan dalam 100 mL n-propanol kemudian diaduk selama 18 jam pada suhu ruang. Filtrat disaring, kemudian residu diekstraksi lagi dengan cara yang sama dan ekstraksi diulang sampai total ekstraksi empat kali. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian didestilasi sehingga memperoleh masa bahan berminyak. Hasil ekstraksi dianalisis lebih lanjut untuk melihat kadar L-DOPA dengan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) dengan pembanding menggunakan L-DOPA standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara taksonomis, tidak ada perbedaan ke tiga biji *koro benguk* yang diperoleh dari Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) maupun Jawa Tengah. Tiga jenis biji *koro benguk* mentah dari dua propinsi yang dijadikan sampel adalah biji *koro benguk* putih, hitam, dan lurik. Pada penelitian ini dipakai biji *koro benguk*

putih dari Kulonprogo (KP C) dan dari Wonogiri (BR D) serta *koro benguk* hitam dari Wonogiri (BR A) serta biji *koro benguk* rebus dan *tempe benguk* dari Kulon Progo.

Ekstraksi L-DOPA dari kelima sediaan yaitu t5iga jenis biji mentah, biji rebus (bahan tempe), dan tempe dilakukan menggunakan dua teknik, yaitu menggunakan pelarut etanol dan pelarut n-propanol, yang dilanjutkan dengan analisis kadar L-DOPA dengan metode HPLC. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pada proses membuat tempe mulai perebusan sampai fermentasi menyebabkan menurunnya kadar L-DOPA pada biji *koro benguk*. Kandungan L-DOPA yang diperoleh disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis HPLC terlihat bahwa pada biji *koro benguk* mentah, rebus dan tempe semua masih mengandung L-DOPA dengan kadar yang berbeda-beda. Kadar L-DOPA yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol memberikan hasil L-DOPA yang lebih tinggi dibandingkan penggunaan pelarut n-propanol. Hasil ini sesuai dengan penelitian Misra dan Wagner (2007) yang melakukan ekstraksi biji *koro benguk* dengan menggunakan beberapa pelarut. Lebih lanjut Misra dan Wagner (2007) melaporkan bahwa, pada uji neuroproteksi, ekstraksi menggunakan pelarut n-propanol memberikan hasil lebih baik dibandingkan ekstraksi dengan etanol.

Masih adanya kandungan L-DOPA pada tempe *benguk* memberikan harapan baik untuk perlindungan otak terhadap penyakit Parkinson bagi petani yang pada saat bekerja menggunakan *parakuat diklorida* sebagai herbisida untuk membunuh gulma yang tumbuh. Penyemprotan herbisida tanpa alat pelindung sangat membahayakan kesehatan petani terutama apabila bahan tersebut terhirup pada saat bernafas ataupun ikut serta termakan. *Parakuat diklorida* diduga menyebabkan penyakit Parkinson karena dalam metabolisme

Tabel 1. Hasil ekstraksi *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* dari berbagai sediaan biji *koro benguk*

Sediaan <i>koro benguk</i>	Metode ekstraksi	
	Pelarut ethanol	Pelarut n-propanol
Tempe <i>koro benguk</i>	0,14%	0,0161 %
Biji <i>koro benguk</i> rebus	1,37%	0,036 %
Biji <i>koro benguk</i> mentah- Wonogiri A	7,44%	0,573%
Biji <i>koro benguk</i> mentah Kulon Progo C	7,26%	0,425 %
Biji <i>koro benguk</i> mentah Wonogiri D	8,56%	1,40%



Gambar 1. Jenis biji *koro benguk* yang diteliti. Biji *koro benguk* putih dari Kulonprogo (KPC); biji *koro benguk* lurik dari Baturetno-Wonogiri (BR A); dan biji *koro benguk* putih dari Baturetno-Wonogiri (BR D)

di tubuh mirip dengan MPTP yaitu menghasilkan ion *1-methyl-4-phenyl-2,3-dihidropyridinium* (MPP⁺), suatu metabolit yang bersifat toksik pada mitokondria neuron dopaminergik di substansia nigra (Betarbed *et al.*, 2002). Telah diteliti sebelumnya bahwa *paraquat diklorida* menyebabkan kerusakan neuron dopaminergik pada substansia nigra pars kompakta tikus percobaan (Pangestinarsih dan Setiawan, 2013; Pangestinarsih *et al.*, 2014). Kerusakan neuron ini berpotensi menyebabkan penyakit Parkinson. Pada penyakit Parkinson, pemberian L-DOPA yang menjadi prekursor untuk sintesis dopamin di neuron dopaminergik otak, merupakan *gold-standard* karena bahan tersebut mampu menembus sawar darah-otak, sehingga dapat mencapai neuron dopaminergik, sedangkan dopamin tidak mampu menembus barier darah-otak. Sebagai penyakit neurodegeneratif, Parkinson dapat menyerang manusia berusia di atas 55 tahun dengan gejala klinis tremor, bradikinesia, hipokinesia, gangguan keseimbangan, dan gangguan dalam berjalan. Gejala tersebut terjadi karena adanya kerusakan neuron dopaminergik di substansia nigra pars kompakta atau terganggunya *nigro-striatal pathway* (Emborg, 2004). Berapa banyak tempe yang harus dikonsumsi untuk melindungi otak dari penyakit Parkinson perlu penelitian lebih lanjut dengan melakukan uji neuroprotektif.

Hasil ekstraksi dari penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian penulis sebelumnya yang mengekstraksi L-DOPA dari biji *koro benguk* rebus menggunakan pelarut 0,1N HCl yang dilanjutkan dengan analisis kadar L-DOPA menggunakan teknik *thin layer chromatography* (TLC), dengan hasil sebesar 0,19%

(Pangestinarsih *et al.*, 2015). Dalam penelitian ini diketahui bahwa ekstraksi L-DOPA dari biji *koro benguk* yang sudah direbus lebih tinggi jika menggunakan metode ekstraksi pelarut etanol dibanding menggunakan n-propanol dan 0,1 N HCl. Kandungan L-DOPA pada biji *koro benguk* putih mentah asal Wonogiri juga ternyata lebih tinggi jika dibandingkan dengan asal Kulon Progo. Perlu penelitian lebih lanjut penyebab perbedaan kandungan L-DOPA pada biji *koro benguk* putih asal Wonogiri dan Kulon Progo. Kemungkinan perbedaan kadar L-DOPA ini terjadi karena perbedaan unsur hara tanah di kedua daerah tersebut.

SIMPULAN

Semua sediaan biji *koro benguk*, baik segar, rebus, maupun hasil olahannya dalam bentuk tempe mengandung L-DOPA. Kadar L-DOPA yang paling tinggi terdapat dalam sediaan biji segar, disusul sediaan biji rebus, dan kadar paling rendah ada pada tempe. Metode ekstraksi yang lebih optimal untuk mendapatkan kadar L-DOPA tinggi adalah metode ekstraksi menggunakan etanol.

SARAN

Perlu diteliti lebih lanjut tentang potensi neuroprotektif L-DOPA pada biji *koro benguk* baik yang segar, rebus maupun bentuk olahannya yaitu tempe untuk penyakit Parkinson dengan melakukan uji secara *in-vitro* maupun *in-vivo*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas pendanaan dari Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, Universitas Gadjah Mada, Tahun 2015. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Gadjah Mada yang telah mendanai dan memfasilitasi pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. 2002. Animal models of Parkinson's: Review articles. *BioEssays* 24: 308-318.
- Cortelazzo A, Lampariello R L, Sticozzi C, Guerranti R, Mirasole C, Zolla, Sacchetti G, Hajek J, Valacchi G. 2014. Proteomic profiling and post-translational modifications in human keratinocytes treated with *Mucuna pruriens* leaf extract. *J Ethnopharmacol* 151: 873–881.
- Emborg ME. 2004. Evaluation of animal models of Parkinson's disease for neuroprotective strategies. *J Neuro Sci Methods* 139: 121–143.
- Lampariello LR, Cortelazzo A, Guerranti R, Sticozzi C, Valacchi G. 2012. The Magic Velvet Bean of *Mucuna pruriens*. *J Tradit Complement Med* 2(4): 331–339.
- Lee A, Olano WC, Van DGR, Wagner H. 2005. *Mucuna pruriens* and extracts thereof for the treatment of neurological diseases. Intellectual Property in Australia. Patent number AU2003276041. www.ipaustralia.com.au. [Diakses tanggal: 21 April 2014]
- Majekodunmi S O, Oyagbemi A A, Umukoro S, Odeku OA. 2011. Evaluation of the anti-diabetic properties of *Mucuna pruriens* seed extract. *Asian Pac J Trop Dis* 632-636
- Misra L, Wagner H. 2007. Extraction of bioactive principles from *Mucuna pruriens* seeds. *Indian J of Biochem & Biophysic* 44: 56-60.
- Pangestiningih TW, Setiawan DCB. 2013. Gambaran Histologi *Nigrostriatal Pathway* Akibat Pemberian Parakuat Diklorida Secara Kronis Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus albinus*) Sebagai Hewan Model Penyakit Parkinson. Laporan Penelitian Multidisiplin. Yogyakarta. Fakultas Kedokteran Hewan UGM. Tahun Anggaran 2013.
- Pangestiningih TW, Wendo, WD, Selan YN, Amalo FA, Ndaong NA, Lenda V. 2014. Histological Features of Catecholaminergic Neuron In Substantia Nigra Induced By Paraquat Dichloride (1,1-Dimethyl-4,4 Bipyridinium) In Wistar Rat As A Model Of Parkinson Disease. *Indonesia J of Biotech.* 9(1): 91-98
- Pangestiningih, TW, Susmiati T, Wijayanto H. 2015. Neuroprotective Potency of Second Boiled *Mucuna Pruriens* Bean For Parkinson's Disease Therapy. Proceeding of International Seminar on the Tropical Natural Resources 2015. Mataram-Lombok, West Nusa Tenggara, Indonesia. June 10-13, 2015.
- Pawlukowska W, Go³¹b-Janowska M, Safranow K, Rotter I, Amernik K, Honczarenko K, Nowacki P. 2015. Articulation disorders and duration, severity and L-DOPA dosage in idiopathic Parkinson's disease. *Neurologia I Neurochirurgia Polska* 49: 302-306
- Raina AP, Katri R. 2011. Quantitative determination of L-DOPA in seeds of *Mucuna pruriens* germplasm by high performance thin layer chromatography. *Indian J. Pharm. Sci Sort Communication* 73(4): 469-462
- Winarni S, Judiwati R, Prajogo B, Hayati A. 2011. Ekstraksi etanol 96% biji Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L) sebagai peningkat kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Kesehatan Reproduksi* 1(2): 60-66
- Yadav SK, Prakash J, Chouhan S, Singh PS. 2013. *Mucuna pruriens* seed extract reduces oxidative stress in nigrostriatal tissue and improves neurobehavioral activity in paraquat-induced Parkinsonian mouse model. *Neurchem Intr* 62: 1039-1047
- Yadav SK, Prakash J, Chouhan S, Westfall S, Verma M, Singh TD and Singh PS. 2014. Comparison of The Neuroprotective Potential of *Mucuna Pruriens* Seed Extract With Estrogen In 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-Tetrahydropyridine (MPTP)-Induced PD Mice Model. *Neurchem. Intr* 65: 1-13