Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 11, No. 2, 2006, halaman 81-87
Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003

ISSN : 1410 – 0177

Efek antiplasmodium dari ekstrak kulit batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq) yang diberikan secara intraperitoneal pada mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium yoelii*

Syamsudin[1], Susan Marlina[1], Rita Marleta Dewi[2]
[1]Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta 12460
[2]P3M, Litbangkes, Departemen Kesehatan

Diterima tanggal : 25 Juli 2006 disetujui : 05 September 2006

Abstract

Evaluation of the in vivo antiplasmodial activity of the stem bark extract of Garcinia parvifolia Miq has been conducted. The in vivo antiplasmodial assay was performed on Plasmodium yoelii infected mice. Results showed that the ethanolic extract displayed ED_{50} value less than 100 mg/kgBB/day.

Key words: *Plasmodium yoelii, Garcinia parvifolia*, mice, Antiplasmodial activity.

Pendahuluan

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus *Plasmodium* yang dapat ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina (Prabowo, 2004).

Malaria ditemukan hampir diseluruh negara bagian dunia, terutama di negara-negara yang beriklim tropis dan sub tropis. Di Indonesia malaria masih menjadi masalah kesehatan terutama di Indonesia Timur, bahkan menjadi masalah di daerah Jawa dan Sumatera yang dulunya sudah dapat dikendalikan (Harijanto, 2000). Tingginya angka kesakitan disebabkan karena kegagalan dalam pemberantasan malaria antara lain yakni parasit malaria (*Plasmodium)* yang resisten terhadap antimalaria yang beredar di pasaran dan vektor malaria yakni nyamuk *Anopheles* yang resisten

terhadap insektisida dan tingginya morbiditas dan arus transportasi yang cepat (Larry & Janovy, 1996).

Masalah resistensi terhadap klorokuin mendorong perlunya antimalaria baru dengan struktur dan mekanisme aksi baru. Hal ini diharapkan agar terjadinya resistensi silang akibat kemiripan terhadap struktur kimia yang sama dapat dihindari (Mustofa, 2003).

Pada penelitian sebelumnya ekstrak kulit batang *G. parvifolia* menunjukan efek antiplasmodium terhadap mencit yang diinfeksikan dengan *P. berghei* dengan nilai DE_{50} (dosis efektif 50) < 50 mg/kg BB yang diberikan secara intraperitoneal (Syamsudin, *et al.*, 2006) Pada penelitian ini ingin dibuktikan efek antiplasmodium dari ekstrak kulit batang *G. parvifolia* terhadap mencit yang diinfeksikan dengan *P. yoelii.*

Bahan dan Metoda

Bahan
Bahan uji adalah kulit batang *G. parvifolia* yang diperoleh dari Desa Nang Kalis, Kalimantan Barat yang diambil pada bulan Maret 2004 dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor.
Bahan lainnya adalah larutan Giemsa, etanol, metanol, air suling dan larutan CMC Na.

Alat
Alat yang digunakan antara lain alat gelas, jarum suntik, mikroskop cahaya, objek gelas, evaporator.

Hewan coba
Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan strain Swiss dengan berat 20-30 g dan berumur 1,5-2,5 bulan. Hewan tersebut didapatkan dari kandang hewan Litbangkes Farmasi, Depkes, Jakarta.

Metoda
Pembuatan ekstrak
Kulit batang *G. parvifolia* dicuci bersih, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan, dibuat serbuk simplisia. Serbuk simplisia dengan derajat halus tertentu diekstraksi secara maserasi selama 24 jam dengan etanol sebanyak 3 X sampai tidak berwarna. Disaring filtrat dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan evaporator sampai didapat ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut diuapkan sampai didapat ekstrak kering (EGP).

Uji aktivitas antiplasmodium in vivo
Uji aktivitas antiplasmodium secara *in vivo* dilakukan menurut metoda Peters, (1970). Hewan

coba mencit berjumlah 36 ekor yang telah diinfeksikan *P. yoelii* pada hari pertama (D_1). Hewan coba tersebut dibagi menjadi 6 kelompok secara acak (setiap kelompok terdiri dari 6 ekor) yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif yaitu Kelompok mencit yang diberi larutan NaCl 0,9% secara ip.
2. Kelompok kontrol positif yaitu kelompok mencit yang diberi larutan klorokuin dosis 5 mg/kg secara ip.
3. Kelompok EGP dosis 100 mg/kg/hari secara ip.
4. Kelompok EGP dosis 300 mg/kg/hari secara ip.
5. Kelompok EGP dosis 500 mg/kg/hari secara ip.
6. Kelompok EGP dosis 1000 mg/kg/hari secara ip.

Semua mencit diberikan sediaan uji selama 4 hari (sejak D_1 sampai D_4). Sediaan apus darah tipis dibuat dengan cara diambil dari ujung ekor mencit dan dilakukan setiap hari untuk diperiksa parasitemianya sampai hari ke-4.

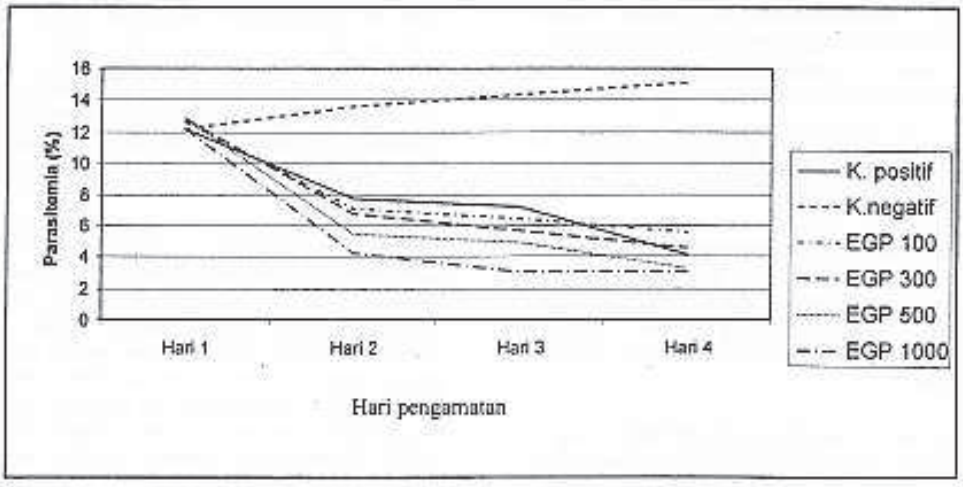
Analisa data

Data yang diperoleh dilakukan uji statistik dengan menggunakan analisa satu jalan dan dilanjutkan dengan uji antar kelompok dengan Tukey HSD (Daniel., 1987).

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian antiplasmodium secara *in vivo* digunakan hewan uji mencit sebagai model karena mudah ditangani, banyak keturunan dan mudah pemeliharaannya. Galur yang dipilih adalah galur *Swiss derived* yang mempunyai ketahanan paling baik dan memiliki sensitivitas terhadap infeksi malaria (Suwarni, *et al.*, 1997). Parasit yang digunakan adalah *P. yoelii* karena merupakan parasit malaria pada roden. Secara molekuler terdapat persamaan antara *P. yoelii, P. berghei* dengan *P. falciparum* pada manusia namun dalam perkembangan untuk 1 siklus membutuhkan waktu 24 jam dari stadium tropozoit muda sampai skizon matang dan menghasilkan merozoit baru. *Plasmodium* dipelihara di laboratorium dengan 2 cara yaitu memelihara parasit ini dala hewan coba mencit lalu dipindahkan ke mencit lain (pasase) dan dalam medium darah yang terinfeksi yang dimasukkan ke dalam gliserin kemudian disimpan pada suhu -70°C atau tabung nitrogen (Dewi, *et al.*,1997).

Untuk pemeriksaan parasitemia dibuat sediaan darah tipis (Markell, *et al.*, 1986). Untuk lebih jelasnya perkembangan parasitemia semua kelompok mencit dapat dilihat pada gambar 1. Pada gambar 1 menunjukan pada semua kelompok perlakuan mengalami penurunan angka parasitemia sampai hari ke-4. Terjadinya penurunan yang dialami kelompok perlakuan disebabkan adanya pemberian ekstrak kulit batang *G. Parvifolia* selama 3 hari. Pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan larutan NaCl tidak terjadi penurunan angka parasitemia bahkan mengalami peningkatan sampai pada hari ke-4. Hal ini disebabkan larutan NaCl tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. yoelii* sehingga angka parasitemia meningkat terus.



Gambar 1. Perkembangan parasitemia pada kelompok mencit yang diberikan ekstrak Kulit batang *G. parvifolia* secara ip.

Pada penelitian ini data yang diperhitungkan untuk pengambilan kesimpulan adalah data parasitemia pada hari ke-empat (D_{-4}), sesuai dengan cara yang dipakai oleh Peters (1970). Tabel 1 dibawah ini menunjukan data parasitemia pada hari ke-empat.

Tabel 1. Parasitemia pada hari ke-4 tiap kelompok mencit pada pemberian ekstrak kulit Batang *G. parvifolia* secara ip.

Subyek	K. negatif	EGP 100 mg/kg	EGP 300 mg/kg	EGP 500 mg/kg	EGP 1000 mg/kg	K. positif
1.	15,15	5,50	4,51	3,24	3,02	0,55
2.	15,17	5,55	4,55	3,20	-	0,56
3.	15,16	5,47	4,52	3,25	3,02	0,53
4.	15,14	5,52	4,51	3,23	-	0,61
5.	-	5,51	4,55	3,20	-	0,58
Rerata	15,15± 0,01	5,51±0,03	4,53±0,02	3,22±0,02	3,02±0,00	0,57±0,04

Pada tabel 1 menunjukan pada semua kelompok pemberian sediaan uji mengalami penurunan sampai hari ke-4. Pada hari ke-4 angka parasitemia dari kelompok perlakuan sediaan uji berturut-turut adalah sebagai berikut; kelompok dosis 100 mg/kg 5,51 ± 0,03, dosis 300 mg/kg 4,53 ± 0,02, dosis 500 mg/kg 3,22 ± 0,02, dosis 1000 mg/kg 3,02 ± 0,00 dan kelompok klorokuin 0,57 ± 0,04. Penurunan angka parasitemia hari ke-4 sekitar 3-5% pada kelompok yang diberikan ekstrak kulit batang *G. parvifolia*, jumlah ini dianggap masih dapat meningkatkan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. yoelii*. Menurut Dewi, *et al* . (1996), angka parasitemia yang dianggap positif jika mempunyai angka parasitemia minimal 2-3%, oleh sebab itu dengan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. yoelii* lebih besar dari 2-3%, maka akan memudahkan *P. yoelii* dapat berkembang lagi tanpa pemberian ekstrak kulit batang *G. parvifolia*. Pada kelompok kontrol positif (klorokuin) angka parasitemia mencapai rata-rata 0,57 ± 0,04 hal ini disebabkan karena klorokuin merupakan antimalaria standar yang dapat menurunkan angka parasitemia hingga nilai terendah.

Dalam tabel 1 diatas, secara keseluruhan terlihat bahwa rerata parasitemia pada kelompok kontrol negatif paling besar yaitu 15,15 ± 0,01, kemudian berturut-turut rerata parasitemia EGP 100 mg/kg, EGP 300 mg/kg, EGP 500 mg/kg dan EGP 1000 mg/kg dan kontrol positif (klorokuin) Berdasarkan uji statistik dengan menggunakan analisis satu jalan ternyata perbedaan parasitemia pada masing-masing kelompok pada hari ke-4 hasilnya sangat bermakna ($p<0,05$). Apabila dilanjutkan dengan uji antar kelompok perlakuan dengan menggunakan Tukeys HSD ternyata:

1. Terdapat perbedaan antara kelompok kontrol positif, kontrol negatif dan kelompok perlakuan.
2. Terdapat perbedaan antara kelompok dosis 100 mg/kg dengan dosis 500 mg/kg.
3. Terdapat perbedaan antara kelompok dosis 300 mg/kg dengan dosis 500 mg/kg.
4. Terdapat perbedaan antara kelompok dosis 100 mg/kg dengan dosis 1000 mg/kg.

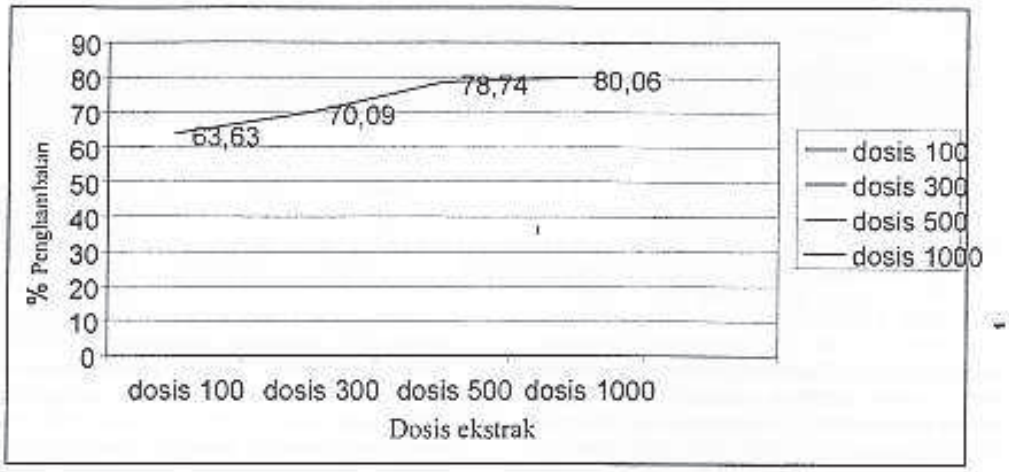
Untuk mengetahui hubungan antara dosis ekstrak kulit batang *G. parvifolia* yang diberikan secara ip dengan efeknya terhadap *P. yoelii*, maka perlu diamati pula persentase penghambatan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil penelitian dan perhitungannya dalam log-probit (Peters, 1970) ditunjukan pada tabel 2 .

Tabel 2. Hubungan antara dosis ekstrak kulit batang *G. parvifolia* yang diberikan secara ip dan efeknya terhadap *P. yoelii*.

Dosis (mg/kgBB)	Log dosis	Parasitemia kelompok kontrol	Parasitemia kelompok perlakuan	Persentase penghambatan (%)	Probit % penghambatan
100	2	15,15	5,51	63,63	5,36
300	2,47	15,15	4,53	70,09	5,52
500	2,69	15,15	3,22	78,74	5,81
1000	3	15,15	3,02	80,06	5,84

Untuk lebih jelasnya hubungan antara dosis ekstrak kulit batang *G. parvifolia* yang diberikan secara ip dengan persentase penghambatan dapat dilihat pada gambar 2.

Dari gambar 2. agak sukar didapatkan nilai dosis efektif tertentu (ED_{50}), karena nilai % penghambatan tidak mendekati nilai ideal yang dipersyaratkan yaitu antara 20-80%. Namun nilai ED_{50} hanya dapat diperkirakan yaitu dibawah 100 mg/kgBB.



Gambar 2. Hubungan antara dosis ekstrak dengan % hambatan pertumbuhan parasit

Berat badan merupakan salah satu indikator yang memperlihatkan bagaimana keadaan penyakit malaria. Secara umum, pada keadaan terinfeksi *P. yoelii* berat badan mencit mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya jumlah sel darah merah yang terinfeksi dengan *P. yoelii*. Pengambilan data berat badan digunakan sebagai penunjang dari data perubahan angka

parasitemia pada mencit. Data perubahan berat badan mencit dapat dilihat pada tabel 3. Pada tabel 3 terlihat kelompok kontrol positif mengalami penurunan berat badan sampai hari ke-7 kemudian diikuti dengan peningkatan berat badan seiring dengan menurunnya angka parasitemia pada kelompok ini sampai dengan 0,57 ± 0,04. Pada semua kontrol negatif terjadi penurunan berat badan seiring dengan meningkatnya angka parasitemia, sedangkan pada kelompok perlakuan semakin tinggi dosis ekstrak tidak diikuti dengan peningkatan berat badan mencit, hal ini kemungkinan disebabkan pada semua kelompok perlakuan angka parasitemia masih berkisar antara 3-5% sehingga memudahkan sel darah merah terinfeksi kembali. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa angka parasitemia atau jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. yoelii* dapat mempengaruhi berat badan mencit (Sadikin, *et al.*, 1989).

Pada tabel 4 menunjukan semua mencit pada kelompok perlakuan dan kontrol negatif mengalami kematian 100%, sedangkan pada kelompok kontrol negatif 60%. Kematian mulai terjadi pada hari ke-3 pada kelompok dosis 1000 mg/kgBB, hal ini kemungkinan disebabkan karena dosis 1000 mg/kg sudah mencapai nilai LD_{50} dari ekstrak kulit batang *G. parvifolia* secara ip adalah 749,89 mg/kg (Syamsudin, *et al.*, 2006)

Tabel 3. Berat badan mencit setelah diinfeksi dengan *P. Yoelii*

Kelompok	Berat badan mencit (gram)							
Hari ke	1	2	3	4	7	14	21	28
K. positif	21,44±1,61	20,3±1,68	19,22±2,35	17,76±2,77	17,68±3,82	21,58±3,69	22,5±4,95	25,2±2,83
K. negatif	26,34±3,93	25,12±3,98	22,2±2,86	20,17±3,24	-			
EGP 100 mg/kg	24,6±2,96	23,82±2,63	21,34±2,56	19,74±3,32	21,7±0,02	20,5±1,23		
EGP 300 mg/kg	23,04±1,03	22,38±0,64	21,08±0,65	19,74±0,81	18,5±0,71	18,0±0,02		
EGP 500 mg/kg	26,22±3,65	23,58±3,99	21,20±4,96	19,0±3,22	17,5±0,03	17,0±0,02		
EGP 1000 mg/kg	24,62±3,25	23,76±2,85	21,25±1,85	19,50±0,71				

Kematian yang terjadi pada kelompok kontrol negatif lebih dipengaruhi oleh tingkat pasase atau proses transfer parasit dari mencit ke mencit. Semakin tinggi tingkat pasaenya maka semakin tinggi tingkat virulensinya. Pada tabel 4 juga terlihat kematian terbanyak terjadi pada hari ke-5 dan 6, hasil penelitian tersebut sama dengan yang dilakukan oleh Dewi, *et al*., 1996 banyak kematian terjadi setelah hari ke-5 dan 6. Hal ini disebabkan karena tingginya angka parasitemia dan efek-efek yang ditimbulkan dari infeksi malaria. Pada dasarnya sebagian besar mencit pada kelompok perlakuan mengalami kematian pada minggu Pertama.

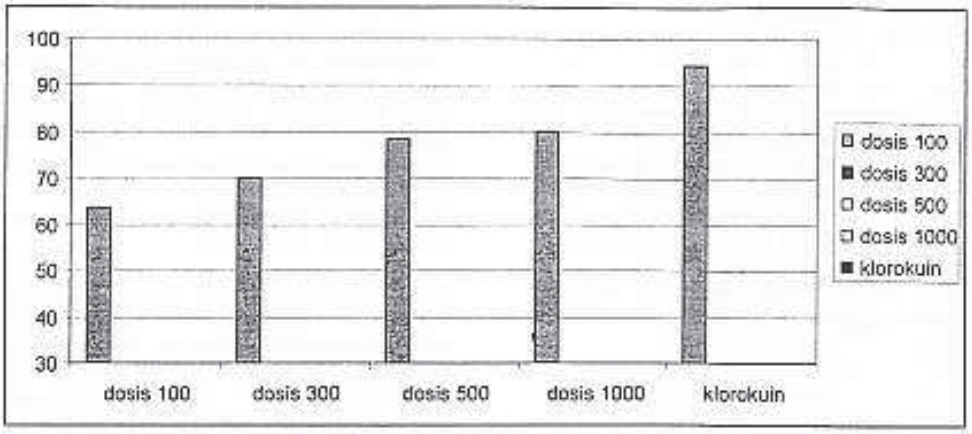
Pada kelompok kontrol positif kematian terjadi pada hari ke-21. Jika dihubungkan dengan angka parasitemia pada kelompok perlakuan mengalami penurunan dengan bertambahnya dosis, hal ini kemungkinan disebabkan karena mencit mengalami malaria berat atau akibat yang ditimbulkan oleh invasi *Plasmodium* terhadap hostnya yaitu anemia berat, hipoglikemik, edema paru, jaundice, gagal ginjal dan infark miokard yang mengakibatkan kematian walaupun jumlah parasit di dalam darah mencit menurun. Banyaknya sel darah merah yang hilang menyebabkan julah parasit dalam darah turun (Suwarni, *et al*.,1997).

Untuk mengetahui apakah ekstrak kulit batang sebagai obat tradisional mempunyai kemungkinan dapat dikembangkan sebagai obat antimalaria, maka dibandingkan % penghambatan dari ekstrak kulit batang *G. parvifolia* dengan klorokuin sebagai obat standar. Hasil dapat dilihat pada gambar 3

Tabel 4. Hari kematian mencit

Kelompok	Subyek	Hari Kematian mencit																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Kontrol positif	1																					+
	2																					+
	3																					+
	4																					
	5																					
Kontrol negatif	1					+																
	2					+																
	3					+																
	4					+																
	5				+																	
EGP 100 mg/kg	1							+														
	2						+															
	3			+																		
	4			+																		
	5		+																			
EGP 300 mg/kg	1																+					
	2						+															
	3						+															
	4								+													
	5							+														
EGP 500 mg/kg	1					+																
	2					+																
	3					+																
	4					+																
	5																+					
EGP 1000mg/kg	1							+														
	2		+																			
	3			+																		
	4			+																		
	5			+																		

Keterangan : + mencit yang mengalami kematian



Gambar 3. Hubungan % penghambatan parasitemia dengan semua kelompok perlakuan

Pada gambar 3 terlihat % penghambatan parasitemia untuk kelompok ekstrak kulit batang *G. parvifolia* pada pemberian intraperitoneal cukup memberikan harapan yaitu pada dosis tertinggi 1000 mg/kg sebesar 80,09% dibandingkan dengan klorokuin sebagai obat standar yaitu 94,5%. Perlu dijelaskan juga bahwa ekstrak kulit batang *G. parvifolia* yang digunakan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk *crude extract*, sedangkan klorokuin yang digunakan sebagai pembanding adalah klorokuin murni.

Dari hasil uji antiplasmodium secara *in vivo* ekstrak kulit batang *G. parvifolia* memiliki efek antiplasmodium terhadap infeksi *P. yoelii*. Tanaman dari genus *Garcinia* diketahui banyak mengandung senyawa xanton, biflavonoid dan benzofenon. Aktivitas antiplasmodium dari senyawa xanton antara lain sebagai antimikroba, antiinflamasi, sitotoksik, antifungal dan antimalaria. Menurut Xu (2002) dalam kulit batang *G. parvifolia* mengandung senyawa turunan xanton yaitu parvixanton. Jadi kemungkinan terbesar, senyawa yang berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *P. yoelii* adalah senyawa turunan xanton. Penelitian yang dilakukan oleh Ignatushchenko, *et al.* (1997) menunjukan aktivitas antiplasmodium dari senyawa xanton kemungkinan disebabkan gugus hidroksil pada posisi 4 dan 5. Model aksi dari senyawa xanton tersebut kemungkinan berinteraksi dengan monomer heme a) terjadi interaksi antara Fe^{+3}-heme dan oksigen karbonil, b) interaksi antara kedua sistim aromatis, dan c) antara gugus samping karboksilat dari heme dengan xanton pada posisi 4 dan 5.

Pada hasil penelitian diatas tampak adanya harapan untuk pengembangan kulit batang asam kandis (*G. parvifolia* Miq) sebagai obat alternatif malaria, namun demikian menurut Reksohadiprodjo (1989), penelitian-penelitian yang diperlukan untuk hal tersebut masih harus melalui beberapa tahapan lagi termasuk penelitian tentang toksisitas dan efek sampingnya pada hewan coba.

Kesimpulan

Ekstrak kulit batang Asam kandis (*G. parvifolia* Miq) dengan pelarut etanol 70% pada dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kgBB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kgBB, dapat menghambat pertumbuhan *P. yoelii*.

Ekstrak kulit batang *G. parvifolia* pada dosis 1000 mg/kg memiliki % penghambatan pertumbuhan sebesar 80,09% sedangkan klorokuin 94,5%

ED_{50} dari ekstrak kulit batang *G. parvifolia* yang diberikan secara intraperitoneal dibawah 100 mg/kgBB

Daftar Pustaka

Daniel, W.W., (1987). Biostatistic: a foundation for analysis in the Health Sciences, 4th ed., John Wiley&Sons, USA

Dewi. RM. Jekti.E, Sulaksono., (1997). Pengaruh pasase terhadap gejala .klinis pada mencit strain Swiss derived yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. CDK, 106; 34-36.

Harijanto, P.N., (2000). Malaria: Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi klinis dan Penanganannya. Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran, 175, 194-210.

Ignatushenchenko, M, Winter R.W, Bachinger H.P, Hinrichs, D.J, Riscoe, M.K., (1997). Xanthones as antimalarial agents; studies of a possible mode of action. *FEBS Letter*. 409:67-73

Larry, Janovy J. (1996)., Faoundations of Parasitology. 5th ed.W.M. C. Brown Publisher, 149-151.

Mustofa (2003)., Molekul antimalaria alami. Potensi dan tantangan pengembangannya sebagai obat baru malaria. MOT,8 (26):8-9, 14-15.

Markell. EK, Voge M, John DT., (1986). Medical Parasitology. 7th ed. Philadelphia; 96-123.

Peters, W., 1987. *Chemotherapy and drugs resistance in malaria*, vol 1, p. 145-273. Academic Press, Inc., New York.

Prabowo. A., (2004). Malaria: Mencegah dan mengatasinya. Jakarta. Puspa Swara, 2.

Reksohadiprodjo, MS., (1989). Peranan Kimia Medisinal dalam Tanaman Obat Tradisional suatu Produk Alam. PhytoMedica. 1(1):58-65.

Sundari. S, Sulaksono, E, Yekti, Rabea, Subahagio., (1997). Inokulasi *Plasmodium berghei* pada beberapa strain mencit. CDK. 118:35-37.

Sadikin M., (1989) Peningkatan daya tahan tubuh oleh kenaikan suhu tubuh pada mencit terinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. CDK.55:32-36.

Syamsudin, S. Tjokrosanto, S. Wahyuono, Mustofa, Darmono.,(2006). *In vitro* and *in vivo* antiplasmodial activity of stem bark extracts from *Garcinia parvifolia* Miq. (in manuscript)