

## Aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat kulit batang mundu (*Garcinia dulcis* Kurz)

### Antimalarial activity of ethyl acetate extract of *Garcinia dulcis* kurz stem bark

Gunawan Pamudji Widodo\*) dan Mamik Ponco Rahayu  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia

#### Abstrak

Telah dilakukan pengujian aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat kulit batang mundu (*Garcinia dulcis* Kurz) secara *in vivo* terhadap mencit yang diinduksi *Plasmodium berghei*. Uji aktivitas antimalaria dilakukan dengan pemeriksaan parasitemia dan jumlah leukosit dalam darah mencit yang telah diinduksi parasit, setelah pemberian oral ekstrak kulit batang mundu dengan dosis 25 mg, 50 mg, dan 75 mg/kg bb. Aktivitas antiplasmodial dan penurunan jumlah leukosit tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak dosis 50 mg/kg bb. Golongan senyawa yang teridentifikasi di dalam ekstrak etil asetat adalah flavonoid, saponin dan tanin. Belum diketahui secara pasti senyawa yang memiliki aktivitas antimalaria.

**Kata kunci :** antimalaria, *Garcinia dulcis* Kurz, kulit batang, parasitemia

#### Abstract

*In-vivo* antimalarial activity of ethyl acetate extract of *Garcinia dulcis* Kurz stem bark have been evaluated against *Plasmodium berghei* induced mice. Antimalarial test was conducted by paracitemia investigation and leucocyte counting of paracite induced mice blood, after oral administration of *Garcinia dulcis* stem bark extract dose of 25 mg, 50 mg, as well as 75 mg/kg bw. The highest antiplasmodial activity and decreasing of leucocyte amount was showed by extract of dose of 50 mg/kg bw. The compounds identified in ethyl acetate extract of *Garcinia dulcis* stem bark were flavonoid, saponin and tannin. The compounds that have antimalarial activity weren't yet known.

**Keywords:** antimalarial, *Garcinia dulcis* Kurz, stem bark, paracitemia

#### Pendahuluan

Malaria merupakan salah satu penyakit dengan prevalensi tinggi di dunia. Setiap tahunnya penyakit ini menginfeksi setengah juta penduduk, dengan tingkat kematian mencapai 2.300 jiwa (Devi, *et al.*, 2001). Peningkatan prevalensi dan distribusi malaria disebabkan oleh banyak faktor, di antaranya resistensi parasit terhadap obat-obat antimalaria. Saat ini usaha penemuan dan pengembangan senyawa kimia antimalaria baru serta pemanfaatan tanaman obat telah banyak dilakukan. Salah satu tanaman obat yang telah dilaporkan menunjukkan aktivitas antiplasmodium adalah kulit batang asam kandis (*Garcinia parvifolia*). (Syamsudin, *et al.*, 1997).

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. Sukamat dan Ersam (2006) telah mengisolasi dua senyawa xanton dari kayu batang mundu, Likhitwitayawuid, *et al.* (1998) mengisolasi lima xanton dari ekstrak etanol kulit batang mundu, yang menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *P. falciparum* (IC<sub>50</sub> : 0,96-3,88 µg/mL). Hal ini mendorong dilakukannya pengujian aktivitas antimalaria kulit batang kayu mundu secara *in vivo* terhadap hewan coba mencit.

*Plasmodium berghei* secara molekuler menunjukkan persamaan dengan *P. falciparum* sehingga penelitian antimalaria banyak menggunakan jenis plasmodium ini sebagai penginduksi malaria dengan mencit sebagai hospesnya (Dewi and Sulaksono, 1994).

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antimalaria ekstrak etil asetat kulit batang munda secara *in vivo* pada mencit yang diinduksi *P. berghei* dengan parameter pengujian meliputi penurunan parasitemia dan penentuan kadar leukosit.

## Metodologi

### Bahan dan alat

Kulit batang munda diambil dari Boyolali, Jawa Tengah, pada bulan April 2010. Bahan kimia yang digunakan adalah etil asetat, klorokuin, natrium EDTA, NaCl, karboksimetilselulosa (CMC), diperoleh dari Laboratorium Farmakologi USB Surakarta. Bahan antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium berghei* diperoleh dari Lab. Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, botol maserasi, evaporator, timbangan, pipa kapiler, mikrosentrifugator, mikroskop, *vacuum evaporator*, alat sismex.

### Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah 25 ekor mencit jantan putih Swiss Webster yang sehat, berusia 2-3 bulan, berat badan 18-20 g, diperoleh dari Lab. Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM. Mencit dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok diberi perlakuan peroral sehari sekali, kelompok A : ekstrak etil asetat dosis 25 mg/kg BB, kelompok B : ekstrak etil asetat dosis 50 mg/kg BB, kelompok C : ekstrak etil asetat dosis 75 mg/kg BB, kelompok D (kontrol negatif) : karboksimetilselulosa 25 mg/kg BB dan kelompok E (kontrol positif) : klorokuin dosis 5 mg/kg BB/hari.

### Jalannya penelitian

#### Preparasi ekstrak etil asetat

Serbuk kulit batang munda sebanyak 350 gram diekstraksi terlebih dulu dengan n-heksana, kemudian ampasnya dimaserasi dengan 2,625 L etil asetat. Maserat disaring dan dipekatkan dengan *vacuum evaporator* hingga menghasilkan ekstrak dengan bobot tetap 16,481 g. Selanjutnya ekstrak etil asetat tersebut dibuat sediaan uji dalam bentuk suspensi dengan CMC 0,5%.

### Uji aktivitas antimalaria

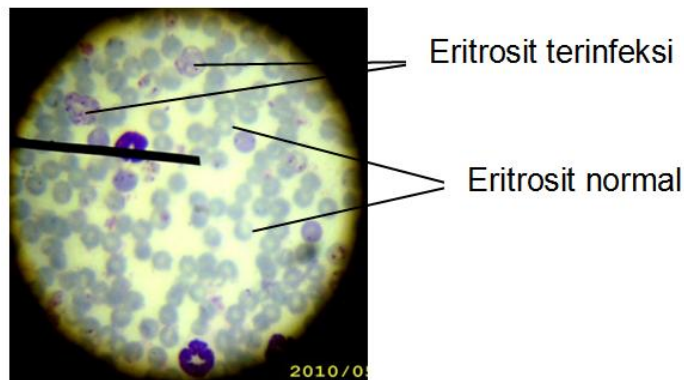
*P. berghei* didapatkan dari indukan mencit yang telah terinfeksi *P. berghei*, diambil dari Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran UGM. Indukan mencit diambil darahnya dan dihitung konsentrasi *P. berghei* berdasarkan jumlah total eritrosit dengan menggunakan hemositometer, kemudian dibuat apusan dengan pengecatan giemsa untuk menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi. Setelah itu 0,26 mL darah mencit yang sudah terinfeksi parasit (setara dengan  $10^7$  parasit) diambil dan diinduksikan secara *intra peritoneal* ke setiap ekor mencit lain yang akan diuji. Setelah 24 jam induksi parasit dilakukan pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia dari hewan uji di tiap kelompok perlakuan. Bila sudah terjadi infeksi (parasitemia setara dengan  $10^7$  parasit) dilakukan pemberian sediaan uji dengan berbagai dosis (25, 50 dan 75 mg/kg BB), kontrol negatif (suspensi CMC 25 mg/kg BB) dan klorokuin 5 mg/kg BB bb diberikan setiap hari pada masing-masing kelompok hewan uji hingga hari kelima. Pada hari ke-1, 3 dan 5 darah diambil dari vena ekor/vena orbitalis, untuk pemeriksaan parasitemia, dengan cara dibuat sediaan apus dengan pengecatan giemsa, kemudian dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi dan eritrosit normal dalam perwakilan  $\pm 1000$  eritrosit (dengan mikroskop pembesaran 1000x). Penentuan jumlah eritrosit dilakukan secara manual melalui beberapa kali pengamatan pada lapang pandang yang berbeda. Persen parasitemia merupakan jumlah eritrosit yang terinfeksi dibagi jumlah total eritrosit dikalikan 100%. Pemeriksaan leukosit dilakukan pada hari ke 0 (leukosit normal), hari ke 1 (saat infeksi), hari ke 3, ke 4 dan ke 5, terhadap darah yang diambil melalui vena ekor/vena orbitalis (Dewi and Sulaksono, 1994).

### Analisis Data

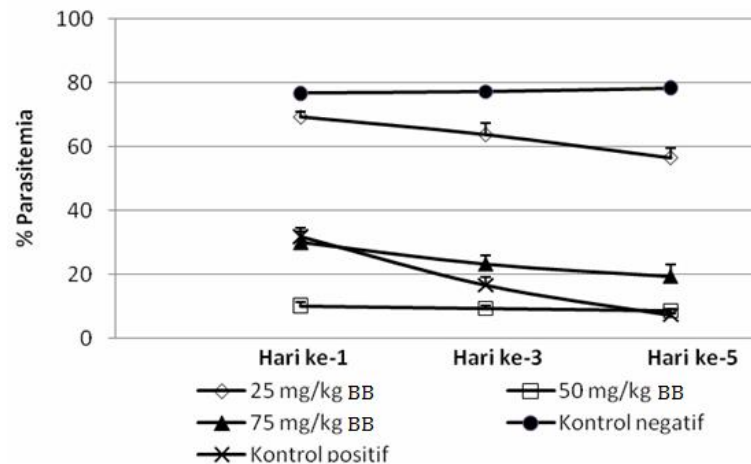
Analisa data dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah leukosit dan hemoglobin pada semua kelompok uji. Selanjutnya dilakukan analisis statistik yang melibatkan semua kelompok perlakuan. Analisis statistik yang digunakan adalah uji one sample Kolmogorov-Smirnov, untuk melihat normal tidaknya distribusi data, bila data terdistribusi normal, analisis data dilakukan dengan ANOVA satu jalan diikuti uji Tukey, dengan tingkat kepercayaan 95% (Singgih, 2009).

### Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia di dalam ekstrak dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase diam silika gel



Gambar 1. Pengamatan mikroskopik eritrosit pada mencit terinfeksi parasit



Gambar 2. Persen parasitemia setelah pemberian sediaan uji

GF254 dan fase gerak yang sesuai untuk golongan senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Deteksi dilakukan di bawah sinar ultra violet 254 dan 366 nm dengan penampak bercak anisaldehyde-asam sulfat pekat, uap amoniak, dan  $FeCl_3$ .

### Hasil dan Pembahasan

Pengamatan apusan darah mencit di bawah mikroskop menunjukkan perbedaan karakteristik eritrosit normal dan terinfeksi. Eritrosit normal berbentuk cakram bikonkaf, berwarna kekuningan dan tidak berinti, sedangkan eritrosit yang terinfeksi parasit lebih pucat, bertitik-titik dan lebih besar dibanding eritrosit normal (Gambar 1).

Hasil perhitungan persen parasitemia ditunjukkan pada gambar 2. Pemberian ekstrak

etil asetat dosis 25, 50 dan 75 mg/kg BB mampu menurunkan parasitemia. Persen parasitemia kelompok kontrol negatif mencapai 76-78%. Pemberian ekstrak dengan dosis 25, 50, dan 75 mg/kg BB menurunkan persen parasitemia menjadi berturut-turut 56-69%, 8-10%, dan 19-30%, sedangkan pemberian klorokuin pada kelompok kontrol positif menyebabkan penurunan persen parasitemia menjadi 7-31%.

Grafik pada gambar 2 menunjukkan bahwa tidak adanya terapi (kelompok kontrol negatif) menyebabkan persen parasitemia semakin meningkat dari hari pertama hingga hari ke-5, sedangkan terapi dengan ekstrak maupun klorokuin 5 mg/kg BB menyebabkan persen parasitemia menurun hingga hari ke-5.

Tabel I. Data jumlah leukosit dari hewan uji

Kelompok uji	Jumlah leukosit per $\mu\text{L}$				
	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-4	Hari ke-5
Dosis 25 mg/kg BB	10,220	10,950	11,050	10,800	10,900
Dosis 50 mg/kg BB	10,250	10,100	9,890	10,170	9,980
Dosis 75 mg/kg BB	10,700	10,350	10,550	10,200	10,530
Kontrol negatif	10,720	11,550	10,970	10,850	11,350
Kontrol positif	10,500	9,900	9,800	10,150	9,970

Ekstrak dosis 50 mg/kg BB menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang lebih baik dibandingkan dosis 25 mg/kg BB dan bahkan lebih baik daripada klorokuin. Aktivitas antiplasmodium ekstrak dosis 75 mg/kg BB justru lebih rendah dibanding ekstrak dosis 50 mg/kg BB, walaupun masih lebih baik dibanding dosis 25 mg/kg BB. Hal ini diduga karena pada dosis 75 mg/kg BB kandungan senyawa yang lebih tinggi, khususnya saponin, yang menyebabkan lisisnya eritrosit, sehingga jumlah eritrosit normal yang berfungsi sebagai faktor pembagi dalam penentuan persen parasitemia juga menurun.

Pada penelitian ini jumlah leukosit juga ditentukan karena leukosit merupakan salah faktor pertahanan terhadap infeksi (Tabel I). Tingginya jumlah leukosit berkorelasi dengan tingginya tingkat infeksi.

Jumlah leukosit setelah pemberian sediaan uji sejalan dengan hasil pemeriksaan parasitemia. Kelompok kontrol negatif menunjukkan kadar leukosit yang paling tinggi menandakan banyaknya jumlah parasit yang menginfeksi. Ekstrak etil asetat 50 mg/kg BB menunjukkan aktivitas paling tinggi ditandai dengan jumlah leukosit terendah.

Identifikasi kandungan kimia ekstrak dilakukan dengan kromatografi lapis tipis. Ekstrak etil asetat kulit batang munda dibuat dari ampas simplisia yang sebelumnya telah diekstraksi dengan n-heksana, sehingga komposisi senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak lebih sederhana, yaitu flavonoid, saponin, tanin. Senyawa-senyawa yang lipofil seperti lipid, triterpen/steroid sudah terpisah pada ekstraksi dengan n-heksana.

Pada penelitian ini belum dapat dijelaskan golongan senyawa mana dari flavonoid, saponin dan tannin yang beraktivitas antimalaria/ antiplasmodium, karena belum dilakukan isolasi dan uji aktivitas dari isolat. Namun dari beberapa penelitian yang sudah dilakukan, salah satu senyawa yang paling berperan dalam aktivitas antiplasmodium adalah ksanton, seperti 1,3,4,5,8-pentahidroksiksanton, 1,4,5,8-tetrahidroksiksanton (Sukamat and Ersam, 2006), viz 1,7-dihidroksiksanton, 12 $\beta$ -hidroksides-D-garsigerin A, 1-O-metilsimfoksanton, simfoksanton, dan garsiniaksanton (Likhit-witayawuid, *et al.*, 1998). Lima senyawa ksanton terakhir sudah terbukti aktif menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* secara *in vitro*. Mekanisme kerja antiplasmodium dari senyawa turunan ksanton belum jelas, tetapi diduga senyawa 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).

## Kesimpulan

Ekstrak etil asetat kulit batang munda (*Garcinia dulcis* Kurz) dengan dosis 50 mg/kg BB menunjukkan aktivitas antimalaria paling tinggi terhadap mencit yang diinduksi *Plasmodium berghei*. Golongan senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak etil asetat dan diduga berperan dalam aktivitas antimalaria adalah flavonoid, saponin, dan tanin.

## Daftar Pustaka

- Devi, C.U., Valecha, N., Atul, P.K., and Pillai, P.R., 2001, Antiplasmodial Effect Of Three Medicinal Plants: A Preliminary Study, *Current Science*, 80 (8), 917-919.
- Dewi, R.M., and Sulaksono, E., 1994. Pengaruh Pasase *Plasmodium berghei* pada Mencit Galur Swiss, *Cermin Dunia Kedokteran*, 94, 61-63.
- Ignatushchenko, M.V., Winter, R.W., Bachinger, H.P., Hinrichs, D.J., and Riscoe, M.K., 1997, Xanthones as antimalarial agents, studies of a Possible Mode of Action, *FEBS Letter*, 409:67-73.
- Lannang, A.M., Komguem, J., Ngninzeko, F.N., Tangmouo, J.G., Lontsi, D., Ajaz, A., Choudhary, M.I., Ranjit, R., Devkota, K.P., and Sodengam, B.L 2005, Bangangxanthone A and B, two xanthones from the Stem bark of *Garcinia poliantha* Oliv., *Phytochemistry*, 66, 2351-2355.
- Likhitwitayawuid, K., Chanmahasathien, W., Ruangrunsi, N., and Krunkai, J., 1998, Xanthones with antimalarial activity fro *Garcinia dulcis*, *Planta Med*, 64, 281-282.
- Merza, J., Aumond, M.C., Rondeau, D., Dumontet, V., Ray., A.M.L., and Seraphin, D., dkk., 2004, Prenylated Xanthones and Tocotrienols from *Garcinia virgata*, *Phytochemistry*, 65, 2915-2920.
- Singgih S., 2009, Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 17, Jakarta: PT. Gramedia.
- Sukamat and Ersam, T., 2006, Dua Senyawa Santon Dari Kayu Batang Mundu *Garcinia Dulcis* (Roxb.) Kurz. Sebagai Antioksidan. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Kimia VIII, Surabaya, 8 Agustus.
- 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.

---

\*Korespondensi: Gunawan Pamudji Widodo,  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi,  
Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta.  
Telp. 085659062990, e-mail: gunawanpamudji@yahoo.com