

**UJI *IN VIVO* AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM EKSTRAK
ETANOL KULIT BATANG DUKU (*Lansium domesticum* Corr.)
TERHADAP *Plasmodium berghei* PADA MENCIT PUTIH GALUR
SWISS**

Hadi Sudarjat¹

¹ Universitas Padjadjaran

ABSTRAK

Malaria masih menjadi salah satu masalah kesehatan global. Dimana malaria setiap tahunnya menginfeksi 70 juta orang di dunia dengan mortalitas 1%. Di lain pihak, penggunaan tanaman sebagai antimalarial telah banyak diketahui. Telah dilakukan pengujian secara *in vivo* aktivitas antiplasmodium dari ekstrak etanol kulit batang duku (*Lansium domesticum* Corr.) terhadap *plasmodium berghei* pada mencit putih galur Swiss secara intraperitoneal. Ekstrak diberikan secara oral dengan dosis 180, 360, dan 720 mg/kg Berat Badan (BB). Sebagai kontrol negatif digunakan PGA 3% dan kontrol positif digunakan kombinasi obat pirimetanim-sulfadoksin 5 mg/kg BB. Aktivitas antiplasmodium dilihat dari jumlah parasitemia pada ulas darah tipis yang diambil sampai dengan hari ke-13. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1.000x dan dihitung jumlah parasitemia sampai hari ke-13. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak dosis 360 mg/kg BB mempunyai aktivitas terbaik (daya hambat parasitemia 97,8%) dibandingkan dengan dosis 180 (daya hambat parasitemia 65,89%) dan 720 mg/KG BB (daya hambat paracitemia 88,5%). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit batang duku dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* berdasarkan uji Newman Keuls dimana dosis 360 mg/kg BB dan kontrol positif berbeda signifikan terhadap kontrol negatif.

Kata Kunci : Antiplasmodium, *Lansium domesticum* Corr., *Plasmodium berghei*

ABSTRACT

Malaria remains as one of global health problem. Every year malaria infected 70 million peoples in the world with 1% mortality. In the other hand, the use of a plants as antimalaria has been known. An investigation of the in vivo antiplasmodium activity of ethanol extract of duku (*Lansium domesticum* Corr.) stem bark has been done using *plasmodium berghei* inoculation method in white mice Swiss strains body via intraperitoneal. The extract were given orally with the doses of 180, 360 and 720 mg/kg Body weight (BW). As negative control used PGA 3% and positive control used pirimetamine-sulfadoxsin drug combination 5 mg/kg BW. The antiplasmodium activity observed from the amount paracitemia on the thin blood smears up to 13 days. The observasion has been done using the microscope with 1.000x zoom in and count the amount of paracitemia on the thirteen day. The result showed that the ethanol extract with the dose of 360 m/kg BW gave the strongest antiplasmodium activity (inhibition of 97.8%) compare to 180 mg/kg BW dose (inhibition 65.89%) and 720 mg/kg BW dose (inhibition 88.5%). The conclution of this research is the extract of duku stem bark can inhibit the grew up of *Plasmodium berghei* base on Newman Keuls test in which the 360 mg/kg BW and positive control give a significant differences with negative control.

Keyword: antiplasmodium, *Lansium domesticum* Corr., *Plasmodium berghei*

1. Latar Belakang

Setiap tahun, tujuh puluh juta orang dihinggapi penyakit malaria dengan mortalitas 1%. Penyakit ini terutama terdapat di negara-negara yang beriklim panas dan lembab yang merupakan tempat ideal untuk berkembangbiaknya nyamuk *Anopheles*. Di Indonesia malaria merupakan salah satu penyakit endemis penting karena diperkirakan 15 juta penduduk Indonesia menderita malaria, 30 ribu di antaranya meninggal dunia¹.

Meningkatnya kejadian malaria disebabkan oleh berbagai macam faktor, salah satu adanya kasus malaria yang resisten terhadap obat antimalaria. Resistensi parasit malaria terhadap klorokuin muncul pertama kali di Thailand pada tahun 1961 dan di Amerika Serikat pada tahun 1962.

Di Indonesia resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin ditemukan pertama kali di daerah Kalimantan Timur pada tahun 1974. Resistensi ini terus meluas dan pada tahun 1996 kasus-kasus malaria yang resisten klorokuin sudah ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia².

Berdasarkan hal tersebut, masalah utama dari pengobatan malaria adalah resistensi parasit *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria terutama terhadap kina, primetamin, proguanil, klorokuin, meflokuin, dan obat antimalaria lainnya³. Oleh karena itu, pencarian senyawa baru sebagai penghambat *Plasmodium falciparum* merupakan alternatif dalam pengobatan malaria.

Salah satu tumbuhan Indonesia yang memiliki khasiat untuk pengobatan adalah duku. Secara tradisional tumbuhan ini sering digunakan sebagai obat cacing, obat demam, disentri, malaria, obat diare dan mengobati gigitan kalajengking⁴. Hanya sedikit literatur yang mengatakan bahwa tumbuhan duku ini dimanfaatkan secara tradisional untuk mengobati malaria. Hal ini dikarenakan masih sedikitnya penelitian yang menginformasikan bahwa tumbuhan ini memiliki aktivitas sebagai antimalaria. Oleh karena itu menarik untuk dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas anti malaria terhadap tumbuhan duku (*Lansium domesticum* Corr.).

2. Bahan dan Metode Penelitian

2.1. Alat dan Bahan Penelitian

2.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserator, *rotary evaporator*, cawan penguap, *grinder*, *beaker glass*, gelas ukur, mortir, stemper, timbangan listrik, jarum suntik, pipa kapiler, sonde oral, *sprit* 1 mL, *sprit* 10 mL, kandang mencit, mikroskop cahaya, kaca preparat, kertas saring, dan kapas.

2.1.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah etanol 70%, metanol, pewarna giemsa, larutan NaCl fisiologis (0,9%), PGA, heparin, air suling, gliserol, kloroform, minyak emersi, mencit galur swiss, kulit batang duku (*Lansium domesticum* Corr.), pakan mencit, dan fansidar[®] (kombinasi pirimetamin-sulfadoksin).

2.2 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tahapan kerja sebagai berikut:

2.2.1. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Batang Duku

Simplisia kering dibuat menjadi lebih halus dengan menggunakan *grinder* sehingga menjadi serbuk. Simplisia yang telah menjadi serbuk, lalu dilakukan ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi

dengan penggantian pelarut etanol setiap 24 jam sebanyak tiga kali. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada tekanan rendah dan suhu 40°C hingga sedikit kental. Kemudian dituang ke dalam cawan penguap yang telah ditara, lalu diuapkan di atas *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Rendemen ekstraksi dinyatakan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

2.2.2. Penapisan Fitokimia

1. Pemeriksaan Senyawa Alkaloid

Ekstrak dalam mortir, dibasakan dengan amoniak, kemudian ditambahkan pasir dan kloroform lalu digerus kuat. Setelah disaring, filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan asam klorida 2N. (Fransworth, 1966).

2. Pemeriksaan Senyawa Flavonoid

Ekstrak dipanaskan dengan campuran logam magnesium dan asam klorida 5N, kemudian disaring. Adanya flavonoid menyebabkan filtrat berwarna merah yang dapat ditarik oleh amil alkohol⁵.

3. Pemeriksaan Senyawa Tanin dan Polifenol

Ekstrak dipanaskan dengan air di atas tangas air, kemudian disaring panas-panas, sebagian kecil filtratnya ditetesi larutan pereaksi besi (III) klorida. Terbentuknya warna biru –hitam menunjukkan adanya tanin dan polifenol alam. Sebagian kecil filtrat diuji ulang dengan penambahan larutan gelatin 1%. Adanya endapan putih menunjukkan adanya tanin⁵.

4. Pemeriksaan Senyawa Saponin

Ekstrak dicampur dengan air di dalam tabung reaksi dan dipanaskan di atas tangas air beberapa saat, kemudian disaring. Setelah disaring, filtrat dalam tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama lebih kurang 30 detik. Pembentukan busa sekurang-kurangnya satu cm dan stabil selama beberapa menit, serta tidak hilang pada penambahan satu tetes asam klorida encer menunjukkan bahwa dalam ekstrak terdapat saponin⁵.

5. Pemeriksaan Senyawa Monoterpen dan Seskuiterpen

Ekstrak disari dengan eter, kemudian sari eter diuapkan hingga kering. Pada residu ditetaskan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat atau vanilin-asam sulfat. Terbentuknya warna-warna menunjukkan adanya senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid⁵.

6. Pemeriksaan Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak disari dengan eter diuapkan hingga kering. Pada residu ditambahkan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat

pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Terbentuknya warna ungu menunjukkan bahwa dalam ekstrak terkandung senyawa kelompok triterpenoid, sedangkan bila terbentuk warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa kelompok steroid⁵.

7. Pemeriksaan Senyawa Kuinon

Ekstrak digerus dan dipanaskan dengan air, kemudian disaring, filtratnya ditetesi larutan NaOH. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan adanya senyawa kuinon⁵.

2.2.3. Preparasi dan Pengujian Aktivitas Antimalaria

1. Preparasi *Plasmodium Bergei*

P.bergei yang telah dibekukan diaktifkan kembali dengan cara disuntikan pada mencit donor secara intra peritoneal. Kemudian diamati jumlah parasitnya setelah beberapa hari. Jika jumlah parasit dalam mencit donor memadai maka *P. bergei* aktif sehingga bisa digunakan untuk menginfeksi pada mencit uji untuk perlakuan. Pengambilan parasit dilakukan dengan cara mengambil darah mencit donor dengan menggunakan pipa-pipa kapiler yang telah mengandung antikoagulan melalui intra orbital mata. Darah tersebut dialirkan ke *microtube* yang telah berisi heparin. Kemudian ditambahkan gliserol ke dalam *microtube* agar darah tidak lisis dan rusak ketika disimpan pada temperatur -70°C .

2. Uji Aktivitas Antiplasmodium

Mencit yang digunakan untuk pengujian antiplasmodium diinfeksi terlebih dahulu dengan menggunakan darah dari mencit donor yang mengandung *Plasmodium berghei*.

Untuk menginokulasikan *P. berghei*, sediaan darah yang tersimpan diambil dengan *syringe* 1 ml, kemudian diencerkan dengan NaCl fisiologis (0,8%) dengan perbandingan 1 bagian sediaan darah dengan 9 bagian NaCl fisiologis (0,8%). Kemudian sediaan diinfeksi ke mencit uji yang telah diadaptasikan selama 1 minggu secara intraperitoneal dengan dosis $0,25 \times 10^6$ sebanyak 0,5 ml dengan menggunakan *syringe*.

Mencit yang telah diinfeksi dibagi menjadi beberapa kelompok.

- a. Kelompok 1 untuk kontrol negatif yang hanya diberi larutan PGA.
- b. kelompok 2 untuk kontrol positif yang diberi larutan obat Fansidar[®]
- c. Kelompok 3 untuk perlakuan diberi ekstrak etanol kulit batang duku dengan berbagai variasi konsentrasi. Dilakukan pengamatan terhadap jumlah parasitemia pada mencit uji selama 14 hari.

Selama pengamatan, dibuat preparat ulas tipis setiap hari dengan cara meneteskan darah dari ekor mencit yang dipotong dan diteteskan pada kaca preparat. Setelah pengulasan preparat difiksasi dengan metanol selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan pewarna giemsa selama 30 menit. Setelah itu dicuci dengan air dan dikeringkan.

Preparat yang telah diwarnai oleh giemsa diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dan dengan menggunakan

minyak emersi. Pemeriksaan dilakukan pada daerah pengamatan yang dipilih secara acak dengan menghitung jumlah 500 sel darah merah, baik yang mengandung parasit maupun yang tidak mengandung parasit. Penghitungan parasit dalam sel darah merah dilakukan pada hari ke 0,1,2 sampai dengan hari ke-13 setelah infeksi.

$$\text{jumlah parasitemia (\%)} = \frac{\text{jumlah eritrosit berparasit}}{\text{jumlah eritrosit total}} \times 100\%$$

Dari perhitungan persentase parasitemia tersebut, kemudian dilakukan perhitungan presentase hambat pertumbuhan *P.berghei* pada hari ke-13 dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Daya hambat (\%)} = \frac{\text{Rerata JP13KN(\%)} - \text{Rata - rata JP13S}}{\text{Rata - rata JP13KN(\%)}} \times 100\%$$

Keterangan :

- JP13KN : Jumlah parasitemia H13 kontrol negatif
- JP13S : Jumlah parasitemia H13 sampel

2.2.4. Analisis Data Secara Statistika

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, grafik, dan diagram batang. Selanjutnya dianalisis secara statistika menggunakan Analisis Varian Satu Arah dan Uji Newman Keuls (SNK) dilakukan untuk melihat perbedaan antar kelompok ⁶.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi Kulit Batang duku

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi sebanyak tiga kali dengan pergantian pelarut dilakukan setiap 24 jam untuk mendapatkan maserat yang memadai untuk penelitian. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol, yaitu pelarut yang bersifat polar. Penggunaan etano sebagai pelarut karena etanol tidak beracun atau relatif aman, absorpsinya baik, dan etanol bercampur dengan air pada segala perbandingan serta dapat mencegah pertumbuhan kapang dan kuman. Hasil ekstraksi berupa ekstrak kental berwarna coklat kehitaman. Berat simplisia kering adalah sebanyak 931,24 gram dan berat ekstrak total adalah sebanyak 157,38 gram, berdasarkan data tersebut diatas dapat dihitung nilai redemen kulit batang duku adalah sebesar 16,9 %.

3.2 penapisan fitokimia

Berdasarkan penapisan fitokimia ekstrak etanol kulit batang duku terdeteksi adanya senyawa alkaloid, tanin, kuinon, monoterpen dan seskuiterpen serta saponin.

3.3 pengujian aktivitas antiplasmodium

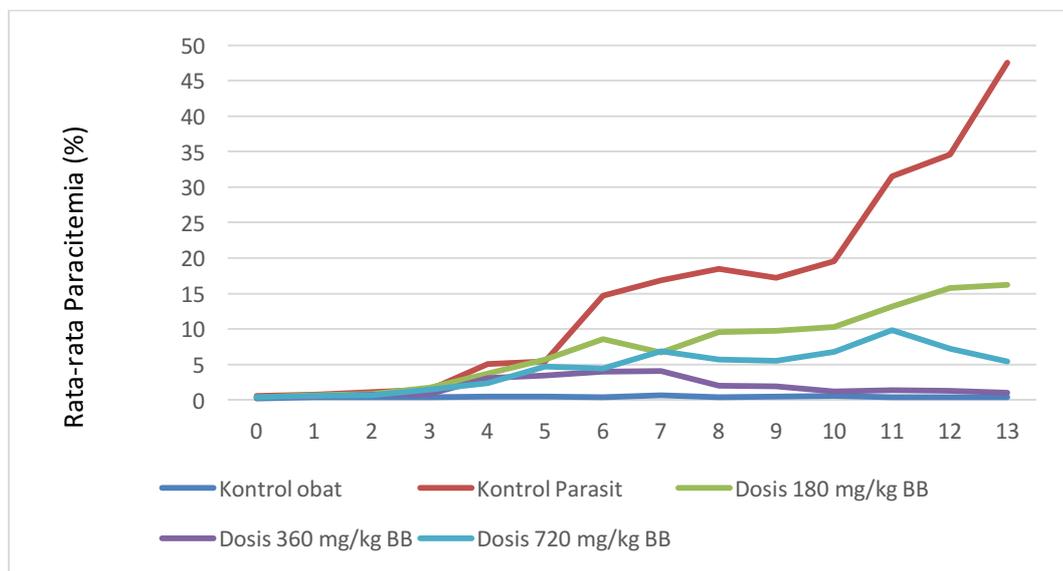
Pengujian aktivitas antiplasmodium dilakukan secara in vivo dengan menggunakan mencit putih galur Swiss sebagai model percobaan. Mencit putih galur Swiss dipilih karena dinilai cukup sensitif terhadap infeksi parasit

dan lebih tahan terhadap infeksi *Plasmodium berghei*. *P. berghei* adalah salah satu parasit yang menyebabkan malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. Sama seperti parasit malaria pada mamalia, *P. berghei* juga ditularkan oleh nyamuk Anopheles dan menginfeksi hati setelah masuk ke dalam pembuluh darah oleh gigitan nyamuk betina yang terinfeksi. Infeksi yang disebabkan oleh *P. berghei* memperlihatkan gejala yang sama dengan *P. falciparum*.

Hewan coba mencit berjumlah 50 ekor yang telah diinfeksi dengan *P. berghei* pada hari ke-0. Hewan uji tersebut dibagi menjadi lima kelompok secara acak (setiap kelompok terdiri atas 10 mencit). Semua mencit diberi sediaan uji selama empat hari sejak hari ke-1 hingga hari ke-4. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap jumlah parasitemia pada mencit uji dari hari ke-0 hingga hari ke-13.

Mencit yang terinfeksi *P. berghei* selama pengamatan terlihat menggigil dan pucat. Pada kelompok kontrol positif keadaan mencit berangsur-angsur membaik sejak hari ke-8. Perubahan tersebut menunjukkan proses penyembuhan pada hewan. Pada kelompok dosis 180,360 dan 720 mg/kg BB terlihat perubahan keadaan fisik yang berangsur-angsur membaik sejak hari ke-6, namun tidak sebaik pada kelompok kontrol positif yang diberi obat pirimetamin-sulfadoksin. Pada kelompok kontrol negatif kondisi fisik mencit terlihat semakin memburuk dari hari ke hari.

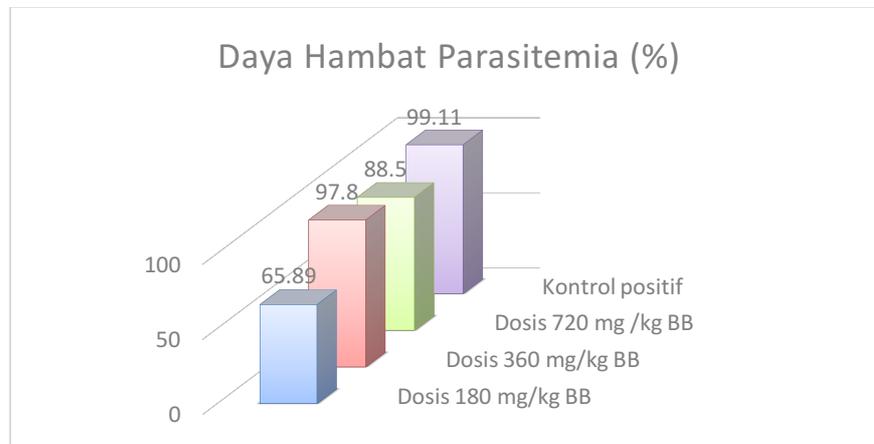
Pemeriksaan jumlah parasitemia dilakukan pada sediaan apus darah tipis yang dibuat dengan cara pengambilan darah pada ujung ekor mencit dan diulaskan pada preparat kaca untuk diperiksa parasitemianya sampai hari ke-13. Jumlah parasitemia dihitung dengan cara membandingkan jumlah sel darah yang terinfeksi dengan jumlah seluruh sel darah merah yang diamati selama 14 hari berturut-turut dari hari ke-0 sampai hari ke-13.



Gambar 1 Diagram garis hubungan rata-rata parasitemia pada kelompok perlakuan pada hari ke-0 hingga hari ke-13

Dari data pada gambar 1 dapat diketahui bahwa pada hari ke-0 hingga hari ke-4 rata-rata parasitemia untuk semua perlakuan hampir sama, hal ini dikarenakan pemberian sediaan uji dilakukan dari hari ke-1 hingga hari ke-4 sehingga pertumbuhan *P.berghei* tidak terlalu pesat.

Setelah hari ke-4 terlihat kenaikan rata-rata parasitemia pada setiap perlakuan kecuali pada kontrol positif. Pada kontrol positif kenaikan rata-rata parasitemia tidak terlalu pesat, sedangkan pada kontrol negatif terlihat kenaikan rata-rata parasitemia yang sangat pesat. Pada dosis 180 mg/kg BB terlihat kenaikan rata-rata parasitemia yang paling pesat jika dibandingkan dengan dosis 360 mg/kg BB dan 720 mg/kg BB. Pada hari ke-7 hingga hari ke-13 dosis 360 mg/kg BB terjadi penurunan rata-rata parasitemia yang signifikan. Pada dosis 720 mg/kg BB rata-rata parasitemianya dibawah dosis 180 mg/kg BB tetapi diatas 360 mg/kg BB. Berdasarkan uji ANAVA dengan keyakinan 95% dan 99% menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara jumlah parasitemia dari masing-masing perlakuan. Dilakukan uji Newman Keuls untuk mengetahui ada tidaknya persamaan efek antar perlakuan yang satu dengan yang lainnya. Hasil uji rentang Newman dengan keyakinan 95% dan 99% dapat disimpulkan bahwa kontrol positif dan dosis 360 mg/kg BB berbeda signifikan terhadap kontrol negatif. Sedangkan dosis 180 dan 720 mg/kg BB tidak berbeda signifikan terhadap kontrol negatif. Kontrol positif memiliki daya hambat parasitemia yang paling besar, kemudian disusul oleh dosis 360, 720 dan 180 mg/KG BB. Daya hambat parasitemia dari masing-masing perlakuan pada hari ke-13 dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2 Diagram batang daya hambat parasitemia dari kelompok uji pada hari ke-13

Pada gambar 2 yang memiliki nilai daya hambat parasitemia yang paling besar adalah kontrol positif yaitu obat pirimetamin-sulfadoksin 5 mg/kg BB sebesar 99,11%. Pada dosis 180 mg/kg BB daya hambatnya merupakan yang terendah sebesar 65,89%, dan dosis 360 mg/kg BB merupakan dosis yang memiliki daya hambat pertumbuhan parasit tertinggi diantara kelompok uji sebesar 97,8%. Dosis 720 mg/kg BB memiliki daya hambat lebih rendah dari 360 mg/kg BB dan lebih tinggi dari 180 mg/kg BB. Sehingga dapat disimpulkan bahwa daya hambat pertumbuhan parasit paling besar pada kelompok uji adalah 360 mg/kg BB.

4. Kesimpulan

berdasarkan uji Newman Keuls dapat disimpulkan bahwa dosis 360 mg/kg BB dan kontrol positif menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap

kontrol negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit batang duku (*Lansium domesticum* Corr.) dapat menghambat pertumbuhan *P.berghei*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hoan Tjay, T. dan Kirana Rahardja. 2002. *Obat-obat Penting*. Jakarta: PT Gramedia.
2. Zein, Umar. 2005. *Penanganan Terkini Malaria Falciparum*. Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
3. Makinde, J.M., Amusan, O.O.G., and Adesogan, E.K. 1988. The Malaria Activity of *Sphatodea campanulata* Steam Bark Extract on Plasmodium berghei in Mice. *Planta Medica*. 122.125
4. Dalimarta, S.,2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 2. Jakarta :Trubus Agriwidya.
5. Fransworth, N.R. 1966. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *J. Pharm, Sci*. 55 (3). Massachussets. 245-257.
6. Sudjana. 1995. *Desain dan Analisis eksperimen*. Edisi IV. Bandung: Penerbit Tarsito. 59-74.