

AKTIVITAS PENURUNAN PARASITEMIA EKSTRAK KULIT BATANG MUNDU SEBAGAI ANTIPLASMODIUM SECARA IN VIVO DENGAN PARAMETER ED₅₀

DECREASING OF PARASITEMIA ACTIVITY *Garcinia dulcis* STEM BARK EXTRACTED AS ANTIPLASMODIUM WITH IN VIVO AND AD₅₀ PARAMETERS

Mamik Ponco Rahayu, Reslely Harjanti, Gunawan Pamudji
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, pi_er@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pengobatan malaria di Indonesia saat ini di beberapa daerah masih menggunakan obat standar kloroquin dengan dosis 600 mg hari pertama dan kedua serta 300 mg hari ketiga. Efektivitas pemberian kloroquin saat ini sudah mulai diragukan karena telah banyak ditemukan resistensi terhadap obat ini. Salah satu usaha menemukan antimalaria baru adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati malaria. Tanaman munda termasuk familia *garcinia*, marga *garcinia* diketahui kaya kandungan senyawa xanton dan menunjukkan aktivitas biologi termasuk antimalaria (Merza, et al.,). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiplasmodium ekstrak etil asetat kulit batang munda. Ekstraksi diperoleh secara maserasi bertingkat dengan pelarut n heksan dan etil asetat. Uji aktivitas antiplasmodium dilakukan secara in vivo pada mencit jantan galur Swiss yang diinduksi *Plasmodium berghei* dengan parameter pengujian persentase parasitemia, persentase penghambatan parasitemia dan penentuan dosis efektif 50% (ED₅₀) menggunakan metode The 4-day Suppressive Test (Peters, 1970). Dosis yang diberikan ke hewan uji untuk ekstrak etil asetat kulit batang munda yaitu 12,5; 25; 50; 100 mg/gr BB mencit Swiss. Dosis tablet kloroquin 5 mg/kg bb didapatkan 0.91 mg/20g bb dan sebagai kontrol normal CMC 0.5%. Pengujian aktivitas antiplasmodium ekstrak etil asetat kulit batang munda diperoleh dosis ED₅₀ adalah 5,01 mg/kg BB. Berdasarkan data tersebut, ekstrak etil asetat kulit batang munda memiliki aktivitas antiplasmodium.

Kata kunci: Antiplasmodium, ED₅₀, Kulit batang munda, etil asetat

ABSTRACT

Treatment of malaria in Indonesia today in some areas still using the drug standar dose of 600 mg Chloroquine first day and second day and third day of 300 mg. Effectiveness Chloroquine is starting to doubt because it was found a lot of resistance to this drug. One attempt to find new antimalarials is through the study of medicinal plants used traditionally by communities for treating malaria. This study aims to determine the activity of the ethyl acetate extract antiplasmodium *Garcinia* stem bark. Obtained by maceration extraction solvent rise with ethyl acetate and n-hexane. Antiplasmodium activity test performed in vivo in Swiss strain male mice induced by *Plasmodium berghei* parasitaemia percentage of test parameters, the percentage inhibition of parasitemia and the determination of an effective dose 50% (ED₅₀) using the method of the 4-day suppressive Test (Peters, 1970). The dose given to the test animals to the ethyl acetate extract of the stem bark *Garcinia dulcis* 12.5; 25; 50; 100 mg/gr BB Swiss mice. Dose of chloroquine tablets 5 mg / kg bw obtained 0.91 mg/20g bb and as normal controls 0.5% CMC. Testing antiplasmodium activity of ethyl acetate extract of stem bark obtained *Garcinia dulcis* ED₅₀ dose is 5.01 mg/kg BB. Based on these data, the ethyl acetate extract of the stem bark *Garcinia dulcis* antiplasmodium activity.

Key words: Antiplasmodium, ED₅₀, stem bark *garcinia*, ethyl acetate

PENDAHULUAN

Penyakit malaria telah menjadi masalah kesehatan masyarakat yang cukup besar. Penyakit tersebut memiliki dampak infeksi yang lebih luas dibanding penyakit infeksi lainnya karena terus menyebabkan morbiditas dan mortalitas dalam skala besar (WHO & Depkes, 2000). Efektivitas pemberian kloroquin saat ini sudah mulai diragukan karena telah banyak ditemukan resistensi terhadap obat ini. Resistensi pertama sekali kloroquin

terhadap *P. falciparum* di Indonesia ditemukan di Kalimantan Timur pada tahun 1973 (Depkes RI, 2006). Timbulnya resistensi Plasmodium sp terhadap antimalaria mendorong para peneliti mencari antimalaria baru untuk menggantikan antimalaria yang tidak efektif lagi. Salah satu usaha menemukan antimalaria baru adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati malaria. Keberhasilan pengembangan tanaman obat untuk antimalaria terbukti dengan ditemukannya obat baru yaitu artemisinin dan derivatnya (Depkes RI, 2006).

Marga *Garcinia* diketahui kaya kandungan senyawa xanton dan menunjukkan aktivitas biologi termasuk antimalaria (Merza, *et al.*, 2004; Lannang, *et al.*, 2005). *Garcinia dulcis* juga berpotensi sebagai antimalaria. Biji, kulit batang dan daun *Garcinia dulcis* mengandung flavonoida, saponin, tanin dan xanton (Anonim 2000). Ekstrak etanol *Garcinia dulcis* Kurz juga mempunyai aktivitas sebagai antiplasmodium (Likhitwitayawuid, 1998). Berdasarkan penelitian (Sukamat *et al.* 2006) telah ditemukan 2 jenis senyawa xanton dari fraksi etil asetat kayu batang mundu yaitu 1,3,4,5,8-penta hidroksi xanton dan 1,4,5,8-tetra hydroxy xanton. Xanton merupakan sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol dan memiliki gugus hidroksi (OH) (Sukamat *et al.* 2006). Senyawa xanton memiliki aktivitas biologis dan farmakologis sebagai sitotoksik, antifungal, antimikrobal, antioksidan, antimalaria, antiinflamasi, dan aktivitas anti-HIV (Merza. *et al* 2004). Senyawa xanton terlarut dalam pelarut semi polar yaitu etil asetat (Sukamat *et al.* 2006). Ekstrak kulit batang mundu, menurut Likhitwitayawuid, *et al.* (1998) menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *P. falciparum* (IC₅₀ :0,96%3,88 5g/mL) akan tetapi bagaimana aktivitas secara *in vivo* belum pernah diteliti lebih jauh. Pengujian *in vivo* ekstrak kulit batang mundu sebagai antimalaria juga sudah pernah dilakukan sebelumnya oleh Gunawan dan Rahayu (2010), akan tetapi pada metode perlakuan dan analisis sebelumnya belum menggunakan metode baku yaitu *The 4-day Suppressive Test* (Peters, 1970). Pada pengujian antiplasmodium ekstrak sebelumnya hanya mencari uji beda antar kelompok belum ditentukan ED₅₀.

Pengujian keefektifan suatu bahan tradisional secara *in vivo* seharusnya dengan analisis probit untuk menghitung ED-50 bukan mencari uji beda antar kelompok perlakuan. Uji aktivitas antiplasmodium secara *in vivo* menurut *Handbook Of Animal Models Of Infection* (Zak & Sande 1999) dengan melihat parameter pengujian berupa persentase parasitemia, persentase penghambatan parasitemia, sedangkan dosis efektif 50% dengan penentuan besarnya dosis yang dapat menghambat 50% pertumbuhan *Plasmodium berghei* (ED₅₀). Pengujian secara *in vivo* merupakan model pengujian aktivitas sampel dalam tubuh mahluk hidup seperti tikus, mencit, kelinci, dan kera. *Plasmodium berghei* telah terbukti menjadi analog dengan malaria manusia dan primata lainnya dalam aspek penting sebagian besar struktur, fisiologi dan siklus hidupnya (Carter & Diggs 1977). Inokulasi *Plasmodium berghei* pada mencit Swiss memiliki beberapa keunggulan, dimana mencit Swiss cukup sensitif terhadap infeksi parasit, relatif lebih tahan lama terhadap infeksi *Plasmodium berghei* dibanding mencit lain walaupun tidak diobati dan mudah dipelihara dan ditenakkan (Sundari *et al* 1997).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan uji aktivitas antiplasmodium ekstrak etil asetat kulit batang mundu secara *in vivo* pada mencit jantan galur Swiss yang diinduksi *Plasmodium berghei* dengan parameter pengujian persentase parasitemia, persentase penghambatan parasitemia dan penentuan dosis efektif 50% (Ed₅₀).

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan reagen: serbuk kulit batang mundu; mencit jantan putih Swiss Webster reagent yaitu: n-heksan p.a (E. Merck); etil asetat p.a (E. Merck) Na₂-EDTA, larutan NaCl fisiologis steril, CMC.

B. Alat. Alat-alat yang digunakan meliputi: ayakan No. 60, bejana, botol maserasi, waterbath, beaker glass, vakum evaporator, batang pengaduk, labu takar, oven, mikroskop, kandang mencit, timbangan, jarum oral, pipa kapiler, mikrosentrifugasi dan tabung reaksi, obyek glass, mikroskop dengan perbesaran 1000 x. vial, sudip, pengaduk

magnet 3 cm, corong gelas, erlenmeyer 250 ml, penangas air, almari es, beaker glass 1 L, mikropipet, penggaris, gunting, kamera digital, eksikator, pipet tetes, pipet ukur 10 ml, timbangan analitik (Mettler, AT-200)

C. Tahapan Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dalam tahap penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel tanaman mundu (*Garcinia dulcis*, Kurz) yang berkaitan dengan ciri-ciri dan morfologinya dengan petunjuk determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO2T) di daerah Tawangmangu, Karanganyar.

2. Pengambilan bahan

Kulit batang mundu kulit batang mundu (*Garcinia dulcis* Kurz) diambil secara acak dari Baki, Sukoharjo yang berumur ± 10 th, dipilih yang bersih, segar, bebas penyakit, yang diambil pada sore hari dan diambil kulitnya sebelum ke kambium.

3. Pembuatan serbuk kulit batang mundu

Kulit batang mundu yang telah diambil dari pohonnya kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel dan menghilangkan sisa-sisa kayu yang masih menempel pada kulit batang setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 40°C selama 5 hari, setelah kering dibuat serbuk.

4. Pembuatan dan identifikasi kandungan kimia ekstrak etil asetat serbuk kulit batang mundu

Serbuk kulit batang mundu ditimbang sebanyak 350 gram dimasukkan ke dalam botol coklat, kemudian ditambahkan ke dalamnya n-heksan sebanyak 2,625 L, didiamkan selama 5 hari pada suhu 15-20°C dengan pengocokan 3x sehari. Setelah 5 hari, maserat disaring dan dipekatkan dengan evaporator. Pelarut yang masih tertinggal kemudian diuapkan di atas penangas air sampai bebas pelarut kemudian dituang dalam wadah sebagai ekstrak n-heksan. Ampasnya setelah kering dimasukan ke dalam botol coklat ditambahkan ke dalam etil asetat sebanyak 2,625 L, didiamkan selama 5 hari, pada suhu

15-20°C maserat disaring dan dipekatkan dengan evaporator. Pelarut yang masih tertinggal kemudian diuapkan di atas penangas air sampai bebas pelarut kemudian dituang dalam wadah sebagai ekstrak etil asetat.

Uji kandungan kimia golongan xanton ekstrak kulit batang mundu menggunakan fase gerak kloroform: etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan fase diam silika gel 60 GF-254. Pada deteksi sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm memberikan fluoresensiwarna biru. Dengan pereaksi semprot dinitrofenilhidrazin (DNPH) visualisasi dihasilkan warna kuning dan nilai Rf dihitung.

Uji kandungan kimia golongan tanin ekstrak kulit batang mundu menggunakan fase gerak kloroform: etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan fase diam silika gel 60 GF-254. Pada deteksi sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna ungu gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm memberikan fluoresensi warna hijau. Dengan pereaksi semprot FeCl₃ visualisasi dihasilkan bercak warna coklat gelap dan nilai Rf dihitung.

Uji kandungan kimia golongan triterpenoid ekstrak kulit batang mundu menggunakan fase gerak kloroform: etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan fase diam silika gel 60 GF-254. Pada deteksi sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna coklat sedangkan pada sinar UV 366 nm memberikan fluoresensi warna coklat kehijauan. Dengan pereaksi semprot Lieberman-Burchard visualisasi dihasilkan warna coklat dan nilai Rf dihitung.

Uji kandungan kimia golongan saponin ekstrak kulit batang mundu menggunakan fase gerak kloroform: etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan fase diam silika gel 60 GF-254. Pada deteksi sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna kuning sedangkan pada sinar UV 366 nm memberikan fluoresensi warna hijau. Dengan pereaksi semprot anisaldehyd asam sulfat dan pemanasan visualisasi dihasilkan warna kekuningan dan nilai Rf dihitung.

Uji kandungan kimia golongan alkaloid ekstrak kulit batang mundu menggunakan fase gerak kloroform: etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan fase diam silika gel 60 GF-254. Pada deteksi sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna coklat sedangkan pada sinar UV 366 nm

memberikan fluoresensi warna hijau. Dengan pereaksi semprot Dragendrof visualisasi dihasilkan bercak warna jingga dan nilai Rf dihitung.

Uji kandungan kimia golongan flavanoid ekstrak kulit batang mundu menggunakan fase gerak kloroform: etil asetat dengan perbandingan 6:4 dan fase diam silika gel 60 GF-254. Pada deteksi sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm memberikan fluoresensi warna kuning. Dengan pereaksi semprot uap amoniak dan sitroborat visualisasi dihasilkan bercak warna kuning dan nilai Rf dihitung (Gumalaet *al* 2012).

5. Uji aktivitas antiplasmodium *in vivo*

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan pendekatan The Post Test-Only Control Group Design yaitu dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi tindakan. Penelitian ini menggunakan metode The 4-day Suppressive Test yaitu dengan cara memberikan perlakuan mulai dari hari ke-0 sampai hari ke-3.

5.1. Persiapan *Plasmodium berghei*.

Plasmodium berghei didapatkan di dalam indukan mencit yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei* yang diambil dari Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada yang kemudian mencit yang telah terinfeksi tadi diambil darahnya, dicari konsentrasi *Plasmodium berghei* berdasarkan jumlah total eritrosit dengan menggunakan hemositometer, kemudian dibuat apusan dengan pengecatan giemsa untuk menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi, setelah itu dilakukan perhitungan sehingga didapatkan konsentrasi Plasmodium di dalam indukan mencit yang kemudian dibuat konsentrasi sebesar 1×10^7 untuk diinduksikan ke mencit-mencit yang lain.

5.2. Perlakuan hewan uji.

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jenis Swiss jantan dengan berat 20-30 gram dan umur 1,5 – 2,5 bulan sebanyak 36 ekor mencit yang telah diinokulasikan dengan *P.berghei* pada hari pertama penelitian (D₀). Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan (tiap kelompok terdiri atas 6 ekor) yaitu: kelompok kontrol negatif diberi

CMC, kelompok 2 kontrol positif klorokuin 5mg/kg BB/hari dan kelompok perlakuan dengan variasi ekstrak kulit batang mundu yang diberikan sebesar: 25, 50, 75, 125 mg/kg BB/hari selama 4hari (sejak D₀ sampai D₃). Sediaan apus darah tipis dibuat dengan cara darah diambil dari ujung ekor mencit dan dilakukan setiap hari untuk diperiksa parasitemia sampai hari D₃ diperiksa (Peters, 1970).

5.3. Pemeriksaan parasitemia.

Pemeriksaan parasitemia dilakukan setiap hari dari hari pertama setelah infeksi sampai hari keempat. Darah diambil dari ujung ekor mencit kemudian dibuat apusan darah tipis. Sediaan tersebut diletakkan di atas rak datar kemudian difiksasi dengan methanol absolut kemudian digenangi larutan Giemsa 10% selama 45 menit. Sediaan dicuci dengan air mengalir sebentar sehingga larutan Giemsa hilang dan dikeringkan pada suhu kamar. Sediaan darah diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran objektif seratus kali dengan diberi minyak emersi. Persentase eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dihitung pada masing-masing sediaan. Penghitungan ini dilakukan untuk setiap seribu eritrosit. Kemudian menentukan effective dose-50 (ED-50) berdasarkan prosentase penghambatan pertumbuhan parasit pada hari ke-4. Prosentase parasitemia adalah prosentase jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit perjumlah total eritrosit (± 1000 eritrosit) melalui penghitungan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Effective Dose-50 (ED-50) adalah dosis yang menghasilkan efek yang dikehendaki pada 50 persen populasi

D. Analisis data.

Data yang diperoleh kemudian diolah dengan program computer SPSS 17.0 for Windows. Data tersebut kemudian diolah menggunakan Analisis Probit untuk menghitung nilai ED-50 dengan indikator prosentase penghambatan pertumbuhan parasit yang dicari berdasarkan data prosentase parasitemia pada hari ke-4.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil penetapan kadar air

Metode penetapan kadar air serbuk mundu menggunakan alat *Sterling-Bidwell*.

Tabel 1. Hasil penetapan kadar air serbuk kulit batang munda

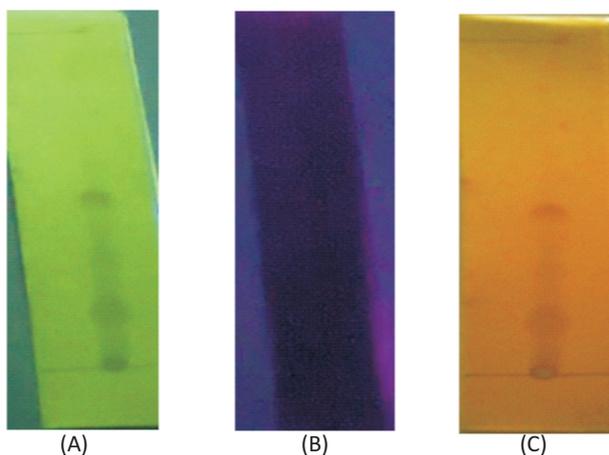
No	Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar (%)
1	30	2,8	9,33
2	30	2,9	9,67
3	30	2,8	9,33
Rata-rata			9,44

Berdasarkan hasil penetapan kadar air dalam serbuk kulit batang munda didapatkan rata-rata kadar air sebesar 9,4%. Kadar air serbuk kulit batang munda memenuhi persyaratan kadar air suatu serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%. Dengan jumlah kadar air tersebut kerusakan bahan dapat ditekan baik dalam pengolahan maupun waktu penyimpanan.

2. Hasil pembuatan ekstrak etil asetat kulit batang munda

Proses ekstraksi serbuk kulit batang munda (*Garcinia dulcis* Kurz.) sebanyak 800 g yang dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat didapatkan ekstrak etil asetat 84,037 g dan rendemen sebesar 10,5 %. Rendemen dihitung berdasarkan fraksi yang diperoleh terhadap berat serbuk yang diekstraksi.

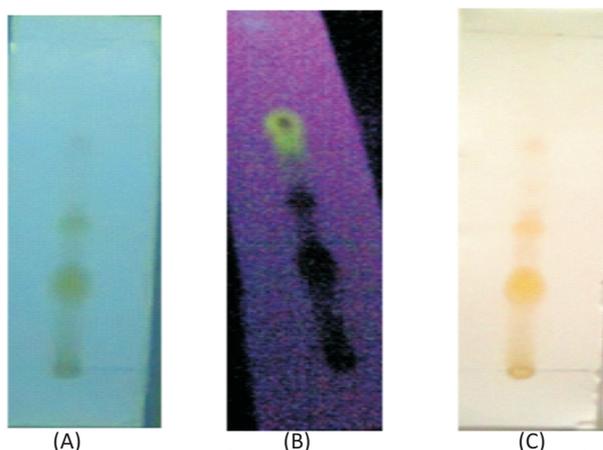
2.1. Pemeriksaan kualitatif menggunakan KLT dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak etil asetat kulit batang munda.



Gambar 1. Hasil identifikasi golongan alkaloid dari ekstrak etil asetat dengan deteksi: a. sinar UV 254, b. sinar UV 366, c. pereaksi semprot Dragendorff

Uji kandungan kimia golongan alkaloid fraksi etil asetat dan sub fraksi IV kulit batang munda dengan kromatografi lapis tipis pada gambar 10 menggunakan

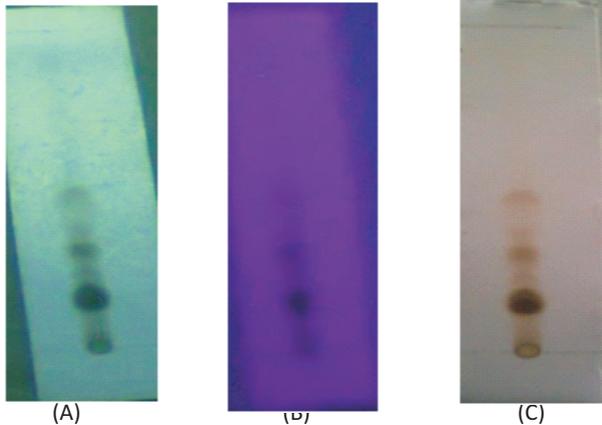
fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) dan fase diam silika gel GF-254. Hasil pengamatan pada sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna coklat dan pada sinar UV 366 nm berfluoresensi warna hijau. Dengan pereaksi semprot Dragendorff ekstrak etil asetat kulit batang menghasilkan satu bercak berwarna hijau dengan nilai Rf = 0,18. Menurut Harborne, (1987) dengan deteksi di bawah sinar UV 254 berwarna coklat gelap dan UV 366 berwarna hijau, pada penelitian ini bercak yang dihasilkan telah sesuai dengan pustaka. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang munda diduga mengandung alkaloid.



Gambar 2. Hasil identifikasi golongan saponin dengan deteksi: a. sinar UV 254, b. sinar UV 366, c. pereaksi semprot anisaldehyd

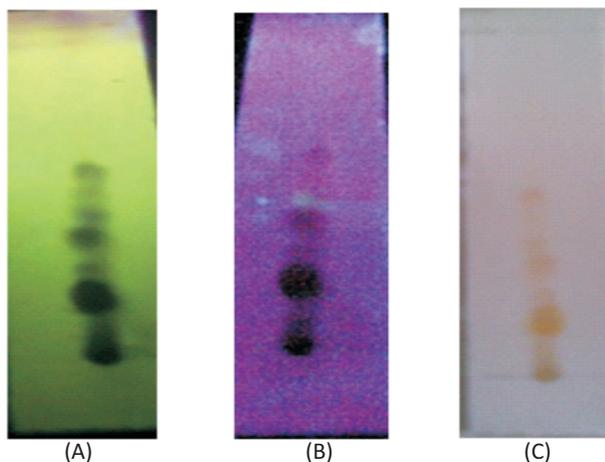
Uji kandungan kimia golongan saponin dengan kromatografi lapis tipis pada gambar 2 menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) dan fase diam silika gel GF-254. Hasil pengamatan pada sinar UV 254 nm terdapat peredaman warna kuning dan pada sinar UV 366 nm terdapat fluoresen dengan warna hijau. Dengan pereaksi semprot anisaldehyd ekstrak etil asetat menghasilkan warna kekuningan. Dengan pereaksi semprot anisaldehyd, menghasilkan satu bercak berwarna kuning yang lebih intensif dengan nilai Rf = 0,29. Menurut Harborne, (1987) dengan deteksi di bawah sinar UV 254 berwarna kuning dan UV 366 berwarna hijau, pada penelitian ini bercak yang dihasilkan berwarna kuning dan hijau. Hal ini menunjukkan bahwa

fraksi etil asetat dan sub fraksi IV diduga mengandung saponin.



Gambar 3. Hasil identifikasi golongan tanin dari ekstrak etil asetat dengan deteksi: a. sinar UV 254, b. sinar UV 366, c. pereaksi semprot $FeCl_3$

Uji kandungan kimia golongan tanin dengan kromatografi lapis tipis pada gambar 3 menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) dan fase diam silika gel GF-254. Hasil pengamatan pada sinar UV 254 nm terjadi peredaman warna ungu gelap, sedangkan pada sinar UV 366 nm berfluorescen dengan warna hijau. Dengan pereaksi semprot $FeCl_3$, menghasilkan satu bercak berwarna coklat gelap dengan nilai $R_f = 0,18$ dan $R_f = 0,13$. Harborne, (1987) menyatakan bahwa senyawa tanin bila dideteksi di bawah sinar UV pendek menunjukkan warna lembayung, pada penelitian ini bercak yang dihasilkan berwarna ungu gelap. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak diduga mengandung tanin.

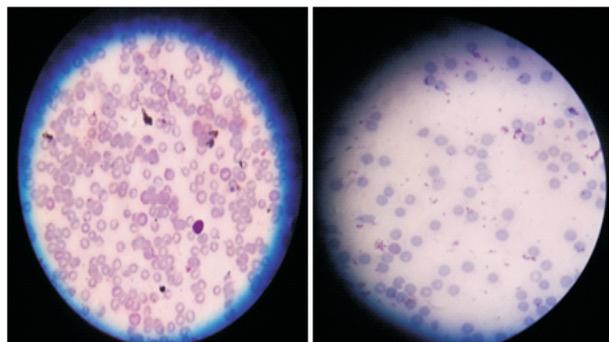


Gambar 4. Hasil identifikasi golongan flavonoid dari ekstrak etil asetat dengan deteksi: a. sinar UV 254, b. sinar UV 366, c. pereaksi semprot uap amoniak dan sitroborat

Uji kandungan kimia golongan flavonoid ekstrak etil asetat kulit batang mundu dengan kromatografi lapis tipis pada gambar 4 menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) dan fase diam silika gel GF-254. Hasil pengamatan pada sinar UV 254 nm terjadi peredaman berwarna gelap, sedangkan pada sinar UV 366 nm terdapat fluorescen dengan warna kuning. Dengan pereaksi semprot uap amoniak dan sitroborat fraksi etil asetat menghasilkan satu bercak berwarna kuning yang lebih intensif dengan nilai $R_f = 0,18$. Menurut Harborne, (1987) dengan deteksi sinar UV 254 terdapat peredaman berwarna gelap dan sinar UV 366 membentuk fluoresensi biru, kuning, ungu gelap. Pada penelitian ini bercak yang dihasilkan terdapat peredaman berwarna gelap dan fluorescen berwarna kuning. Hal ini dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat kulit batang mundu diduga mengandung flavonoid. Uji kandungan kimia golongan xanton ekstrak etil asetat dan sub fraksi IV kulit batang mundu menggunakan fase diam silika gel GF-254, fase gerak kloroform : etil asetat (6:4) dan kloroform : etil asetat (3:7). Pada deteksi sinar UV 254 terdapat peredaman berwarna gelap sedangkan pada sinar UV 366 memberikan fluorescen warna biru. Dengan pereaksi semprot DNPH menghasilkan satu bercak berwarna kuning yang lebih intensif dengan nilai $R_f = 0,15$. Harborne, (1987) menyatakan bahwa senyawa xanton bila dideteksi di bawah sinar UV menunjukkan warna kuning-jingga, pada penelitian ini bercak yang dihasilkan berwarna kuning.

2.2. Uji aktivitas antiplasmodium secara in vivo

Dosis yang diberikan ke hewan uji untuk ekstrak etil asetat kulit batang mundu yaitu 12,5; 25; 50; 100 mg/gr BB mencit Swiss. Dosis tablet klorokuin 5 mg/kg bb didapatkan 0.91 mg/ 20g bb dan sebagai kontrol normal CMC 0.5% didapatkan 500 mg/ 100ml. Uji farmakologi digunakan untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak etil asetat kulit batang mundu yang dihasilkan sebagai antiplasmodium. Persentase (%) parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi oleh *Plasmodium berghei*. Berdasarkan gambar sediaan apus eritrosit dari masing-masing perlakuan, bentuk eritrosit yang terinfeksi menjadi pucat, bertitik-titik dan membesar menandakan bahwa plasmodium telah menginfeksi eritrosit tersebut setelah mencit diinduksi oleh *Plasmodium berghei*.



Kontrol (-) Ekstrak kulit munda 50 mg/kg bb
Gambar 5. Sediaan apus eritrosit

Berdasarkan gambar di atas, mencit yang diberi perlakuan pada dosis kulit munda 50 mg/kg bb terlihat banyak eritrosit yang normal dari pada yang terinfeksi. Pada dosis ini masih banyak ditemukan bentuk eritrosit cakram bikonkaf, berwarna kekuningan dan tidak berinti, mengandung hemoglobin dan oksigen. Pada kontrol negatif banyak ditemukan eritrosit terinfeksi plasmodium bergei.

Pada semua dosis perlakuan ekstrak kulit batang munda mampu memberikan efek sebagai antiplasmodium dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini dikarenakan ekstrak mengandung senyawa xanton yang mampu memperbaiki atau mencegah eritrosit terinfeksi oleh *Plasmodium berghei* yang tidak banyak mengalami perubahan hematologi, sehingga eritrosit yang baru terbentuk tidak terinfeksi oleh Plasmodium dan ada keseimbangan produksi dengan kematian eritrosit. Pada kontrol negatif, banyak bentuk eritrosit yang pucat, membentuk cincin, bertitik-titik atau berinti dan membesar, serta mengalami peningkatan jumlah eritrosit terinfeksi dari hari ke-1, ke-2 hingga ke-4. Hal ini karena CMC tidak mengandung senyawa aktif yang dapat menurunkan tingkat infeksi Plasmodium dalam darah sehingga mengalami banyak perubahan hematologi. Perubahan hematologi menyebabkan anemia karena kandungan Hb jauh lebih rendah dari normal dan tidak ada keseimbangan antara proses produksi dengan kematian eritrosit yang mengakibatkan pemendekan usia sel darah merah dari hari ke hari. Banyaknya eritrosit yang terinfeksi menyebabkan fungsi sel tubuh di dalam darah akan menurun sehingga

suplai makanan, oksigen berkurang dan fungsi tubuh keseluruhan akan menurun.

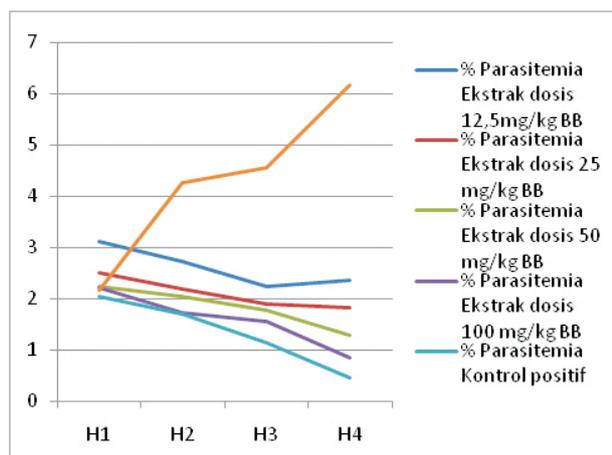
Persentase parasitemia dapat dihitung dengan cara melakukan perhitungan jumlah eritrosit yang terinfeksi dalam 1000 eritrosit pada hari ke-0 yaitu mencit telah terinfeksi plasmodium namun belum mendapatkan perlakuan, hari ke-1 sampai ke-4 setelah mencit diberikan perlakuan ekstrak. Data hasil perhitungan penurunan persentasi dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2. Rata-rata Persentase Parasitemia Masing-masing Kelompok Perlakuan

PERLAKUAN	Rata-rata % parasitemia ± SD			
	H ₁	H ₂	H ₃	H ₄
Ekstrak dosis 12,5mg/kg BB	3,13 ± 0,36	2,73 ± 0,46	2,24 ± 0,21	2,36 ± 0,40
Ekstrak dosis 25 mg/kg BB	2,51 ± 0,18	2,18 ± 0,18	1,89 ± 0,20	1,82 ± 0,11
Ekstrak dosis 50 mg/kg BB	2,25 ± 0,49	2,05 ± 0,25	1,77 ± 0,24	1,28 ± 0,17
Ekstrak dosis 100 mg/kg BB	2,22 ± 0,33	1,74 ± 0,25	1,56 ± 0,13	0,86 ± 0,24
Kontrol positif	2,05 ± 0,24	1,70 ± 0,28	1,15 ± 0,25	0,46 ± 0,11
Kontrol negative	2,16 ± 0,64	4,27 ± 0,61	4,56 ± 0,50	6,17 ± 1,24

Hasil perhitungan persen parasitemia pada hari ke-1, sampai hari ke-4 menunjukkan bahwa ada kenaikan persen dari penurunan jumlah parasit di dalam eritrosit dari kontrol positif dan perlakuan jika dibandingkan dengan hari ke-0. Pemberian ekstrak dosis 12,5 mg/kg BB mempunyai penurunan yang sedikit terhadap parasitemia dari hari ke hari. Tingkat persen parasitemia pada hari ke pertama sampai ke empat berturut turut adalah 3,13 %; 2,73 %; 2,24 %; 2,36%. Penurunan parasitemia pada dosis ini kurang memperbaiki perubahan hematologi pada mencit yang mengalami perubahan cukup banyak yaitu ditandai dengan masih banyak eritrosit yang terinfeksi dan tidak ada keseimbangan antara proses produksi dengan kematian eritrosit, tetapi pada dosis ini masih memiliki efek sebagai antiplasmodium ditandai dengan adanya penurunan jumlah parasit dari hari ke hari. Pemberian ekstrak dosis 100 mg/kg BB mempunyai tingkat persen parasitemia hari ke pertama sampai ke empat berturut turut adalah 2,22 %; 1,74%; 1,56 % dan 0,86%. Dari ketiga dosis ekstrak munda maka dosis yang memiliki aktivitas menurunkan parasitemia paling rendah adalah dosis 12,5 mg/kg BB, sedangkan dosis

yang memiliki aktivitas penurunan paling besar adalah dosis 100 mg/kg BB. Dosis ekstrak 50 mg/kg BB lebih rendah aktivitasnya jika dibandingkan dengan dosis 100 mg/kg BB. Pemeriksaan persentase parasitemia darah mencit yang diinduksikan *Plasmodium berghei* dilakukan dengan membuat preparat darah tipis (apusan). Pada tabel diatas terlihat bahwa efek penghambatan perkembangan *Plasmodium berghei* pada mencit tergantung pada besarnya dosis 12,5 mg/kg bb dan dosis 50 mg/kg bb tidak terlihat kenaikan efek lagi bahkan cenderung menurun. Hal ini kemungkinan karena pada ekstrak dosis ini terdapat kurang banyak senyawa lain yang tidak memiliki aktivitas untuk menurunkan tingkat plasmodium yang dapat mempengaruhi atau menghambat efek sebagai antiplasmodium pada dosis tersebut.



Gambar 6. Kurva Penghambatan Parasitemia

Berdasarkan kurva diatas terlihat bahwa penghambatan parasitemia pada H1-H4 untuk masing masing kelompok ekstrak dengan dosis yang berbeda mempunyai penurunan eritrosit yang terinfeksi berbeda pula. Pada dosis ekstrak munda 100 mg/kg BB merupakan penurunan paling kecil dari perlakuan dosis yang lain, kemudian pada dosis 100 mg/kg BB mengalami penurunan tingkat parasitemia yang hampir sama dengan kontrol positif, terjadi pada perlakuan pemberian ekstrak pada hari ke-2. Dapat diketahui pula bahwa tingkat penurunan pada dosis 100 mg/kg BB mendekati penurunan yang terjadi pada kontrol positif, dari ketiga dosis tersebut dosis 100 mg/kg BB

memiliki efek sebagai antiplasmodium yang paling efektif.

Sesuai dengan metode Peters bahwa pengujian antiplasmodium dilakukan dengan mengamati persentase parasitemia pada hari keempat. Data persentase parasitemia pada hari keempat pengujian antiplasmodium disajikan dalam tabel 2. Data persentase parasitemia hari ke empat tersebut dianalisis menggunakan program SPSS 17.0 dengan uji ANOVA satu jalan untuk mengetahui perbedaan semua kelompok perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95%. Dari analisis diperoleh harga sig.0,007 < 0,05 menunjukkan ada beda nyata antar kelompok perlakuan. Dari data-data di atas dilakukan analisis probit, sehingga dari hasil analisis probit tersebut diperoleh informasi mengenai dosis efektif 50 (Effective Dose 50 = ED50) dari ekstrak etil asetat kulit batang munda (*Garcinia dulcis* Kurz) terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit. Harga ED50 ini menunjukkan besarnya dosis bahan uji yang dapat menghambat 50% pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Semakin kecil harga ED50 maka semakin besar efektivitas penghambatan ekstrak terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Hasil analisis probit dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hubungan probit % penghambatan dengan log dosis

Perlakuan	Dosis (mg/kg BB)	Log dosis (x)	% penghambatan parasitemia	Probit (y)
Ekstrak dosis 12,5mg/kgBB	12,5	1,097	61,65	5,33
Ekstrak dosis 25mg/kgBB	25	1,398	70,45	5,58
Ekstrak dosis 50mg/kgBB	50	1,699	79,25	5,81
Ekstrak dosis 100mg/kgBB	100	2	86,06	6,08

Dari hasil analisis data didapatkan harga ED50 dari ekstrak etil asetat kulit batang munda (*Garcinia dulcis* Kurz) adalah 5,01mg/kg BB. Hal ini menunjukkan ekstrak etil asetat kulit batang munda efektif dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Menurut Andrade-Neto *et al.*(2003) suatu ekstrak dikatakan aktif dalam menurunkan parasitemia apabila ekstrak tersebut dapat menurunkan parasitemia lebih dari 30%.

Ekstrak diduga mengandung senyawa xanton, tanin, dan flavonoid diketahui senyawa aktif sebagai antiplasmodium diperkirakan adalah senyawa xanton (Likhtiwitayawuid *et al* 1998; Lannang *et al* 2005; Syamsudin *et al* 2006). Mekanisme kerja antiplasmodium dari senyawa xanton belum jelas, tetapi diduga senyawa ini bekerja dengan cara membentuk kompleks terlarut dengan heme sehingga menghambat pembentukan hemozoinparasit (Riscoe *et al* 2005). Pembentukan hemozoin merupakan proses dimana parasit melindungi diri dari efek toksik heme yang dilepaskan setelah digesti hemoglobin, model aksi dari senyawa xanton tersebut kemungkinan berinteraksi dengan monomer heme, terjadi interaksi antara Fe⁺³-heme dan oksigen karbonil, interaksi antara kedua sistem aromatis, dan antara gugus samping karboksilat dari heme dengan xanton pada posisi 4 dan 5 (Ignatushchenko *et al* 1997).

KESIMPULAN

· Aktivitas antiplasmodium ekstrak etil asetat kulit batang mundu diperoleh dosis ED₅₀ adalah 5,01 mg/kg BB. Berdasarkan data tersebut, ekstrak etil asetat kulit batang mundu memiliki aktivitas sebagai antimalaria.

Ucapan terimakasih kepada:

1. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional, yang telah membiayai penelitian ini sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan Dosen Pemula No: 015/SP2H/KL/KOPERTIS6/VIII/2013

2. Amelia Rahman, Hananesia yang telah membantu penelitian ini hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Basilico, N., Pagani, E., Monti, D., Olliaro, P., Taramelli, D., 1998. A Microtitre-based Method for Measuring the Haem Polymerization Inhibitory Activity (HPIA) of Antimalarial Drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42: 55-60.
- Ignatushchenko MV, Winter RW, Bachinger HP, Hinrichs DJ, Riscoe MK. 1997. Xanthenes as antimalarial agents: studies of a possible mode of action. *FEBS Letter* 409: 67-73.
- Lannang AM *et al*. 2005. Bangangxanthone A and B two xanthenes from the stem bark of *Garcinia poliantha* Oliv. *Phytochemistry* 66: 2351-2355.
- Levine ND. 1990. *Parasitologi Veteriner*. Yogyakarta: Gajah Mada University Pr.
- Likhtiwitayawuid K, Chanmahasathien W, Ruangrunsi N, Krungkrai J. 1998. Xanthenes with antimalarial activity from *Garcinia dulcis*. *Planta Med* 64 (3): 281-282.
- Pribadi, W. 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 125-152
- Peters, W., 1987. *Chemotherapy and drugs resistance in malaria*, vol 1, p. 145-273. Academic Press, Inc., New York
- Sukat, Ersam T. 2006. Dua senyawa xanton dari kayu batang mundu *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz. sebagai antioksidan. Di dalam: *Seminar Nasional Kimia VIII Surabaya Kelompok "Penelitian Aktivitas Kimiawi Tumbuhan ITS" (PAKTI) PPs. Kimia, FMIPA, ITS*; Surabaya 8 Agustus 2006. Surabaya: SENAKI. hlm 1-4.
- Widodo GP, Rahayu MP. 2010. Aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat kulit batang mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.). *Majalah Farmasi Indonesia* 21(4): 241.