

Efek Antiplasmodium dari Ekstrak Etilasetat Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia*) secara *In Vitro*

SYAMSUDIN*, BUDI PRASETYO, ANTONIUS

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta
Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta-Selatan 12640

Diterima 3 Mei 2007, Disetujui 14 Juli 2007

Abstract: This research was carried out to assess the antiplasmodic activity of six fractions from the ethylacetate extract of the stem barks of *Garcinia parvifolia*. The result showed that fractions C, D, and G were $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$, fraction E: $IC_{50} 24,19 \mu\text{g/ml}$, and fraction F and H: $> 100 \mu\text{g/ml}$ against a chloroquine resistant strain of *P. falciparum* FCR-3.

Keywords: *G. parvifolia* Miq., stem barks, *P. falciparum*, IC_{50} , fraction, ethylacetate extracts.

PENDAHULUAN

Malaria masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia pada saat ini. Penduduk Indonesia yang tinggal di daerah resiko berjumlah 42,84 juta, 11,60 juta orang diantaranya tinggal di Jawa dan Bali⁽¹⁾.

Masalah resistensi terhadap *Plasmodium* utamanya *P. falciparum* telah menjadi masalah yang serius dan mengkhawatirkan dewasa ini, karena mengakibatkan terjadinya kegagalan dalam pengobatan hingga timbulnya kematian. Hal ini telah mendorong peneliti untuk berusaha menemukan antimalaria baru yang menggantikan antimalaria yang sudah tidak sensitif lagi⁽²⁾. Salah satu usaha untuk menemukan antimalaria baru tersebut adalah melalui eksplorasi senyawa aktif dari bahan alam terutama tanaman obat yang secara tradisional digunakan masyarakat untuk mengobati malaria di berbagai daerah endemik di dunia⁽³⁾.

G. parvifolia Miq. adalah salah satu tanaman yang termasuk dalam genus *Garcinia*. Tanaman yang termasuk ke dalam genus ini diketahui banyak mengandung senyawa xanton⁽⁴⁾. Xanton memiliki aktivitas farmakologi yang luas antara lain antikanker, antioksidan, antimikroba, dan antimalaria⁽⁵⁾. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak kulit batang *G. parvifolia* memiliki aktivitas antiplasmodium yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak bagian tanaman lainnya⁽⁶⁾. Fraksinasi dari ekstrak kulit batang dengan pelarut yang

berbeda polaritasnya menunjukkan ekstrak etilasetat memiliki aktivitas antiplasmodium yang cukup baik dengan nilai $IC_{50} 40,11 \mu\text{g/ml}$ ⁽⁷⁾ sehingga perlu untuk dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak etilasetat dan dilanjutkan dengan uji antiplasmodium secara *in vitro*, sehingga dapat diketahui fraksi yang memiliki efek antiplasmodium paling kuat.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Kulit batang *G. parvifolia* Miq. dikumpulkan dari daerah Nang Kalis Kabupaten Kapuas Hulu, Kalimantan Barat pada bulan Maret 2004 dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense Botani, Puslitbang LIPI Bogor, alat-alat untuk uji aktivitas antiplasmodium *in vitro*, bahan-bahan untuk penapisan fitokimia, vakum evaporator, gelas piala, kromatografi kolom, alat-alat gelas lazim, mikropipet Socorex®, alat KLT, lampu UV, alat Sokhlet, LAF, 96 sumuran.

METODE. Pembuatan ekstrak dan fraksinasi. Serbuk kering kulit batang 500 g dimasukkan ke dalam alat sokhlet dan diekstraksi dengan 1,6 l *n*-heksan sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, ampas kemudian dikeringkan dan ampas yang telah kering diekstraksi kembali dengan etilasetat 1,6 l sehingga diperoleh ekstrak etilasetat. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan vakum evaporator sampai didapat ekstrak kental. Ekstrak etilasetat kental dikromatografi kolom vakum cair dengan fase diam silika gel 60 H dan cairan eluasi *n*-heksan-kloroform-etilasetat dan metanol sehingga diperoleh 27 fraksi. Fraksi dengan gambaran KLT yang sama

* Penulis korespondensi, Tlp. 081315549694
e-mail: Syamsudin27@yahoo.com

di gabung sehingga diperoleh 6 fraksi yaitu C, D, E, F, G, dan H (Tabel 1). Semua fraksi diuji aktivitas antiplasmodium.

Penapisan fitokimia. Pada serbuk dan ekstrak etilasetat dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui

Tabel 1. Hasil fraksinasi.

No.	Fraksi	Bobot (g)	Bentuk, warna
1.	C	5,73	Kental, coklat
2.	D	0,68	Kental, coklat tua
3.	E	0,10	Kental, coklat
4.	F	0,09	Serbuk, coklat
5.	G	0,13	Serbuk, coklat tua
6.	H	2,07	Kental, coklat tua

golongan senyawa kimia seperti: alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid/triterpenoid, dan kumarin⁽⁸⁾.

Pemeriksaan xanton. Penampak bercak larutan asam sulfat 10% dalam metanol memberikan warna kuning dan dengan penampak bercak besi (III) klorida 1% memberikan warna hijau pada sinar biasa⁽⁸⁾.

Uji aktivitas antiplasmodium. Uji aktivitas antiplasmodium ditetapkan berdasarkan metode Trager yang telah dimodifikasi. Bahan uji dengan konsentrasi 100, 50, 10, 5, 1, dan 0,5 µg/ml masing-masing sebanyak 100 µl setiap sumuran, masing-masing dibuat triplikat kemudian dimasukkan dalam sumuran dan ditambahkan suspensi eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* galur FCR-3⁽⁹⁾.

Analisis data. Data konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) fraksi ditetapkan dengan analisis probit berdasarkan hubungan log kadar fraksi dan persen penghambatan pertumbuhan parasit⁽¹⁰⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi sinambung dilakukan untuk melakukan pemisahan golongan-golongan senyawa kimia secara langsung menurut tingkat kepolaran. Etilasetat merupakan pelarut semi polar sehingga akan melarutkan semua senyawa yang bersifat semi polar. Cara ekstraksi ini menguntungkan karena dapat melakukan prefraksinasi lebih awal sehingga senyawa non polar dan semi polar relatif sudah terpisah⁽⁸⁾.

Ekstrak etilasetat sebanyak 18,34 g selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom vakum cair dengan beberapa macam eluen seperti *n*-heksan, etilasetat, kloroform, dan metanol.

Eluasi dilakukan dengan polaritas yang makin meningkat. Masing-masing fraksi dikelompokkan berdasarkan kesamaan kromatogram KLT sehingga didapat 6 fraksi yaitu fraksi C, D, E, F, G, dan H (Tabel 1). Pada skrining fitokimia dari ekstrak etilasetat menunjukkan adanya golongan senyawa kimia tertentu seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Penelitian mengenai fitokimia dari kulit batang dilakukan oleh Xu *et al.*⁽⁴⁾, yang berhasil mengisolasi turunan senyawa xanton antara lain parvixanton,

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia dari ekstrak etilasetat.

Golongan kimia	Ekstrak
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Saponin	-
Tanin	-
Kuinon	-
Steroid/triterpenoid	+
Kumarin	-

Keterangan: + hasil positif; - hasil negatif

pada Tabel 2 terlihat ekstrak mengandung flavonoid dan steroid/triterpenoid. Salah satu golongan senyawa yang teridentifikasi dari kulit batang adalah senyawa xanton yang pada gambaran kromatogram KLT memperlihatkan bercak yang berwarna kuning-jingga⁽¹¹⁾. Xanton dapat dideteksi dari warna pada sinar uv dengan atau tanpa penampak bercak amonia atau menggunakan penampak bercak yang digunakan untuk senyawa fenol⁽¹²⁾.

Likhitwitayawuid *et al.*⁽¹³⁾ berhasil menguji aktivitas beberapa turunan xanton dari tanaman *G. dulcis* dan *G. cowa*. Di antara turunan xanton yang diuji, garcinaxanton dan cowaxanton mempunyai aktivitas antiplasmodium paling kuat dengan nilai IC₅₀ (konsentrasi hambatan maksimal yang dapat menghambat pertumbuhan 50% dari plasmodium) berturut-turut sekitar 0,96 µg/ml dan 1,5 µg/ml⁽¹³⁾. Beberapa golongan steroid/triterpenoid memiliki aktivitas antiplasmodium antara lain yang diisolasi dari kulit batang *Hollarhena floribunda* dengan nilai IC₅₀ 4,33 µg/ml⁽¹⁴⁾.

Penelitian antiplasmodium secara *in vitro* pada galur resisten klorokuin (FCR-3) dilakukan menurut metode *candle jar*⁽⁹⁾. Uji aktivitas dilakukan sesuai dengan metode yang dikembangkan oleh Riekmann *et al.*⁽¹⁵⁾. Pengukuran % parasitemia parasit ditetapkan berdasarkan angka parasitemia per 2000 eritrosit setelah diinkubasi 72 jam yang dibuat preparat apusan Giemsa 5% yang dapat dilihat pada Tabel 3. Dari tabel tersebut dihitung jumlah skizon yang mati karena aktivitas antiplasmodium dari masing-masing fraksi (Gambar 1). Data ini selanjutnya digunakan untuk memperoleh nilai IC₅₀ yaitu kadar fraksi yang

mampu menghambat pertumbuhan parasit sampai 50% dengan analisa probit⁽¹⁰⁾.

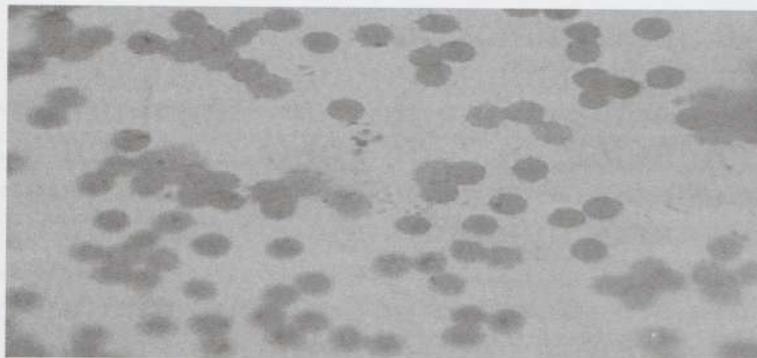
Pada Tabel 4 terlihat fraksi C, D, dan G memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ dibandingkan dengan fraksi E, F, dan H. Fraksi F dan H memiliki nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$. Gessler *et al.*⁽¹⁶⁾, mengelompokkan aktivitas dari suatu zat menjadi 3 kategori, yaitu: 1) aktivitas antiplasmodium yang sangat kuat dengan

nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$; 2) aktivitas antiplasmodium kuat yaitu nilai IC_{50} antara 10-50 $\mu\text{g/ml}$; dan 3) aktivitas antiplasmodium lemah jika $IC_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$ ⁽¹⁶⁾. Berdasarkan kategori di atas dapat dilihat bahwa fraksi C, D, dan G mempunyai aktivitas antiplasmodium yang sangat kuat, fraksi E aktivitas antiplasmodium kuat, dan fraksi F dan H memiliki aktivitas antiplasmodium yang lemah.

Tabel 3. Hambatan pertumbuhan (%) *P. falciparum* strain FCR-3 pada berbagai fraksi dari beberapa konsentrasi.

No	Fraksi	Konsentrasi fraksi dalam $\mu\text{g/ml}$					
		100	50	10	5	1	0.5
1.	C	2,24±0,27	5,32±0,48	7,26±1,69	9,81±3,75	15,56±6,67	19,84±3,68
2.	D	4,28±0,73	4,61±2,87	5,33±4,48	5,42±3,04	5,72±5,44	6,19±7,05
3.	E	6,92±3,73	10,85±4,22	11,07±1,24	12,15±1,06	13,26±8,29	19,36±1,04
4.	F	14,3±2,3	16,51±3,21	18,09±3,41	18,81±2,06	19,31±4,33	19,4±1,04
5.	G	0,63±0,11	1,92±0,21	4,67±1,21	6,84±1,33	8,9±2,41	10,81±3,21
6.	H	16,23±3,01	16,81±2,21	17,31±4,71	18,21±3,21	18,90±3,81	19,90±5,41

Keterangan: Persen penghambatan dihitung dari angka parasitemia kontrol-angka parasitemia tiap fraksi dibagi dengan angka parasitemia kontrol.



Gambar 1. Stadium skizon yang dihitung untuk mengetahui aktivitas antiplasmodium dari fraksi.

Tabel 4. Nilai IC_{50} dari masing-masing fraksi.

No.	Fraksi	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1.	C	1,58 $\mu\text{g/ml}$
2.	D	5,51 $\mu\text{g/ml}$
3.	E	24,19 $\mu\text{g/ml}$
4.	F	>100 $\mu\text{g/ml}$
5.	G	0,843 $\mu\text{g/ml}$
6.	H	>100 $\mu\text{g/ml}$

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka kulit batang *G. parvifolia* dapat digunakan sebagai antimalaria. Aktivitas antiplasmodium tersebut diduga disebabkan kandungan senyawa xanton dan atau steroid/triterpenoid.

SARAN

Perlu dilakukan isolasi dan elusidasi struktur dari fraksi C, D, E, dan G untuk mengetahui struktur kimia yang memiliki aktivitas antiplasmodium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Dr. Mahardika dan Dr. Ety Nurwening Solekha dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta yang telah membantu uji antiplasmodium ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional atas bantuan dananya melalui Penelitian Dosen Muda (0145.0/023-04.0/-/2007).

DAFTAR PUSTAKA

- Pribadi W. Masalah penyakit malaria dan upaya penanggulangannya menjelang tahun 2000. Pidato Pengukuhan Guru Besar Tetap FKUI, Jakarta, 1999.
- Mustofa. Molekul antimalaria alami: Potensi dan tantangan pengembangannya sebagai obat baru malaria. *Majalah Obat Tradisional*. 2003. 8(26):8-9.
- Elufioye TO and Aqbedahunsi JM. Antimalarial activities of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae) on mice *in vivo*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004. 93:167.
- Xu JY, Lai YH, Imiyabir Z, and Goh SH. Xanthonenes from *Garcinia parvifolia*. *J. Nat. Prod.* 2001. 64: 1191-5.
- Syamsudin. Kemotaksonomi dan farmakologi tumbuhan keluarga Guttiferae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2006. 3(2):16-9.
- Syamsudin, Shirley K, and Broto S. Screening for antiplasmodial, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activities from *Garcinia parvifolia* Miq. *Asian J of Plant Sciences* (to be published). 2007b.
- Syamsudin, Soesanto T, Subagus W, Darmono and Mustofa. *In vitro* and *in vivo* antiplasmodial activities of Stem barks extracts of *Garcinia parvifolia* Miq. *Int. J. of Trop. Medicine*. 2007a. 2(2):41-4.
- Harborne JB. *Phytochemical methods*. London: Chapman and Hall; 1973.
- Trager W. The cultivation of *Plasmodium falciparum*: application in basic applied research on malaria. *Annals of Trop Med and Parasitology*. 1976. 81:511-29.
- Finney DJ. *Probit analysis: A statistical treatment of the sigmoid response curve*. Cambridge; 1964.
- Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Analisis obat tradisional Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan; 1987.
- Preres V, Nagem TJ. Trioxygenated naturally occurring xanthonenes. *Phytochemistry*. 1997. 44(2):191-214.
- Likhitwitayawuid K, Phadungcharoen T, Krunkai J. Antimalaria xanthonenes from *Garcinia cowa*. *Planta Medica*. 1998. 64:70-2.
- Fotie J, Bohle S, Leimanis M, Georgias E, Rukunga G, Nkengfack A. Lupeol long-chain fatty acid esters with antimalarial activity from *Hollarhena floribunda*. *J. of Nat Prod.* 2006. 69:62-7.
- Riekmann KH. Visual *in vitro* test for determining the drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. *The Lancet* June. 1982. 12:1333-5
- Gessler MC, Nkunya MHN, Mwasumbi LB, Heinrich M, Toner M. Screening Tanzanian medicinal plants for antimalarial activity. *Acta. Trop.* 1994. 55:65-7.