

ISSN: 1979 - 6358

JURNAL KEDOKTERAN DAN KESEHATAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER UNIVERSITAS PATTIMURA

MOLLUCA MEDICA

Penanggung Jawab

Dr. Jacob Manuputty, MPH
(Ketua Program Pendidikan Dokter)

Ketua Redaksi

DR. Maria Nindatu, M.Kes

Dewan Editor

Prof. Lyle E. Craker, Ph.D	(University of Massachusetts, USA)
Prof. Johnson Stanslas, M.Sc, Ph.D	(University Putra Malaysia, Serdang)
Prof. Dr. Sultana M. Farazs, M.Sc, Ph.D	(Universitas Diponegoro, Semarang)
Prof. DR. Dr. Suharyo H, Sp.PD-KPTI	(Universitas Diponegoro, Semarang)
Prof. DR. Paul Tahalele, dr, Sp.BTKU	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. DR. N. M. Rehata, dr, Sp.An.Kic	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. Mulyahadi Ali	(Universitas Brawijaya, Malang)
Prof. DR. Th. Pentury, M.Si	(Universitas Pattimura, Ambon)
Prof. DR. Sri Subekti, drh, DEA	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. DR. T. G. Ratumanan, M.Pd	(Universitas Pattimura, Ambon)
DR. Subagyo Yotoprano, DAP&E	(Universitas Airlangga, Surabaya)
DR. F. Leiwakabessy, M.Pd	(Universitas Pattimura, Ambon)
Dr. Titi Savitri P, MA, M.Med.Ed, Ph.D	(Universitas Gajah Mada, Yogyakarta)
Dr. Budu, Ph.D	(Universitas Hasanudin, Makassar)
Dr. Bertha Jean Que, Sp.S, M.Kes	(Universitas Pattimura, Ambon)
Dr. Reffendi Hasanusi, Sp.THT	(Universitas Pattimura, Ambon)

Sekretaris Redaksi

Theopilus Wilhelmus W, M.Kes

Alamat Redaksi

Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Pattimura
Kampus Universitas Pattimura Jl. Dr. Tamaela Ambon 97112
Telp. 0911-344982, Fax. 0911-344982, HP. 085243082128; 085231048390
E-mail: molluca_medica@yahoo.co.id

EFEK EKSTRAK METANOL KULIT BATANG POHON PULE (*Alstonia scholaris* L. R. Br) TERHADAP PENURUNAN PARASITEMIA MENCIT (*Mus musculus*) TERINFEKSI *Plasmodium berghei* ANKA SECARA *IN VIVO*

Pieter Kakisina^{a)} dan Abdul Mahid Ukratalo^{b)}

a) Jurusan Biologi, Fakultas MIPA & Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura Ambon

b) Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Pattimura Ambon
e-mail: paet_kakisina@yahoo.com

Diterima 16 Januari 2011/Disetujui 22 Maret 2011

Abstract

Pule (*Alstonia scholaris* L. R Br) is one type of plants that contain antioxidant flavonoids, saponins and polifenol, which supposedly can lower parasitemia of mice (*Mus musculus*) infected *Plasmodium berghei* ANKA *in vivo*. The purpose of this reserch was to determine the effect of methanol extract of pule (*Alstonia scholaris* L. R Br) against reduction parasitemia of mice (*Mus musculus*) infected *Plasmodium berghei* ANKA *in vivo* as well ED₅₀ methanol extract of pule in lower percent parasitemia mice. Mice weighing 20-30 grams in *Plasmodium berghei* infection of 0.1 ml per cow and left until the percent parasitemia reached 1-5%. Then the mice (*Mus musculus*) were given methanol extract of pule (*Alstonia scholaris* L. R Br) with doses of 1, 10, 100 and 200 mg / kg for 4 consecutive days and the lapse observations until day 6. The results of this reserch indicate that the methanol extract of pule (*Astonia scholaris* L. R Br) can lower the percent parasitemia of mice (*Mus musculus*) infected with *Plasmodium berghei* ANKA. Dose of 1 mg / kg BB weight of 66.18%, a dose of 10 mg / kg BB weight of 77.46%, a dose of 100 mg / kg BB weight of 98.04%, and a dose of 200 mg / kg BB weight of 99.02%. The results of probit analysis showed ED₅₀ methanol extract of pule trunks coolie 0.234 mg / kg BB.

Keywords: Pule (*Alstonia scholaris* L. R Br), flavonoids, *Plasmodium berghei*, Methanol Extracts, parasitemia

Abstrak

Pohon Pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan jenis flavonoid, saponin dan polifenol, yang diduga dapat menurunkan parasitemia mencit (*Mus musculus*) terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA secara *in vivo*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) terhadap penurunan parasitemia mencit (*Mus musculus*) terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA secara *in vivo* serta ED₅₀ ekstrak metanol kulit batang pohon pule dalam menurunkan persen parasitemia mencit (*Mus musculus*). Mencit dengan berat badan 20 – 30 gram di infeksi *Plasmodium berghei* sebanyak 0,1 ml per ekor dan dibiarkan sampai persen parasitemia mencapai 1-5%. Kemudian mencit (*Mus musculus*) diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) dengan dosis 1, 10, 100 dan 200 mg/kg BB selama 4 hari berturut-turut dan selang pengamatan sampai hari ke 6. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Astonia scholaris* L. R. Br) dapat menurunkan persen parasitemia mencit (*Mus musculuc*) terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. Dosis 1 mg/kg BB sebesar 66,18%, dosis 10 mg/kg BB sebesar 77,46%, dosis 100 mg/kg BB sebesar 98,04% dan dosis 200 mg/kg BB sebesar 99,02%. Hasil analisis probit menunjukkan ED₅₀ ekstrak metanol kuli batang pohon pule sebesar 0,234 mg/kg BB.

Kata Kunci: Pohon Pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br), Flavonoid, *Plasmodium berghei*, Ekstrak Metanol, Parasitemia

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang tersebar di seluruh dunia mulai dari daerah tropik, sub tropik sampai ke daerah beriklim dingin. WHO memperkirakan sekitar 300-500 juta orang terinfeksi setiap tahun dan 1,5-2,5 juta orang yang meninggal karena malaria (Burke *et al*, 2003 dan Saxena *et al*, 2003). Kondisi geografis Maluku yang sebagian besar merupakan daerah pesisir dan banyaknya daerah rawa menyebabkan seluruh daerah di Maluku menjadi daerah penyebaran penyakit malaria. Berdasarkan informasi dari Subdinas Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan propinsi Maluku, sebagian besar daerah Maluku masuk kategori endemis malaria tinggi yaitu daerah dengan angka temuan kasus malaria mencapai lebih dari 57 kasus per 1000 jiwa setiap tahunnya (Anonim, 2005). Berbagai upaya penanggulangan terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan, namun angka kesakitan dan kematian malaria masih tetap tinggi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, misalnya migrasi manusia secara besar-besaran, perubahan iklim dan lingkungan, sistem pelayanan kesehatan yang kurang baik, serta timbulnya galur parasit malaria yang resisten terhadap obat antimalaria dan galur nyamuk *Anopheles* yang resisten terhadap insektisida.

Tumbuh dan menyebarnya resistensi parasit malaria terhadap semua obat antimalaria lapis pertama (*front-line antimalaria drugs*) yang dipakai pada pengobatan dan pencegahan malaria telah menimbulkan banyak masalah pada program penanggulangan malaria. Seiring dengan belum berhasilnya upaya untuk menemukan vaksin malaria yang ideal, maka aktivitas riset yang bertujuan untuk penemuan obat baru tetap menjadi sarana utama dalam upaya penanggulangan malaria (Burke, 2003 dan Sjafurudin, 2004). Timbulnya resistensi parasit malaria terhadap obat

antimalaria yang tersedia, mendorong para peneliti guna mencari obat antimalaria baru yang efektif. Salah satu usaha menemukan antimalaria baru adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat di beberapa tempat untuk mengobati malaria. Resistensi timbul akibat penggunaan obat malaria tidak adekuat dan tidak sesuai dengan aturan cara pemakaian (Suwandi, 2007). Mekanisme terjadinya resistensi obat belum diketahui dengan pasti tetapi diduga bahwa resistensi terjadi karena mutasi gen dan mutasi ini terjadi karena tekanan obat atau penggunaan obat dalam dosis subkuratif (Tarigan, 2005). Penggunaan tanaman atau bagian tanaman untuk obat malaria sudah dikenal sejak ribuan tahun lalu (Phillipson & Wright, 1991). Senyawa antimalaria tertua (tahun 1820) untuk mengobati demam malaria adalah kulit pohon kina (*Cinchona succirubra*) dan alkaloid yang dikandungnya. Senyawa lain yang berkhasiat sebagai antimalaria dari tanaman adalah *artemisinin* dari tumbuhan *Artemisia annua* berasal dari China yang dikenal sebagai qinghaosu (Tjay dan Rahardja, 2000). Beberapa senyawa metabolit sekunder telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa ini dapat digolongkan dalam tujuh golongan besar yaitu, alkaloid, quassinoid, sesquiterpen, triterpenoid, flavonoid, quinon dan senyawaan miscellaneous (Saxena *et al*, 2003). Pada abad ini telah banyak digunakan ekstrak dari tanaman untuk pengobatan berbagai macam penyakit, sehingga penelitian tentang obat tradisional masih perlu dikembangkan (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai obat-obatan tradisional antara lain demam, hipertensi, nyeri, demam nifas, sakit usus, cacing, disentri, diabetes, malaria dan sebagainya. Pada kulit batang pohon pule mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder

seperti flavonoid, saponin dan polifenol (Anonim^b, 2011).

Masyarakat Negeri Latu, Kecamatan Amalatu Kabupaten Seram Bagian Barat menggunakan kulit batang tanaman ini sebagai obat antimalaria dengan cara direbus. Secara empiris penggunaan oleh masyarakat dengan cara direbus, bertujuan untuk mendapatkan sari tanaman yang berkhasiat sebagai antimalaria. Namun di satu sisi cara rebusan dapat juga mempengaruhi kandungan zat aktif karena ada zat tertentu yang dapat mengalami kerusakan akibat perebusan dengan suhu yang tinggi (Tri, 2004). Oleh karena itu kajian ilmiah tentang metode untuk mendapatkan ekstrak dari kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) dalam kaitan dengan efektivitas antimalarianya perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) terhadap penurunan persen parasitemia mencit (*Mus musculus*) yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA secara *in vivo* dan untuk mengetahui ED₅₀ ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) yang efektif dalam menurunkan persen parasitemia mencit (*Mus musculus*) terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA secara *in vivo*.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan dari tanggal 19 Juli 2011 - 14 September 2011 pada Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi FMIPA UNPATTI. Untuk rotavapor ekstrak dilaksanakan pada laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA UNPATTI.

Alat dan Bahan

Alat Penelitian

Pada penelitian ini alat – alat yang digunakan adalah 3 buah erlenmeyer berukuran 1000 ml, 1 buah erlenmeyer berukuran 500 ml, gelas ukur, kertas saring Whattman 02, seperangkat alat gelas,

timbangan elektronik, pisau, blender (alat penghalus), rotavapor, wadah pengurung mencit, neraca analitik, alat suntik, wadah kaca objek, slide gores, mikroskop elektron, sentrifigus tubi, heparing, alat sonde, pipet volum, spatula, tabung reaksi ukuran 25 ml, handcounter, panggangan sate dan Camera digital.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak metanol kulit batang pohon pule, metanol absolut 2 L, biakan *Plasmodium berghei* (*Plasmodium berghei* Strain ANKA diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UNAIR), hewan coba yaitu mencit dengan interval berat badan 20-30 gram dan umur \pm 2 bulan, CMC Na 0,5 % (*Carboxy Methyl Cellulose natrium*), Alceiver, Aluminium foil, tissue, kapas, minyak imersi dan detergen.

Prosedur Kerja

Cara ekstraksi

Kulit batang pohon pule diperoleh dari Desa Poka dengan diameter pohon pule adalah 45 cm. Setelah itu kulit batang pohon pule di potong kecil-kecil dengan menggunakan pisau lalu di angin-anginkan di dalam ruangan lab selama 3 minggu. Setelah kering dihaluskan dengan blender (alat penghalus) dan serbuk yang telah halus tersebut ditimbang sehingga di peroleh berat kering dari kulit batang pohon pule sebanyak 348 gram.

Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Sebanyak 100 gram serbuk kulit batang pohon pule ditimbang dengan menggunakan timbangan dan dimasukkan kedalam 2 erlenmeyer dengan ukuran 1000 ml. Masing-masing erlenmeyer dimasukkan serbuk kulit batang pohon pule sebanyak 50 gr.
2. Setelah itu dimasukkan metanol 500 ml pada masing-masing Erlenmeyer dan dibiarkan selama 24 jam.

3. Setelah 24 jam kemudian larutan tersebut di saring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak cair dari kulit batang pohon pule dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer dengan ukuran 500 ml. Residu ekstraksi diulangi sebanyak 3 kali menggunakan cara yang sama untuk pelarut metanol. Setelah disaring dengan menggunakan kertas saring, maka diketahui banyaknya ekstrak cair dari serbuk batang pohon pule yaitu 1550 ml.
4. Ekstrak cair dari metanol kulit batang pohon pule dikumpulkan dan diuapkan sampai kering menggunakan penguap putar (rotavapor) selama 3 jam sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol.
5. Setelah mengetahui berat akhir (0,64 gram) kemudian dilarutkan dengan aquades 100 ml sehingga diperoleh bahan sedikit pekat dengan konsentrasi akhir 0,64 gram per 100 ml aquades.

Cara pengujian pada parasit malaria Pengenceran dosis uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak methanol kulit batang pohon pule dengan kelompok dosis 1, 10, 100, dan 200 mg/kg BB (Berat badan) mencit. Dengan langkah sebagai berikut

- 1) Ditimbang 1 mg (0,001 gram) ekstrak metanol kulit batang pohon dengan timbangan analitik, kemudian di masukkan aquades sedikit demi sedikit. Kemudian masukkan CMC Na, 0,5 % (500 mg = 0,5 gram) kedalam labu ukur sedikit demi sedikit agar ekstrak tersebut dapat larut dengan CMC. Campur hingga homogen. Selanjutnya tambahkan aquades sampai volume 100 ml. Ditepatkan volume 100 ml dengan CMC Na 0,5 % (larutan uji 1 dengan dosis 1 mg /kg BB).
- 2) Ditimbang 10 mg (0,01 gram) ekstrak metanol kulit batang pohon dengan timbangan analitik, kemudian di masukkan aquades sedikit demi sedikit. Kemudian masukkan CMC Na, 0,5 % (500 mg = 0,5 gram) kedalam labu ukur sedikit demi sedikit agar ekstrak tersebut dapat larut dengan CMC. Campur hingga

homogen. Selanjutnya tambahkan aquades sampai volume 100 ml. Ditepatkan volume 100 ml dengan CMC Na 0,5 % (larutan uji 2 dengan dosis 10 mg /kg BB).

- 3) Ditimbang 100 mg (0,1 gram) ekstrak metanol kulit batang pohon dengan timbangan analitik, kemudian dimasukkan aquades sedikit demi sedikit. Kemudian masukkan CMC Na, 0,5 % (500 mg = 0,5 gram) kedalam labu ukur sedikit demi sedikit agar ekstrak tersebut dapat larut dengan CMC. Campur hingga homogen. Selanjutnya tambahkan aquades sampai volume 100 ml. Ditepatkan volume 100 ml dengan CMC Na 0,5 % (larutan uji 3 dengan dosis 100 mg /kg BB).
- 4) Ditimbang 200 mg (0,2 gram) ekstrak metanol kulit batang pohon dengan timbangan analitik, kemudian di masukkan aquades sedikit demi sedikit. Kemudian masukkan CMC Na, 0,5 % (500 mg = 0,5 gram) kedalam labu ukur sedikit demi sedikit agar ekstrak tersebut dapat larut dengan CMC. Campur hingga homogen. Selanjutnya tambahkan aquades sampai volume 100 ml. Ditepatkan volume 100 ml dengan CMC Na 0,5 % (larutan uji 4 dengan dosis 200 mg /kg BB).

Penyiapan kontrol negatif

Dalam penelitian ini digunakan kontrol negatif yaitu mencit yang diberikan infeksi *Plasmodium berghei* tapi tidak diberikan ekstrak (tidak diobati).

Penginfeksian *Plasmodium berghei* pada mencit donor

Penginfeksian mencit donor dengan simpanan beku *P. berghei* dilakukan secara intraperitoneal. *Plasmodium berghei* sebanyak 200 µl ke dalam tubuh mencit donor. Selanjutnya dilakukan pengamatan parasitemia setiap hari hingga mencapai >20% , kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil darah dari jantung mencit terinfeksi dan di masukkan kedalam tabung darah (botol heparing). Volume darah yang

telah di ambil tersebut dilarutkan dengan alceiver sehingga didapatkan persentase parasitemia sebesar 5%. Tiap mencit coba diberi 0,1 ml secara intraperitoneal.

Pengujian efektivitas anti malaria *in vivo*

Mencit coba diinfeksi sebanyak 200 μ l darah dari mencit donor. Pengamatan tingkat parasitemia dilakukan dengan cara sebagai berikut:

Darah diambil dari ekor mencit (ekor mencit dipotong \pm 1 mm), kemudian diletakkan di atas kaca objek. Namun, sebelum di buat apusan darah tipis, darah tersebut dibiarkan melebar ke kiri dan ke kanan sepanjang tepi gelas objek.

1. Selanjutnya kaca objek digesekkan ke arah depan sepanjang permukaan sediaan (preparat) lapisan darah tipis.
2. Setelah dibiarkan kering, preparat darah tersebut di fiksasi dengan metanol absolute selama 3 menit.
3. Preparat darah di warnai dengan larutan giemsa. Preparat ditetesi seluruhnya dengan larutan tersebut dan dibiarkan selama 45 menit.
4. Preparat dicuci dengan air mengalir (sudut 40°) dengan perlahan – lahan dan dikeringkan.
5. Preparat di periksa di bawah mikroskop setelah ditetesi dengan minyak imersi (pembesaran 10 x 100)
6. Dari pemeriksaan preparat apusan darah tipis tersebut akan terlihat darah yang telah terinfeksi parasit malaria.

Setelah diketahui persen parasitemia, maka di lanjutkan dengan pengujian efektifitas malaria dari ekstrak. Mencit uji yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan masing-masing kelompok I kontrol negatif, Kelompok II dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 1 mg/kg BB, kelompok III dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 10 mg/kg BB, kelompok IV dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 100 mg/kg BB dan kelompok V dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 200 mg/kg BB. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor (3 replikasi). Kelompok II, III, IV dan V diberikan ekstrak secara oral menggunakan

alat sonde dengan dosis yang ditentukan. Pemberian ekstrak dilakukan selama 4 hari berturut-turut dan pengamatan tingkat parasitemia dilakukan sampai hari ke 6 untuk melihat juga profil parasetemia sesudah pemberian obat. Pengambilan darah dari ekor mencit dilakukan setiap hari setelah perlakuan (D₀- D₆).

Analisa Data

Dari apusan darah tipis diamati jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit malaria tiap 5000 eritrosit (% parasitemia), kemudian dihitung % pertumbuhan terhadap kontrol negatif dan persen penghambatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Ekstrak Metanol Kulit Batang Pohon Pule

Sampel berupa kulit batang *Alstonia scholaris* L. R. Br. dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk kemudian diekstraksi sebanyak 100 gr dengan metanol 2 liter pada temperatur ruang. Teknik ekstraksi yang digunakan adalah maserasi atau perendaman. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang sangat mudah untuk dilakukan, tidak memerlukan waktu cukup lama dan hasil ekstraksi yang didapatkan juga banyak. Filtrat yang diperoleh ditampung, kemudian diulang sampai filtrat yang tertampung menjadi jernih, selanjutnya dikumpulkan dan diuapkan sampai kering dengan menggunakan penguap putar (rotavapor), sehingga diperoleh ekstrak pekat kulit batang pohon pule. Ekstrak pekat tersebut kemudian di larutkan dengan CMC Na 0,5% (*Carboxyl Methyl Celulase - Natrium*). Kemudian di uji aktifitas antimalaria secara *in vivo* pada mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei*.

Efektivitas Antimalaria Ekstrak Metanol Kulit Batang Pohon Pule Terhadap Pertumbuhan *Plasmodium berghei*

Berdasarkan data perhitungan rata-rata persen parasitemia pada hewan coba hari ke

0 (D₀) sampai ke 4 (D₄) saat pemberian ekstrak dan hari ke 5 (D₅) sampai ke 6 (D₆) saat pemberian ekstrak dihentikan (Lampiran 1) dapat ditentukan persen

parasitemia rata-rata ekstrak metanol kulit batang pohon pule yang dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata Persen parasitemia ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br)

Hari Pengukuran Parasitemia	200 mg/kg BB	100 mg/kg BB	10 mg/kg BB	1 mg/kg BB	Kontrol (-)	X ± SD
D ₀	1,66	1,81	1,56	0,98	2,34	1,67±0,49 ^a
D ₁	2,21	2,30	2,01	1,42	3,30	2,25±0,65 ^b
D ₂	2,64	3,19	2,63	1,87	4,87	3,04±1.05 ^c
D ₃	3,27	4,21	2,84	2,55	7,20	4,01±1.75 ^d
D ₄	4,56	4,87	3,18	3,93	8,53	5,01±1.93 ^e
D ₅	3,10	3,78	3,98	4,91	10,29	5,21±2.71 ^f
D ₆	1,80	1,98	4,31	5,12	12,82	5,20±4.17 ^g
(X ±SD)	2.75±0,96 ^k	3,16±1.13 ^l	2,93±0,95 ^m	2,97±1,61 ^m	7,05±3,63 ⁿ	

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata (P > 0,05).

D₀ – D₆ : Hari ke 0 sampai ke 6

K (-) : Kontrol negatif.

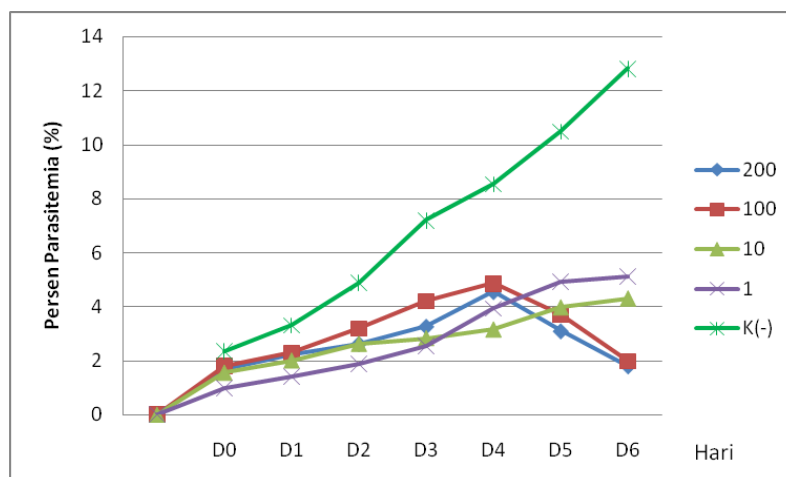
Rata-rata persen parasitemia mencit (*Mus musculus*) yang diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule selama 6 hari pengamatan menunjukkan bahwa untuk kelompok kontrol negatif sebesar 7,05±3,63, kelompok yang diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 1 mg/kg BB sebesar 2,97±1,61, kelompok yang diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 10 mg/kg BB sebesar 2,93±0,95, kelompok yang diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 100 mg/kg BB sebesar 3,16±1.13 dan kelompok yang diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 200 mg/kg BB sebesar 2.75±0,96. Rata-rata persen parasitemia mencit (*Mus musculus*) setelah pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule dengan dosis 1 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB selama 4 hari menunjukkan bahwa terjadi peningkatan persen parasitemia. Dapat dilihat pula dari rata-rata persen parasitemia mencit selama 6 hari pengamatan pada 5 dosis menunjukkan bahwa pada hari sebelum pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule sebesar 1,67±0,49, pemberian ekstrak metanol kulit

batang pohon pule pada hari ke 1 sebesar 2,25±0,65, hari ke 2 sebesar 3,04±1.05, pada hari ke 3 sebesar 4,01±1.75, pada hari ke 4 sebesar 5,01±1.93, pada hari ke 5 sebesar 5,21±2.71 dan pada hari ke 6 sebesar 5,20±4.17.

Berdasarkan hasil *Analisis Of Varian* (ANOVA) dua jalur dengan menggunakan program SPSS 16,0 (Lampiran 3) menunjukkan bahwa F hitung > F tabel, yang berarti bahwa ekstrak metanol kulit batang pohon pule berpengaruh terhadap persen parasitemia mencit (*Mus musculus*) yang terinfeksi *Plasmodium berghei*. Hasil uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule terhadap persen parasitemia mencit menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (diinfeksi *Plasmodium berghei* tapi tidak diberi ekstrak metanol kulit batang pohon pule) berbeda nyata dengan kelompok ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 1 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg kg BB. Kelompok ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 1

mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok ekstrak metanol kulit batang pohon pule 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB tetapi tidak berbeda nyata dengan ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 10 mg/kg BB. Kelompok ekstrak metanol kuli batang pohon pule dosis 10 mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok ekstrak metnol kulit batang pohon pule dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 1 mg/kg BB. Kelompok ekstrak metanol kuli batang pohon pule dosis 100 mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 200 mg/kg BB. Pada waktu pengamatan terlihat bahwa sebelum pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule berbeda nyata dengan pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule pada hari ke 1, hari ke 2, hari ke

3, hari ke 4, hari ke 5 dan hari ke 6. Pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule pada hari ke 1 berbeda nyata dengan hari ke 2, hari ke 3, hari ke 4, hari ke 5 dan hari ke 6. Pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule pada hari ke 2 berbeda nyata dengan hari ke 3, hari ke 4, hari ke 5 dan hari ke 6. Pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule pada hari ke 3 berbeda nyata dengan hari ke 4, hari ke 5 dan hari ke 6. Pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule pada hari ke 4 berbeda nyata dengan hari ke 5 dan hari ke 6. Begitu juga dengan pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule pada hari ke 5 berbeda nyata dengan hari ke 6. Untuk lebih jelas, hubungan persen parasitemia dengan dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik persen parasitemia mencit (*Mus musculus*) dengan dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule.

Berdasarkan grafik pada Gambar 1 menunjukkan bahwa semua kelompok mencit yang diberi ekstrak metanol kulit batang ekstrak, persen parasitemianya lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Terlihat pula bahwa pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 200 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB pada hari ke 5 dan ke 6 terjadi

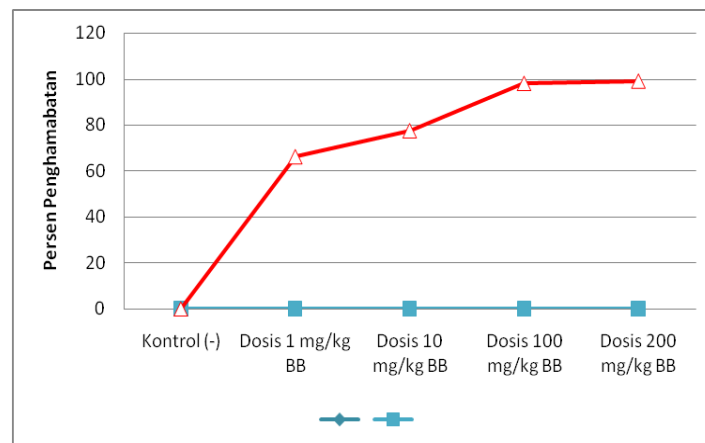
penurunan persen parasitemia mencit. Selanjutnya berdasarkan pertumbuhan rata-rata parasit dari hari ke 0 (D_0) sampai ke 4 (D_4) dihitung persen hambatan ekstrak metanol kulit batang pohon pule terhadap pertumbuhan parasit malaria. Hasil perhitungan tersebut dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Persen Penghambatan Ekstrak Metanol Kulit Batang Pohon Pule Terhadap Pertumbuhan *P. Berghei*.

Dosis ekstrak	% Rerata Pertumbuhan	% Penghambatan
Kontrol (-)	2,04	-
1 mg/kg BB	0,69	66,18
10 mg/kg BB	0,46	77,46
100 mg/kg BB	0,04	98,04
200 mg/kg BB	0,02	99,02

Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa hambatan terbesar pertumbuhan parasit adalah pada ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 200 mg/kg BB adalah sebesar 99,02%, selanjutnya pada dosis 100 mg/kg BB sebesar 98,04%, 10 mg/kg BB sebesar 77,46% dan 1 mg/kg BB sebesar

66,18%. Hambatan terhadap pertumbuhan parasit sebanding dengan dosis yang diberikan (*dose dependent*). Hubungan dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule dengan persen penghambatan parasitemia mencit dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Metanol Kulit Batang Pohon Pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) Dengan Persen Penghambatan Parasitemia Mencit.

Data persen penghambatan dari setiap dosis uji efektivitas antimalaria terhadap *P. berghei*, kemudian dianalisa dengan menggunakan program probit dan diperoleh ED_{50} dari ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) sebesar 0,234 mg/kg BB (Lampiran 4). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 0,234 mg/kg BB senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak metanol kulit batang pohon pule mampu menurunkan 50% pertumbuhan parasit malaria.

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak metanol kulit batang pohon

pule memiliki potensi yang tinggi untuk menghambat pertumbuhan parasit malaria ($ED_{50} = 0,234$ mg/kg BB). Pendapat ini sesuai dengan Fidock (2004) yang menyatakan bahwa suatu ekstrak bahan tanaman yang memiliki potensial yang tinggi untuk menghambat pertumbuhan parasit malaria, apabila dosis efektifnya (*Effective Dose : ED*) terhadap 50 % parasit (ED_{50}) lebih kecil dari 50 mg/kg BB hewan coba.

Pembahasan

Hasil uji antiplasmodium secara *in vivo* ekstrak metanol kulit batang pohon pule menunjukkan efek antiplasmodium terhadap

infeksi *Plasmodium berghei*. Efek antimalaria yang ditimbulkan ini, diduga karena senyawa aktif yang terkandung di dalam kulit batang pohon pule yaitu flavonoid, saponin dan polifenol merupakan senyawa kimia yang mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Pendapat ini sesuai dengan Anonim^b, (2011) yang menyatakan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, polifenol dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria. Aktivitas antimalaria senyawa-senyawa flavonoid dari kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng) yaitu artoindonesianin E, heteroflavanon C, artoindonesianin R, heterofillin, artoindonesianin A-2, sikloheterofillin, dan artonin A dan dua senyawa baru (5,7,2',5'-tetrahidroksi-4'-metoksi-3-prenilflavon dan 5,7,2',4'-tetrahidroksi-8-prenilfuranodihidrobenzosanton yang masing-masing diberi nama artokarpon A dan B terhadap *P. falciparum* 3D7 *in vitro* menunjukkan bahwa seluruh senyawa tersebut menghambat pertumbuhan parasit secara bermakna, kecuali senyawa artoindonesianin E ($IC_{50} = 75,76 \mu M$). Begitu juga morakhalkon suatu flavonoid yang diisolasi kulit batang *Artocarpus champeden* juga memiliki potensi antimalaria yang tinggi ($IC_{50} = 0,836 \mu M$) (Nindatu, 2007). Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya untuk mengetahui efektivitas antimalaria terkait dengan adanya senyawa-senyawa kimia yaitu oleh Utomo (1999), memperlihatkan adanya efektivitas flavonoid pada kulit batang *Artocarpus champeden* dengan menggunakan ekstrak metanol yang dilakukan secara *in vivo* terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei*, diperoleh ED_{50} sebesar 6,419 mg/kg BB.

Penelitian yang dilakukan oleh Utomo, dkk. (2003) dan Hidayati, dkk. (2004) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi kloroform dari kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden*) mempunyai aktivitas antimalaria pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan ED_{50} fraksi

kloroform kulit batang cempedak (*A. champeden* Spreng) sebesar 0,36479 mg/kg BB. Penelitian yang memperlihatkan adanya efektivitas alkaloid dan juga flavonoid dari *Carica papaya* L dengan menggunakan ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan etanol terhadap pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo*. Dan dari hasil penelitian diperoleh nilai IC_{50} dari ekstrak n-heksana, kloroform, etilasetat dan etanol dari daun pepaya berturut-turut sebesar 278,6 g/ml BB, 183,5 g/ml BB, 992,2 g/ml BB, 45,1 g/ml BB (Arenawati, 2006). Penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak tanaman sambiloto mempunyai aktivitas antimalaria dengan cara menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum in vitro* (Suyanto, 1995; Widyawaruyanti, dkk, 1995; Rahman et al, 1999). Uji *in vivo* dari ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap *Plasmodium berghei* pada mencit juga menunjukkan aktivitas antimalaria (Rahman et al, 1999). Sedangkan pada penelitian yang terbaru dilaporkan bahwa isolat andrografolida menghambat 50% pertumbuhan *Plasmodium berghei* (ED_{50}) secara *in vivo* sebesar 3,6 mg/kg BB (Widyawaruyanti dkk, 2003). Hasil penelitian ini (Gambar 1) menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule yang tinggi (200 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB) pada hari ke 1 sampai hari ke 4, belum terjadi penurunan persen parasitemia, tetapi setelah pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule dihentikan pada hari ke 4, persen parasitemia pada hari ke 5 – 6 terjadi penurunan. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang pohon pule menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada fase skizon, sehingga skizon tidak dapat menghasilkan merozoit-merozoit untuk menginfeksi eritrosit. Mekanisme kerja tubuh terhadap parasit malaria sangat kompleks, karena melibatkan hampir semua komponen imun, baik imunitas yang timbul secara alami maupun didapat, karena adanya infeksi yang spesifik maupun non spesifik, humoral maupun seluler. Adanya toksin malaria yang dominan berupa GPI (*Glucose*

Phosphate Isomerase), merupakan komponen dari protein membran *Plasmodium* yang dapat mengaktifkan makrofag dan endotelium vaskuler, dalam merangsang TNF- α , IL-1, NO dan ekspresi ICAM (*Inter-Cellular Adhesion Molecule*) yang mengakibatkan timbulnya berbagai mekanisme patogenesis malaria (Enger, 2001). Kadar TNF- α mempunyai implikasi terhadap patogenesis malaria dengan komplikasi. Korelasi yang positif ditemukan antara kadar TNF- α dengan malaria yang berat. *Interleukin 10* (IL-10) bersifat *imunopresor* yang kuat pada malaria dan bekerja mengurangi respon *imunoproliferatif* dan inflamasi (Nyangoto, 2005). Efek peningkatan TNF- α pada malaria mencakup juga pelepasan radikal bebas dan NO serta meningkatkan fagositosis oleh makrofag dan netrofil. *Tumor Necrosis Factor alfa* (TNF- α) dapat merangsang netrofil untuk menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar sebagai respon terhadap parasit. Radikal oksigen bebas berupa superoksida (O₂), hydrogen peroksida (H₂O₂) dan radikal hidroksi (OH) yang dapat meningkatkan penghancuran makromolekul seluler dan lipid. Radikal oksida bersama-sama dengan INOS (*Inducible Nitric Oxide Synthase*) dapat melakukan oksidasi fagosit yang dalam fagosom asidik menghasilkan radikal peroksinitrit yang sangat reaktif dan dapat membunuh parasit (Abbas *et al.*, 2000).

Pada penelitian ini, hasil perhitungan persen penghambatan parasitemia pada dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 1 mg/kg BB menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 66,18%, dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 10 mg/kg BB dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 77,46 %, dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 100 mg/kg BB dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 98,04% dan dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 200 mg/kg BB berhasil menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 99,02%. Hasil

analisis probit (Lampiran 4) menunjukkan bahwa ED₅₀ ekstrak metanol kulit batang pohon pule yang menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* adalah sebesar 0,234 mg/kg BB.

Ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 200 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB pada hari ke 5 dan 6 dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* dengan menurunkan persen parasitemia. Pada dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule 10 mg/kg BB dan 1 mg/kg BB, tidak dapat menurunkan persen parasitemia mencit. Hal tersebut disebabkan karena dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule yang diberikan kepada mencit yang terinfeksi malaria *Plasmodium berghei* masih rendah, sehingga dosis ekstrak metanol kulit batang pohon pule tersebut tidak dapat menurunkan persen parasitemia mencit. Penurunan persen parasitemia pada hari ke 6 ketika pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule dosis 100 mg/kg BB mencapai 1,98 % dan dosis 200 mg/kg BB mencapai 1,80 % dianggap tidak dapat meningkatkan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *Plasmodium berghei*, karena menurut Dewi *et al.*, (1996), angka parasitemia yang dianggap positif jika mempunyai angka parasitemia minimal 2-3%. Oleh sebab itu, jumlah sel darah merah yang terinfeksi oleh *Plasmodium berghei* tidak bertumbuh lagi tanpa adanya pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon pule.

Menurut Keyser *at al.*, (2000) tiap bahan atau obat antimalaria mempunyai mekanisme penghambatan yang spesifik, begitu pula senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan. Dari beberapa tumbuhan yang telah berhasil diisolasi senyawa bioaktifnya terhadap *Plasmodium falciparum in vitro* atau *Plasmodium berghei in vivo* diketahui bahwa senyawa golongan alkaloid, terpenoid, kumarin dan lignan, antranoid, khalkon dan flavanoid mempunyai aktivitas sebagai antimalaria.

Peran senyawa flavonoid dalam menghambat pertumbuhan parasit malaria telah terbukti pada beberapa tanaman obat

antimalaria. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, buah, ranting, akar dan bunga. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti-inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik. Dalam beberapa kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Selain itu, flavonoid juga berperan dalam pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit lain, salah satu diantaranya adalah penyakit malaria (Resi, dkk 2009).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) dapat

menurunkan persen parasitemia mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. Masing-masing untuk dosis 1 mg/kg BB sebesar 66,18%, dosis 10 mg/kg BB sebesar 77,46%, dosis 100 mg/kg BB sebesar 98,04% dan dosis 200 mg/kg BB sebesar 99,02%.

2. Ekstrak metanol kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. B. Br) mempunyai efek antimalaria terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* ANKA secara *in vivo* dengan ED₅₀ sebesar 0,234 mg/kg BB mencit.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi ekstrak air kulit batang pohon pule secara rebusan dan infusa serta isolasi senyawa aktif antimalaria yang lebih murni dari ekstrak ekstrak kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. B. Br).
2. Kulit batang pohon pule (*Alstonia scholaris* L. R. Br) dapat digunakan sebagai obat antimalaria oleh masyarakat setelah uji klinis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Litchman HJ, Pober S: *Cellular and Molecular Immunology*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 2000, 240 – 7.
- Anonim, 2005. *Malaria penyakit berbahaya*. (<http://kesehatanlingkungan.wordpress.com/penyakit-menular/malaria-terbesar>). Diakses tanggal 6 Desember 2005.
- Anonim^b, 2011. *Manfaat Pohon Pule (Alstonia scholaris L. R. Br.) sebagai obat herbal*. <http://kristantonarayana.blogspot.com/2011/01/manfaat-pohon-pule-alstonia-scholaris-l.html>. akses hari selasa, 09 Agustus 2011. Pukul 22.39.
- Burke, E., Deasy, J. Hasson, R McCormack, K. Randhawa, V. Walsh,

- P. 2003. *Antimalarial Drug From Nature*. J. Trinity Student mod.
- Dewi, R. M., R. P. Jekti dan A. Harijani. 1996. *Keadaan hematologi mencit yang diinfeksi dengan Plasmodium berghei*. *Cermin Dunia Kedokteran* 106: 37 – 39
- Enger, H. *Malaria medical research Laboratory of Malaria and Immunology*, 2001 Melbourne, Australia, Available from <http://www.malaria.org/whatismalaria.html>, June 4, 2001
- Fidock, D.A., Rosenthal, P.J., Croft, S.L., Brun R., Nwaka S., 2004. *Antimalaria Drug Discovery : Efficacy Models for Compound Screening*, Review, *Nature* 3 (Juni) : 509-520

- Nindatu, M., Widyawaruyanti, A., Syafruddin, D., Dachlan, J.P., Zaini, N.C., 2007. *Efek antimalaria fraksi Flavonoid Ekstrak metanol kulit batang cempedak (Artocarpus champeden) terhadap Plasmodium falciparum in vitro*. Majalah Kedokteran Tropis Indonesia 18 (3) :12-19
- Philipson, J.D & Wright, C. W, 1991. *Antiprotozoal Agent Plant Sources*. Plant Medica. Hal 53-59.
- Resi, A. W., Andis, S. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin)*. Program S2 Kimia FMIPA. Universitas Hassanudin ; 2009
- Saxena, S., Pant, N. Jain, D.C Bhakuni, R.S, 2003. *Antimalarial Agent From Plant Sources*. Hal 1314-1329.
- Siswandono & Soekardjo., B, 2000. *Kimia medisinal*. Edisi 2. Airlangga University, Surabaya. Hal 84-86
- Sjafruddin D., Siregara., J.E, Asib, P.B.S, 2004. *Antimalarial Drug Resistance In Indonesia, A molecular analysis, symposium of malaria control in Indonesia, Proceeding*. TDC Airlangga University Surabaya.
- Tri., D. 2004. *Bahan Pangan*. (http://www.iptek/ind/pustaka_pangan/index.php?mnu=2&ch=puspa&id=57&hal=1) Di akses Mei 2008.
- Wijayanti, M.A., Sholihah, E.N., Tahir, M., Hadanu, R., Jumina, Supargiyono, and Mustofa, 2006, *Antiplasmodial Activity and Acute Toxicity of Nalkyl and N-benzyl-1,10- Phenanthroline Derivates in Mouse Malaria Model*, Journal of Health Science, 52 (6), 794-799.