

Efek Antiplasmodium Ekstrak *n*-Heksan Kulit Batang Mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) pada Mencit Jantan Swiss Webster yang Diinduksi *Plasmodium berghei*

The Antiplasmodial Effect of *n*-Hexane Extract of Mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) Stem Bark on Swiss Webster Mice Induced *Plasmodium berghei*

ROSA JUWITA HESTURINI, GUNAWAN PAMUDJI WIDODO*, MAMIK PONCO RAHAYU

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Jln. Letjen Sutoyo-Mojosongo Surakarta-57127 Telp. 0271-852518

*Email: gunawanpamudji@yahoo.com

(Diterima 10 Februari 2011, disetujui 1 Maret 2011)

Abstrak

Mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) merupakan salah satu tanaman yang potensial dengan adanya kandungan senyawa xanton dan triterpenoid sebagai antiplasmodium. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antiplasmodium pada mencit putih yang terinduksi *Plasmodium berghei* dengan ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) melalui penurunan tingkat parasitemia serta mengetahui dosis yang paling efektif sebagai antiplasmodium. Hewan uji mencit sebelum diberi ekstrak diinduksi dengan *Plasmodium berghei* hingga jumlah parasit Plasmodium dalam darah sebesar 10^7 dan diberikan pirantel pamoat sebagai antelmintika. Kemudian ekstrak kental diujikan pada masing-masing kelompok hewan uji dengan dosis 50 mg/kgBB mencit, 100 mg/kgBB mencit dan 150 mg/kgBB mencit, kelompok kontrol negatif diberi CMC 0,5 % dan kontrol positif diberi dengan klorokuin yang disuspensikan dalam larutan CMC 0,5 %. Efek antiplasmodium diamati dengan menghitung penurunan tingkat parasitemia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu dosis 50 mg/kgBB mencit, dosis 100 mg/kgBB mencit dan dosis 150 mg/kgBB mencit memberikan aktivitas sebagai antiplasmodium. Dosis 100 mg/kgBB mencit memberikan aktivitas sebagai antiplasmodium yang lebih efektif.

Kata kunci: Kulit batang mundu, *Plasmodium berghei*, antiplasmodium, parasitemia.

Abstract

Mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) is one of the potential with the chemical compound xanton and triterpenoid for antiplasmodial. The purpose of this study was to determine the activity of *n*-hexane extract of stem bark Mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) as the antiplasmodial in mice induced by *Plasmodium berghei* through a reduction in parasitemia and to find out the most effective doses that have antiplasmodial activities. The animal test mice before treatment with extract induced by *Plasmodium berghei* to the number of erythrocytic in the blood of 10^7 and antelmintika were given pirantel pamoat. The concentrate extract was tested in each group of animals test with a dose of 50 mg/kgBW mice, 100 mg / kgBW mice and 150 mg/kgBW mice, negative control group were given 0,5 % CMC and the positive control were given chloroquine be suspension in CMC solution. Antiplasmodial effect was observed by calculating the decrease of the amount of paracitemia. The results showed that the *n*-hexane extract of Mundu's stem bark dose 50 mg / kgBW, 100 mg/kgBW and 150 mg/kgBW provide as antiplasmodial activity. Dose of 50 mg/kgBW provide antiplasmodial activity more effective.

Keywords: Mundu's stem bark, *Plasmodium berghei*, antiplasmodial, parasitemia.

Pendahuluan

Infeksi malaria masih merupakan problem klinik bagi negara tropik dan sub-tropik. Tahun 1880 Charles Louis Alphonse Laveran membuktikan bahwa malaria disebabkan karena adanya parasit yang berada pada sel darah merah, kemudian Ronald Ross membuktikan siklus hidup Plasmodium dan transmisi penularannya pada nyamuk.

Klorokuin yang memiliki efek kurativum lebih cepat dan kuat menjadi obat pilihan utama (Tjay & Raharja 2007), namun resistensi terhadap klorokuin sudah dapat dipastikan (Mansjoer *et al.* 2001). Usaha-usaha untuk menemukan antimalaria baru terus dilakukan, salah satunya adalah eksplorasi senyawa aktif dari bahan alam. Salah satu famili dari Clusiaceae adalah tanaman mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.) yang dapat digunakan sebagai

obat tradisional. Beberapa mempunyai aktivitas biologis dan farmakologis yang beragam dan sangat menarik seperti: sitotoksik, antifungal, antimikrobal, antioksidan, antimalaria, antiinflamasi, dan aktivitas anti-HIV (Merza *et al.* 2004; Lannang *et al.* 2005). Senyawa-senyawa triterpenoid juga ditemukan pada spesies *Garcinia* (Elya *et al.* 2009). Senyawa dari golongan triterpenoid kemungkinan memiliki aktivitas sebagai senyawa aktif antimalaria dan antifertilitas (Herlina *et al.* 2006).

Dari jurnal penelitian terhadap *Garcinia parvifolia* Miq. yang dilakukan oleh Syamsudin (2007) dengan menggunakan ekstrak *n*-heksan menunjukkan adanya aktivitas sebagai antiplasmodium dengan kemungkinan senyawa aktif yang berperan adalah senyawa golongan triterpenoid dan steroid maka

dilakukan pengujian aktivitas antimalaria terhadap tanaman munda (*Garcinia dulcis* Kurz.) terhadap mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*.

Metode Penelitian

Bahan

Kulit batang munda diambil dari Boyolali, Jawa tengah, pada bulan November 2010. Bahan kimia yang digunakan adalah *n*-heksan, klorokuin, pirantel pamoat, Na₂-EDTA, larutan NaCl 0,9 %, CMC, tween 80, pereaksi Lieberman Burchard, kloroform, KHSO₄, silika gel 60 F₂₅₄, asam asetat, pereaksi sitroborat, aseton, amonia, asam sulfat dari Lab. Fitokimia dan Lab. Hematologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Bahan infeksi yang digunakan adalah *Plasmodium berghei* diperoleh dari Lab. Biomedik Universitas Sebelas Maret. Hewan uji yang digunakan adalah 20 mencit jantan Swiss Webster.

Alat

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas, botol maserasi, evaporator, mikroskop, hemositometer, timbangan, pipa kapiler, bejana KLT, lampu UV.

Pembuatan Ekstrak *n*-Heksan

Serbuk kulit batang munda sebanyak 350 g dimaserasi dengan *n*-heksan sebanyak 2,625 L. Maserat disaring dan dipekatkan dengan evaporator hingga menghasilkan ekstrak dengan bobot tetap 13,587 g. Selanjutnya ekstrak dibuat sediaan uji dalam bentuk

suspensi dengan tween 80 dan CMC 0,5 %

Identifikasi Kandungan Kimia

Reaksi warna golongan senyawa steroid, triterpenoid, dan asam lemak

Reaksi warna golongan senyawa steroid dan triterpenoid dilakukan dengan melarutkan sampel ke dalam kloroform dan ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard. Uji positif jika timbul warna merah, merah jambu atau ungu (Widiyati 2006). Reaksi warna golongan senyawa asam lemak dilakukan dengan menambahkan kalium hidrogen sulfat (KHSO₄) ke sampel, lakukan pemanasan. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya bau seperti lemak terbakar dan ditandai dengan asap putih (Joni 2007).

Identifikasi golongan senyawa xanton, steroid dan triterpenoid secara KLT

Identifikasi kandungan kimia xanton secara KLT menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak kloroform: asam asetat (4:2). Pereaksi uap amoniak menghasilkan peredaman pada UV 254 dan warna kuning-jingga pada UV 366, setelah disemprot sitroborat menghasilkan warna kuning-jingga (Harborne 1987). Pemeriksaan golongan senyawa steroid dan triterpenoid secara KLT menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak *n*-heksan: aseton (7:3). Pereaksi uap amoniak, asam sulfat 10% dalam metanol dan Lieberman-Burchard menghasilkan warna ungu-coklat. Pemeriksaan pada UV 254 terjadi peredaman dan UV 366 terjadi fluoresensi (Syamsudin *et al.* 2007).

Uji Aktivitas Antiplasmodium

Persiapan *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei didapatkan di dalam mencit donor yang telah terinfeksi *P. berghei* dari Lab. Biomedik Universitas Sebelas Maret. Mencit yang terinfeksi diambil darahnya dengan konsentrasi *P. berghei* berdasarkan jumlah total eritrosit dengan menggunakan hemositometer, dibuat sediaan apus dengan pengecatan giemsa untuk menghitung jumlah eritrosit terinfeksi. Mencit diinfeksi dengan *P. berghei* dengan cara menginjeksikan darah mencit sebanyak 0,23 ml (setara dengan 1×10^7 *P. berghei*) secara intraperitoneal yang sebelumnya diberikan antelmintika (Praptiwi & Chairul 2008; Wijayanti *et al* 2003). Waktu inkubasi yang dilakukan adalah selama \pm 24 jam. Pengamatan adanya kerusakan pada eritrosit yaitu ditandai dengan ukuran eritrosit yang lebih besar, pucat, dan bertitik-titik. Jumlah eritrosit terinfeksi adalah sebanyak 15-20% yaitu sama dengan mencit donor (Syamsudin *et al.* 2006). Pemeriksaan juga dilakukan secara fisik meliputi perubahan warna pada telinga, kaki, mata dan ekor mencit yang pucat, bulu rambut mencit berdiri dan penimbangan berat badan mencit yang menurun. Bila sudah terjadi infeksi dilakukan pemberian sediaan uji dengan dosis 50 mg/kgBB mencit, dosis 100 mg/kgBB mencit, dosis 150 mg/kgBB mencit, kontrol negatif (CMC) dan kontrol positif klorokuin 5 mg/kgBB/hari, diberikan hingga hari kelima. Sediaan apus darah tipis dibuat pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 dengan cara darah diambil dari vena mata mencit untuk diperiksa jumlah parasitemia (Syamsudin *et al.* 2006).

Perhitungan parasitemia dilakukan pembuatan sediaan apusan darah dengan pengecatan giemsa, kemudian dihitung eritrosit terinfeksi dan normal dalam perwakilan \pm 1000 eritrosit.

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\text{Eritrosit terinfeksi}}{1000} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

$$\% \text{ Penurunan parasitemia} = \% \text{ parasitemia } t_0 - \% \text{ parasitemia } (t_1, t_3, t_5) \dots \dots \dots (2)$$

t = waktu (hari)

t_0 = hari mencit telah terinfeksi Plasmodium namun belum mendapatkan perlakuan ekstrak

Analisa Data

Analisa data dilakukan untuk mengetahui perbedaan pada semua kelompok perlakuan. Analisis statistik yang digunakan adalah uji satu sampel Kolmogorov-Smirnov, bila data terdistribusi normal analisis data dilakukan dengan ANOVA satu jalan diikuti uji Tukey (Santoso 2009).

Hasil dan Pembahasan

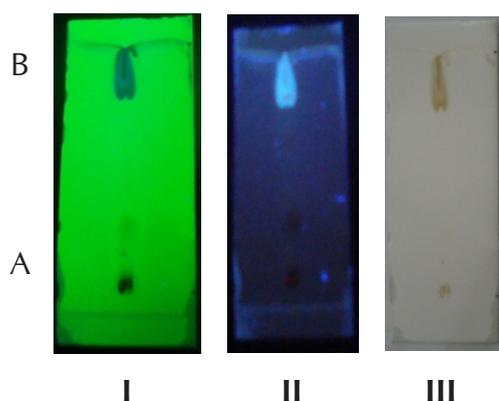
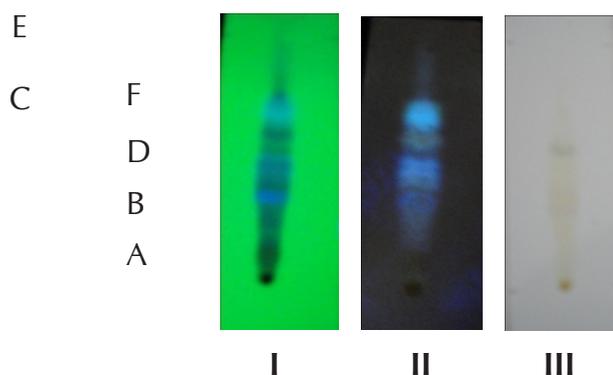
Hasil penetapan kadar air dalam simplisia menunjukkan rata-rata kadar air sebesar 8,38%. Ekstrak kental yang didapatkan adalah sebanyak 13,587 g dengan rendemen sebesar 3,88%.

Hasil Identifikasi Kandungan Kimia

Hasil reaksi warna golongan senyawa steroid, triterpenoid, dan asam lemak

Tabel 1. Hasil reaksi warna ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu

Pemeriksaan terhadap	Prosedur	Hasil	Pustaka (Joni 2007; Widiyati 2006)	Keterangan
Steroid & triterpenoid	2 g sampel dilarutkan 5 ml kloroform, ditambah pereaksi Lieberman-Burchard.	Terbentuk warna merah dan ungu tua.	Terbentuk warna merah, merah jambu atau ungu.	Steroid & triterpenoid (+)
Asam lemak	2 g sampel + kalium hidrogen sulfat (KHSO ₄) dipanaskan.	Terbentuk asap putih dan bau lemak terbakar.	Terbentuk asap putih dan bau lemak terbakar.	Asam lemak (+)

**Gambar 1.** Kromatogram KLT identifikasi golongan senyawa xanton ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu dengan fase diam silika gel 60F₂₅₄ dan fase gerak kloroform: asam asetat (4:2) yang dideteksi pada UV 254 nm (I); UV 366 nm (II); sitroborat (III).**Gambar 2.** Kromatogram KLT identifikasi golongan senyawa xanton ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu dengan fase diam silika gel 60F₂₅₄ dan fase gerak *n*-heksan: aseton (7:3) yang dideteksi pada UV 254 nm (I); UV 366 nm (II); Lieberman-Burchard (III).

Berdasarkan hasil identifikasi xanton menunjukkan adanya 2 bercak. Bercak A dan bercak B menunjukkan warna biru tua pada UV 254 dan UV 366. Setelah diuapkan dengan amoniak dan disemprot sitro borat, bercak A menunjukkan warna kuning pudar sedangkan bercak B menunjukkan warna kuning coklat, hal ini sesuai dengan pustaka Harborne (1987)

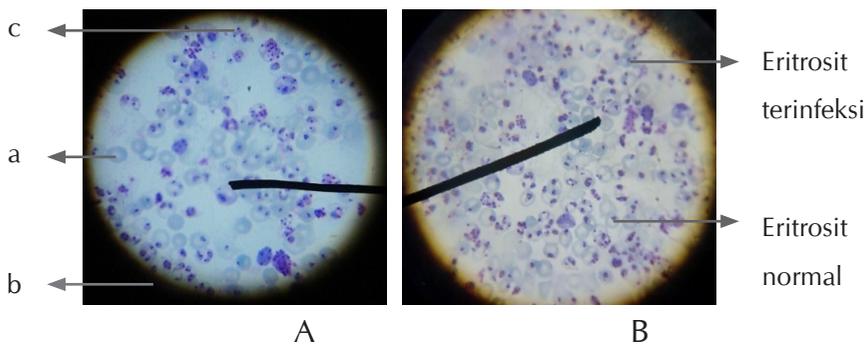
sehingga disimpulkan bahwa kemungkinan mengandung golongan senyawa xanton. Berdasarkan hasil identifikasi steroid dan triterpenoid menunjukkan adanya 6 bercak. Bercak A, bercak B dan bercak E menunjukkan warna biru tua pada UV 254 dan UV 366. Setelah disemprot dengan amoniak, asam sulfat 10% dalam metanol dan Lieberman-Burchard

menunjukkan warna jingga hingga coklat, hal ini sesuai dengan pustaka Syamsudin (2007) sehingga disimpulkan bahwa kemungkinan mengandung golongan senyawa steroid dan triterpenoid.

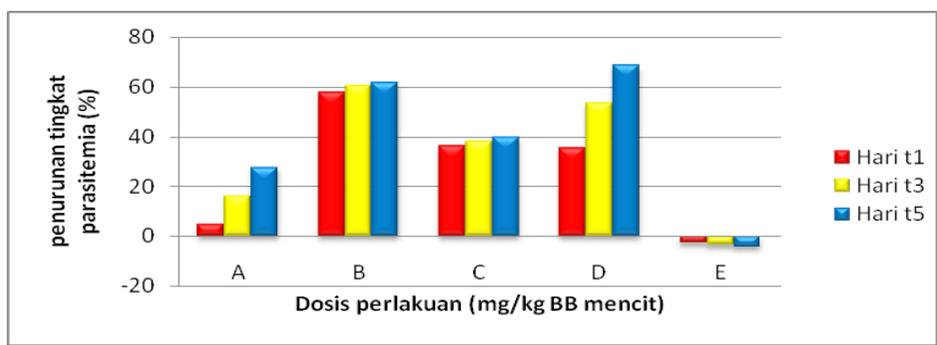
Hasil Pemeriksaan Tingkat Infeksi Plasmodium berghei

Pengamatan parasit Plasmodium di dalam darah dalam bentuk cincin (ditunjukkan anak

panah a) atau disebut trofozoit muda, schizon muda yang berinti sedikit (ditunjukkan anak panah b), dan schizon tua yang berinti 8-24 (ditunjukkan anak panah c) (Garcia & Bruckner 1996). Bentuk kerusakan pada eritrosit, berdasarkan apusan darah dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Sediaan apusan eritrosit darah mencit indukan (A) mencit terinduksi (B).

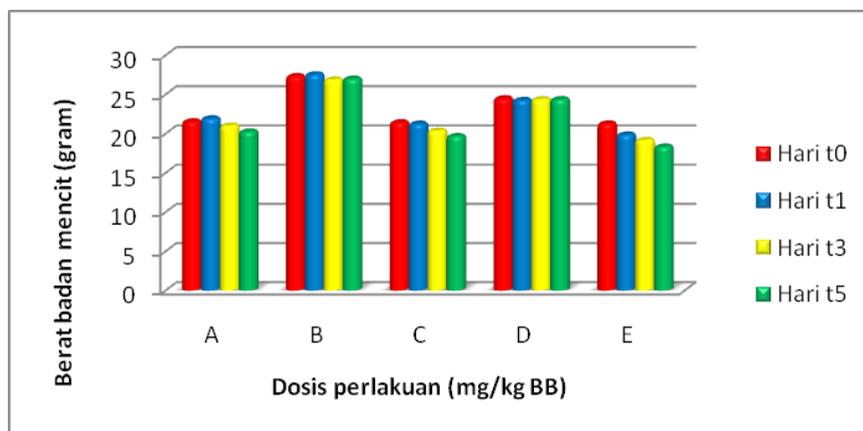


Keterangan:

- A. Dosis ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu 50 mg/kgBB mencit
- B. Dosis ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu 100 mg/kgBB mencit
- C. Dosis ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu 150 mg/kgBB mencit
- D. Kontrol positif (klorokuin)
- E. Kontrol negatif (CMC)

Gambar 4. Histogram penurunan % parasitemia dalam darah.

Pada dosis 50 mg/kgBB mengalami penurunan sebesar 29,5. Pada dosis 100 mg/kgBB mengalami penurunan tingkat parasitemia sebesar 61,92 %, sedangkan dosis 150 mg/kgBB mengalami penurunan parasitemia sebesar 39,83%. Dari ketiga dosis ekstrak munda maka dosis yang memiliki aktivitas menurunkan parasitemia paling rendah adalah dosis 50 mg/kgBB, sedangkan dosis yang memiliki aktivitas penurunan paling besar adalah dosis 100 mg/kgBB, hal ini dibuktikan dengan pengamatan jumlah eritrosit terinfeksi pada dosis 50 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB lebih banyak hingga hari ke-5. Dosis ekstrak 150 mg/kgBB lebih baik aktivitasnya jika dibandingkan dosis 50 mg/kgBB, hal ini dimungkinkan karena pada ekstrak 50 mg/kgBB tidak banyak senyawa yang dapat memberikan aktivitas sebagai antiplasmodium atau dapat dikatakan bahwa dosis sediaan kurang. Sedangkan pada dosis 150 mg/kgBB terdapat banyak senyawa lain yang terbawa dalam ekstrak yang tidak memiliki aktivitas untuk menurunkan tingkat Plasmodium, atau kemungkinan adanya senyawa lain yang terbawa di dalam ekstrak sehingga aktivitas sebagai antiplasmodium menurun.



Keterangan: A. Dosis 50 mg/kgBB
 B. Dosis 100 mg/kgBB
 C. Dosis 150 mg/kgBB
 D. Kontrol positif (klorokuin)
 E. Kontrol negatif (CMC)

Gambar 5. Histogram perubahan berat badan mencit pasca infeksi.

Berat badan merupakan salah satu indikator yang memperlihatkan bagaimana keadaan penyakit malaria. Pada keadaan terinfeksi Plasmodium, berat badan mencit mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya jumlah sel darah merah yang terinfeksi dengan Plasmodium (Syamsudin *et al.* 2006).

Tanaman dari genus *Garcinia* diketahui banyak mengandung senyawa xanton dan mengandung senyawa triterpenoid. Kandungan senyawa xanton diketahui memiliki aktivitas antara lain sebagai antimikroba, antiinflamasi, sitotoksik dan antiplasmodium (Lannang *et al.* 2008; Syamsudin *et al.* 2006). Mekanisme kerja xanton belum jelas, tetapi diduga senyawa dari golongan ini bekerja dengan

cara membentuk kompleks terlarut dengan heme sehingga menghambat pembentukan hemozoin parasit. Pembentukan hemozoin merupakan proses dimana parasit melindungi diri dari efek toksik heme yang dilepaskan setelah digesti hemoglobin (Ignatushchenko *et al.* 1997). Hasil identifikasi tabung golongan senyawa dari ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung golongan senyawa triterpenoid. Salah satu penelitian yang telah dilakukan, adanya senyawa Quassinoid memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium. Quassinoid (terpenoid teroksigenasi) yang menghambat sintesis protein pada sel mamalia dan juga parasit malaria (Widodo & Rahayu 2010), kemungkinan dengan adanya golongan senyawa yang serupa akan memiliki aktivitas yang sama pula sehingga parasit malaria tidak dapat berkembang biak di dalam darah.

Kesimpulan

Ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu mempunyai aktivitas antiplasmodium melalui penurunan parasitemia. Dosis ekstrak *n*-heksan kulit batang mundu yang lebih efektif menurunkan parasitemia adalah dosis 100 mg/kgBB mencit.

Daftar Pustaka

- Elya B, Kosela S. 2009. Senyawa triterpenoid dari ekstrak *n*-Heksana kulit batang tanaman *Garcinia benthami*. *Makara, Sains*. 13(1): 9-12.
- Garcia LS. dan Bruckner DA. 1996. *Diagnostik Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 81-100.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan kedua. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Niksolihin S, Penyunting. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*.
- Herlina T, Julaeha E, Muis A, Supratman U, Subarnas A, Hayashi, H. 2006. Senyawa antimalaria dari Daun *Erythrina variegata* (Leguminosae). *Jurnal Kimia Indonesia*. 1(2):67-70.
- Ignatushchenko MV, Winter RW, Bachinger HP, Hinrichs DJ, and Riscoe MK. 1997. Xanthenes as antimalarial agents, studies of a possible mode of action. *FEBS Letter*. 409:67-73.
- Joni IM. 2007. *Analisis Senyawa Lipid*. Bandung: Jurusan Fisika, Universitas Padjadjaran.
- Lannang AM, Komguem J, Ngninzeko FN, Tangmouo JG, Lontsi D, Ajaz A, Choudhary MI, Ranjit R, Devkota KP, and Sodengam BL. 2005. Bangangxanthone A and B two xanthenes from the stem bark of *Garcinia poliantha* Oliv. *Phytochemistry*. 66: 2351-2355.
- Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W. 2001. *Kapita Selekta Kedokteran*. Edisi III. Jakarta: Penerbit Media Aesculapius Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 409-416.

- Merza J, Aumond MC, Rondeau D, Dumontet V, Ray, AML, and Seraphin D, dkk. 2004. Prenylated xanthenes and tocotrienols from *Garcinia virgata*. *Phytochemistry*. 65: 2915-2920.
- Praptiwi dan Chairul. 2008. Pengaruh pemberian ekstrak pauh kijang (*Irvinia malayana* Oliv ex. A. Benn) terhadap tingkat penurunan parasitemia pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* Bogor. *Biodiversitas*. 9(2): 96-98.
- Syamsudin M, Susan MD, Rita. 2006. Efek antiplasmodium dari ekstrak kulit batang asam kandis (*Garcinia parvifolia* Miq) yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium yoelii*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 11(2): 81-87.
- Syamsudin, Tjokrosonto S, Wahyuono S, and Mustofa. 2007. Aktivitas antiplasmodium dari dua fraksi ekstrak n-heksana kulit batang asam kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(4): 210– 215.
- Tjay HT, Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Kelompok Kompas – Gramedia.
- Widodo GP, Rahayu MP. 2010. Aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat kulit batang mundu (*Garcinia dulcis* Kurz.). *Majalah Farmasi Indonesia*. 21(4): 238 – 242.
- Widiyati E. 2006. Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktivitas biologis pada beberapa spesies tanaman obat tradisional masyarakat pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*. 2(1): 166-122.
- Wijayanti MA, Herdiana EM, Mardihusodo SY. 2003. Efek bee propolis terhadap infeksi *Plasmodium berghei* pada mencit Swiss. *Berkala Ilmu Kedokteran* 35(2): 81-89.