

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 3
NOMOR 2
AGUSTUS 2005
ISSN: 1693-2242**

PENERBIT:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126
Tel. & Fax. +62-271-663375
E-mail: unsjournals@yahoo.com
Online: www.unsjournals.com

TERBIT PERTAMA TAHUN:

2003

ISSN:

1693-2242

PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:

S u t a r n o

SEKRETARIS REDAKSI:

Ahmad Dwi Setyawan

PENYUNTING PELAKSANA:

Djoko Santoso
Ratna Setyaningsih
Solichatun
Suratman
Soerya Dewi Marliana
Tetri Widiyani
Venty Suryanti

PENYUNTING AHLI:

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongsong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

Perbandingan Komposisi Kimia Minyak Atsiri Dua Jenis Kunci Pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe. dan *K. rotunda* Linn.)

Comparision of volatile oil constiuen of two species of kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe. and *K. rotunda* Linn.)

SRI BUDI SULIANTI^{1,*}, SOFNIE M. CHAIRUL^{2,**}

¹ Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16122.

² Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN), Jakarta Selatan 12070.

* Korespondensi: Jl. Ir. Juanda 22, Bogor 16122. Tel. & Fax.: +62-251-324616. e-mail: herbogor@indo.net.id

** Korespondensi: Jl. Cinere Raya, Pasar Jum'at Jakarta Selatan 12070. Tel. & Fax.: +62-21-7690709. e-mail: sofniechairul@hotmail.com

Diterima: 17 Mei 2005. Disetujui: 15 Juni 2005.

Abstract. Two species of kunci pepet, i.e. *K. angustifolia* and *K. rotunda* (Zingiberaceae), had different aromas. We had been analyzed volatile oils of two species by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The volatile oils had been got by water-steam distillation. The GC chromatograms of *K. angustifolia* showed 16 compounds, 5 compounds of them was main compounds, i.e. cycloproazulene (21.86%), alloaromadendrene (20.79%), cyclopropanaphtalene (11.02%), (-)- β -elemenene (16.00%), caryophyllene (16.00%), and isobornyl acetate (11.02%). The GC chromatograms of *K. rotunda* showed 10 compounds, 2 compounds of them was main compound, i.e. tetradecane (26.85%) and benzylbenzoic (55.46%). Based on chemical constituent of volatile oils, the two species of *Kaempferia* had similarity of 25.00-37.50%. Alloaromadendrene of *K. angustifolia* and benzylbenzoic of *K. rotunda* could be used to distinguish the two species of *Kaempferia*.

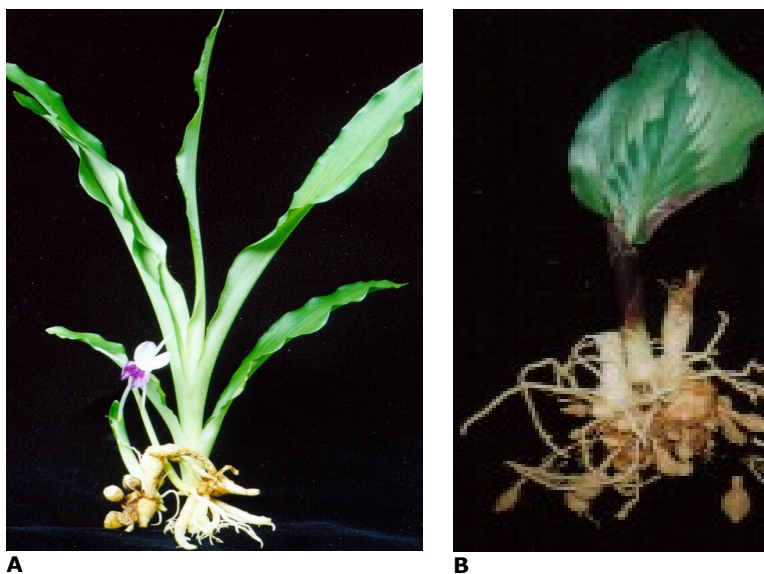
Key words: Zingiberaceae, *Kaempferia angustifolia* Roscoe., *Kaempferia rotunda* Linn., volatile oil, chemical constituent.

PENDAHULUAN

Kunci pepet (*K. angustifolia* Roscoe) dikenal dengan nama lokal/daerah lainnya yaitu kunci menir atau kunci kunut (Heyne 1987; Darwis dkk., 1991), dan sering dirancu dengan *K. rotunda* Linn., yang biasa disebut kunir putih atau andong (Sastrapradja, 1977). Sebutan istilah "kunci pepet" yang diberikan pada kedua jenis tanaman tersebut juga diungkapkan oleh Burkill (1935), Perry (1980) dan Padua dkk. (1999). Hal ini membuat orang awam sering kebingungan dan salah paham. Kedua jenis tanaman tersebut jauh berbeda baik dari morfologis perawakan tanaman maupun bentuk serta ukuran daun, demikian pula bentuk serta ukuran rimpangnya (Backer dan Bakhuizen v.d. Brink, 1968). Menurut Riswan (2001) kedua jenis *Kaempferia* ini secara taksonomi memang jelas berbeda. Profil tanaman *K. angustifolia* Roscoe dan *K. rotunda* Linn. (Gambar 1.).

Kedua jenis *Kaempferia* ini sering digunakan sebagai bahan obat tradisional (Quisumbing, 1951; Darwis dkk., 1991). Pemanfaatan serta khasiat rimpang kunci menir (*K. angustifolia*) untuk astringen, karminativum, mengobati penyakit disentri, dan diare. Umbi-umbi samping dari rimpang yang berbentuk gada mempunyai khasiat dapat menyerap panas badan pada saat demam

(Heyne, 1987; Padua dkk., 1999). Di Bengkulu India rimpangnya digunakan untuk mengobati penyakit pada ternak (Darwis dkk., 1991). Daun serta rimpang tanaman yang masih muda dapat dimakan mentah sebagai lalap atau dimasak terlebih dahulu. Tepung dari rimpangnya dapat digunakan untuk bahan kosmetik. Rimpang digunakan untuk insektisida untuk bahan pakaian dan berkhasiat sebagai obat penenang (Riswan, 2001). Sebagai obat luar rimpang biasanya dibuat salep dicampur dengan minyak kelapa dan digunakan untuk mengobati luka dan penyakit kulit atau digunakan untuk balur pada bagian badan yang bengkak-bengkak. Rimpangnya juga berkhasiat untuk menurunkan panas badan pada waktu demam, obat gangguan pencernaan, obat sakit perut, radang tenggorokan dan dapat untuk peluruh lendir serta peluruh muntah, dan dapat menambah nafsu makan (Burkill, 1935; Quisumbing, 1951; Heyne, 1987). Dilaporkan juga fraksi tidak larut dalam air dari infusa daun *K. angustifolia* mempunyai efek oksitosik (meningkatkan kontraksi rahim) terhadap uterus marmot. Kedua jenis kunci ini karena mempunyai penampilan yang cukup eksotik sering dimanfaatkan sebagai tanaman hias dan telah dibudidayakan baik sebagai tanaman hias maupun sebagai tanaman obat (Riswan, 2001).



Gambar 1. Profil tanaman *K. angustifolia* Roscoe (A) dan *K. rotunda* Linn. (B).

Seperti halnya keluarga temu-temuan lainnya (Zingiberaceae) kedua jenis *Kaempferia* ini mempunyai kandungan minyak atsiri atau minyak terbang. Minyak atsiri merupakan senyawa kimia aromatika yang dihasilkan oleh bagian tertentu dari suatu tanaman yang sifatnya mudah menguap (Tyler dkk., 1988). Kandungan minyak atsiri *K. rotunda* telah diteliti oleh beberapa peneliti, tetapi beberapa penelitian menunjukkan bahwa komposisi kimia penyusun minyak atsirinya berbeda sangat signifikan (Agusta, 2000; Sofnie, 2003; Windono dkk., 2003), sehingga perlu dikaji ulang, sedangkan komposisi kimia penyusun minyak atsiri *K. angustifolia* belum banyak diteliti. Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan komponen kimia penyusun minyak atsiri dari rimpang kedua jenis tanaman ini (kunci menir dan kunci pepet), karena secara taksonomi kedua jenis tanaman tersebut masih termasuk dalam satu marga tetapi berbeda jenis.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan penelitian berupa rimpang dari *K. angustifolia* dan *K. rotunda* diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu-Surakarta. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriensis (BO) dan spesimen yang sama disimpan di BO.

Alat yang digunakan antara lain, seperangkat alat penyulingan minyak atsiri secara tidak langsung yang terbuat dari kaca, gelas ukur 10 mL, corong pisah 50 mL, botol coklat 5 mL, alat suntik 1 μ L (Hamilton), kolom kapiler CBP 20 (Shimadzu, panjang 50 m, $\varnothing$ 0,22 mm) dan GC-MS (Shimadzu QP 5000).

Cara kerja

Masing-masing rimpang dari kedua jenis *Kaempferia* yang diteliti dicuci bersih dan diiris-iris, kemudian dikering anginkan. Setelah kering dibuat serbuk dengan ukuran 8 mesh. Sebanyak 1 kg dari masing serbuk dilakukan distilasi uap air secara tidak langsung, filtrat ditampung dengan gelas ukur 10 mL, kemudian filtrat yang diperoleh dipisahkan minyak atsirinya dengan menggunakan corong pisah 50 mL. Minyak atsiri yang diperoleh dibebaskan dengan magnesium sulfat ($MgSO_4$). Minyak atsiri dipisahkan dari $MgSO_4$ dan dimasukkan ke dalam botol coklat untuk selanjutnya dianalisis komponen kimianya dengan GC-MS.

Minyak atsiri yang diperoleh, dianalisis komponen kimia penyusunnya dengan menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) dengan volume sampel yang diinjeksikan 0,1 μ L, kolom yang digunakan adalah CBP 20 (Shimadzu) dengan panjang 50 m dan diameter 0,22 mm, sebagai gas pembawa dipakai helium (He), tekanan pada kolom sebesar 50 Kpa, suhu injektor 150°C, suhu awal 50°C selama 2 menit dengan kenaikan Suhu 2°C/menit, suhu akhir 200°C selama 13 menit, suhu detektor 250°C dan detektor digunakan adalah Electron Impact (EI) dengan energi 1,50 KV (kondisi GC-MS). Spektrum massa dari masing-masing puncak senyawa yang terdeteksi pada kromatogram dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang telah diketahui yang terdapat pada bank data NIST-62 Library (62.000 entries).

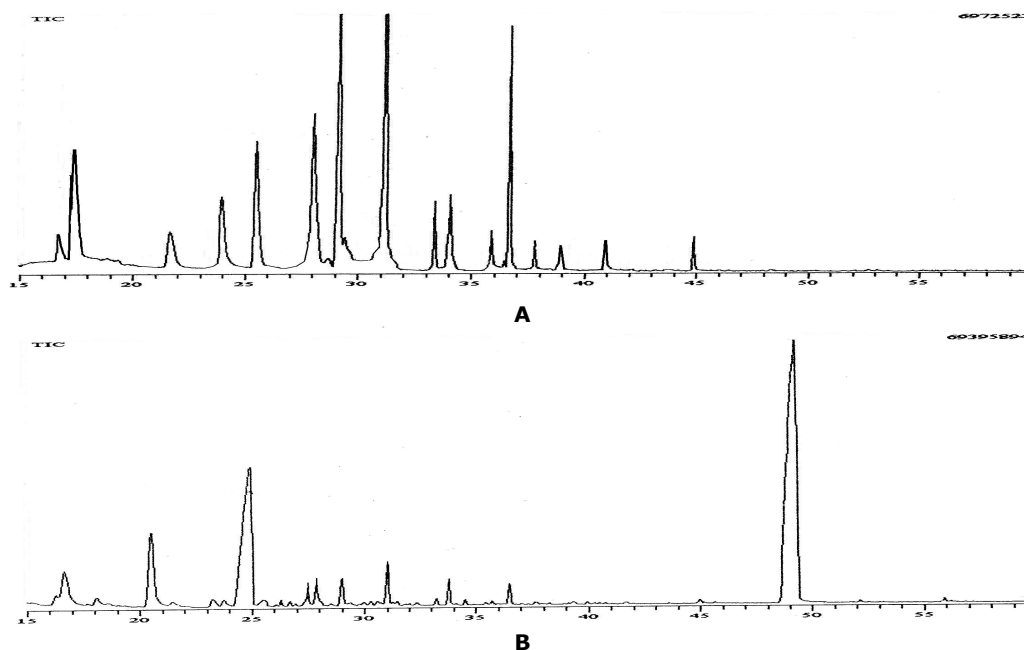
KONDISI GC-MS:

Merek GC : Shimadzu QP 5000
 Volume sampel : 0,1 μ L
 Kolom : CBP 20 (Shimadzu) panjang 50 m, $\varnothing$ 0,22 mm)
 Gas pembawa : Helium
 Tekanan kolom : 50 Kpa
 Suhu injektor : 150°C
 Suhu awal : 50°C selama 2 menit
 Kenaikan suhu : 2°C/ menit
 Suhu akhir : 200°C selama 13 menit
 Suhu detektor : 250°C
 Detektor : Electron Impact (EI)
 Energi : 1,50 KV

200°C, 13 menit
 2°C/min
 50°C, 2 menit

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kromatogram GC menunjukkan bahwa komponen penyusun minyak atsiri *K. angustifolia* lebih banyak dibandingkan *K. rotunda*. Minyak atsiri *K. angustifolia* disusun oleh 16 komponen kimia dan 5 senyawa merupakan komponen utama antara lain, sikloproazulena (21,86%), alloaromadendrena (20,79%), siklopropnaftalena (11,02%), (-) β -



Gambar 2. Profil kromatogram GC dari minyak atsiri *K. angustifolia* Roscoe (A) dan *K. rotunda* Linn. (B).

elemenena (16,00%), kariofilena (16,00%) dan Isobornil asetat (11,02%), sedangkan 10 komponen lainnya merupakan senyawa minor dengan kadar 1,21-8,15%. Komposisi komponen kimia dari minyak atsiri *K. rotunda* terdiri dari 11 senyawa dan terdapat 2 senyawa sebagai komponen utama, yaitu: benzil benzoat (30,61%) dan siklopropazulen (26,85%), dan sisanya adalah komponen minor dengan kadar 0,88-7,94%. Profil kromatogram GC dari minyak atsiri *K. angustifolia* Roscoe dan *K. rotunda* Linn., ditunjukkan pada Gambar 2. sedangkan komposisi-kimposisi kimia penyusun minyak atsiri *K. angustifolia* Roscoe dan *K. rotunda* Linn. (Tabel 1.).

Tabel 1. Komposisi komponen kimia penyusun minyak atsiri *K. angustifolia* Roscoe dan *K. rotunda* Linn.

No	Komponen kimia	Formula	BM	<i>K. angustifolia</i>	<i>K. rotunda</i>
1	Isoborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1,21	3,78
2	α - fensilasetat	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	8,15	7,94
3	Isobornil asetat	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	11,02	5,46
4	(-) β -elemenena	C ₁₅ H ₂₄	204	16,00	-
5	Elemenena	C ₁₅ H ₂₄	204	8,15	-
6	kariofilena	C ₁₅ H ₂₄	204	16,00	-
7	Isokariofilena	C ₁₅ H ₂₄	204	2,17	-
8	siklopropazulen	C ₁₅ H ₂₄	204	21,86	26,85
9	Alloaromadenrena	C ₁₅ H ₂₄	204	20,79	-
10	Siklopronaftalena	C ₁₅ H ₂₄	204	11,02	-
11	Kopaena	C ₁₅ H ₂₄	204	3,82	1,35
12	(-) β -sedrena	C ₁₅ H ₂₄	204	2,15	-
13	Akora diena	C ₁₅ H ₂₄	204	3,02	-
14	(+) ledena	C ₁₅ H ₂₄	204	2,46	-
15	Pathchoulena	C ₁₅ H ₂₆	206	1,21	0,88
16	Ledena	C ₁₅ H ₂₆	206	2,46	-
17	Benzilbenzoat	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	196	-	30,61
18	Benzosikloheptana	C ₁₅ H ₂₄	204	-	5,46
19	DL kamfora	C ₁₀ H ₁₆ O	152	-	4,35
20	β -linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	3,57

Beberapa penelitian dan sumber pustaka menunjukkan adanya perbedaan pendapat yang sangat signifikan tentang hasil analisis komponen kimia penyusun minyak atsiri *K. Rotunda* terutama senyawa minornya, walaupun komponen utamanya sama, yaitu: benzil benzoat. Dengan demikian penelitian terhadap komponen kimia penyusun minyak atsiri *K. rotunda* ini merupakan kaji ulang, tetapi hasil yang diperoleh juga menunjukkan perbedaan yang signifikan. Menurut Agusta (2000) minyak atsiri *K. Rotunda* terdiri dari 8 komponen kimia, yaitu: benzil benzoat (30,61%), 3-metil-4-heptana (21,29%), 2-butil-1-oktanol (23,17%), isooktil vinil eter (11,31%), DL kamfora (4,35%), β -linalool (3,57%), 4-metil-1-(1-metil)-bisiklo 3,1,0 heksan-3-ol (3,26%) dan satu senyawa tidak teridentifikasi (2,41%). Sofnie (2003) melaporkan bahwa komponen kimia penyusun minyak atsiri *K. Rotunda*, yaitu: benzil benzoat (55,46%), tetradekena (26,85%), isobornil asetat (7,94%), isoborneol (3,70%), guaena (1,06%), kopaena (1,35%), β -guaena (1,87%), mayuron (0,88%) dan patchulan (0,91%), sedangkan menurut Tri Windono dkk. (2003) komposisi kimia minyak atsiri *K. Rotunda* antara lain: benzil benzoat, *n*-pentakana, kamfen, heptadekana, linalool, kamfora, bornil asetat, α -pinen, benzaldehida, benzil salisilat. Pustaka lain menyatakan komponen minyak atsiri *K. Rotunda* antara lain, sineol, kampor dan karveol (Burkill, 1935; Quisumbing, 1951; Darwis dkk., 1991). Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor antara lain, 1). Adanya perbedaan jenis atau varietas dari *K. Rotunda* tersebut, 2). Faktor habitat dari *K. Rotunda* yang dijadikan bahan penelitian, 3). Proses perolehan dari minyak atsirinya, 4). Ukuran partikel/bahan (mesh) dan 5). Interpretasi data yang diperoleh karena senyawa

minyak atsiri merupakan senyawa turunan mono dan seskuiterpena yang mempunyai perbedaan spektrum massa yang relatif sangat kecil.

Hasil analisis GC-MS dari kedua jenis *Kaempferia* yang diteliti dapat dikatakan bahwa keduanya tidaklah sama, baik secara morfologi maupun secara kimiawinya. Secara kimiawi berdasarkan komposisi kimia penyusun minyak atsirinya maka dapat diketahui kedekatan kedua jenis satu sama lainnya berkisar antara 25,00-37,50%. Berdasarkan deskripsi Riswan (2001) terhadap kedua jenis *Kaempferia* ini dan hasil analisis GC-MS terhadap komponen penyusun minyak atsirinya maka nama lokal "kunci pepet" untuk *K. angustifolia* tidaklah tepat. Melihat bentuk morfologi rimpangnya maka nama lokal yang tepat untuk disarankan *K. angustifolia* adalah "kunci menir".

KESIMPULAN

Komponen kimia penyusun minyak atsiri *K. angustifolia* lebih banyak dibandingkan *K. rotunda*. Pada minyak atsiri *K. angustifolia* terdapat 5 senyawa komponen utama, yaitu: sikloproazulena (21,86%), alloaromadendrena (20,79%), siklopropnaftalena (11,02%), (-)- β -elemenena (16,00%), kariofilena (16,00%) dan Isobornil asetat (11,02%), sedangkan pada *K. rotunda* terdapat 2 senyawa komponen utama, yaitu: benzil benzoat (30,61%) dan siklopropazulen (26,85%). Senyawa pembeda untuk identifikasi dari *K. angustifolia* adalah, alloaromadendren, sedangkan pada *K. rotunda* adalah, benzilbenzoat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Backer, C.A., and R.C. Bakhuizen v.d. Brink. 1968. *Flora of Java*, Vol. II, Groningen: Wolters Nordhoff, N.V.
- Burkill, I.H. 1935. *A Dictionary of The Economic Product of The Malay Peninsula*, Vol. II. London: Crown Agent for the Colonies.
- Darwis S.N., A.B.D. Madjo Indo, dan S. Hasisyah. 1991. *Tumbuhan Obat Famili Zingiberaceae*. Bogor: Badan Litbang Pertanian.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Vol. I. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Padua, L.S. de., N. Bunyaphratharsa, and R.H.M.J. Lemmens. 1999. *Plant Resources of South-East Asia*, Vol. 12 (1), *Medicinal and Poisonous Plants I*. Bogor: PROSEA.
- Perry, L.M. 1980. *Medicinal Plant of East and Southeast Asia*. Cambridge: MIT Press.
- Quisumbing, E. 1951. *Medicinal Plants of the Philippines*. Manila: Bureau of Printing Manila.
- Riswan, S. 2001. Taxonomy of "kunci pepet" (*K. rotunda* L and *K. angustifolia* Rosc.) Zingiberaceae. *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat XVII*. Bandung: Puslibang Kimia Terapan LIPI.
- Sastrapradja, S. 1977. *Ubi-Ubian*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- Sofnie, M.C. 2003. Analisis kandungan kimia penyusun minyak atsiri kunci pepet (*Kaempferia rotunda* Linn.) dengan GC-MS. *Simposium XI dan Muktamar X PERHIPBA*, Bandung, 16-17 Oktober 2003.
- Windono, T., H. Woerdenbag, R. Bos, dan W.J. Quax. 2003. Analisis kandungan kimia penyusun minyak atsiri kunci pepet (*Kaempferia rotunda* L.). *Simposium XI dan Muktamar X PERHIPBA*. Bandung, 16-17 Oktober 2003.
- Tyler, V.E., L.R. Brady, and J.E. Robers. 1988. *The Pharmacognosy*. 9th ed. Philadelphia: Lea & Febringer.

Isolasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kloroform Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) dengan Bioautografi

Isolation of antibacterial compounds from chloroform extract of neem (Azadirachta indica A. Juss.) leaves guided by bioautography

DWI APRISTIANI, PUJI ASTUTI*

Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta 55281

* Korespondensi: Jl. Sekip Utara Yogyakarta 55281. Tel. +62-274-902568. Fax.: +62-274-543120. email: p.astuti@gmail.com

Diterima: 22 Maret 2005. Disetujui: 15 Juni 2005.

Abstract. Neem leaves (*Azadirachta indica* A. Juss.) have been traditionally used as antibacterial agent for a long time. Former research mentioned that neem leaves were proven to have antibacterial activity. This study was aimed to isolate antibacterial components in the chloroform extract of neem leaves guided by bioautography. Neem leaves were extracted by maceration technique. Antibacterial testing of chloroform extract was conducted by agar dilution method. Chloroform extract at the concentration of 1000 µg/mL inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* but not *Escherichia coli*. The extract was then fractionated by Vacuum Liquid Chromatography (VLC) method, and the fractions obtained were tested for antibacterial activity. The mixture of 2 and 3 fractions which was eluted with n-hexane: ethyl acetate = 9:1 (v/v) and n-hexane: ethyl acetate = 5:1 (v/v) inhibited the growth of *S. aureus* at the concentration of 1000 µg/mL. TLC-bioautography of the fraction showed two inhibition zone with *h*R_f values of 43.75 and 18.75. Isolate with *h*R_f of 18.75 has Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value of 500 µg/mL and still contained many components such as terpenoid.

Key words: neem, *Azadirachta indica* A. Juss., antibacterial agent, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia saat ini telah banyak memanfaatkan tanaman obat tradisional untuk menanggulangi berbagai macam penyakit. Penelitian mengenai obat tradisional dibutuhkan untuk memberikan bukti ilmiah mengenai khasiat suatu tanaman obat selain juga dapat digunakan sebagai sumber senyawa penuntun untuk sintesis senyawa obat baru. Salah satu tanaman yang telah lama digunakan sebagai obat tradisional tersebut adalah mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.), yang nama lainnya adalah *Antelaea azadirachta* (L.) Adelb (Backer and van den Brink, 1965). Di Jawa tumbuhan ini dikenal dengan nama Mimba (Heyne, 1987). Neem, Nim, Margosa, Indian Lilac, Bead Tree, Pride of China, Holy Tree, Persian Lilac adalah sebutan untuk tumbuhan ini dalam bahasa Inggris (Gruenwald *et al.*, 1998).

Daun mimba tersusun spiral, berkumpul di ujung ranting, merupakan daun majemuk menyirip genap. Tepi anak daun bergerigi, bergigi, beringgit, helaian tipis seperti kulit, bangun memanjang sampai tengah lanset, pangkal runcing, ujung runcing atau setengah meruncing, gundul atau sedikit berbulu, panjang 3-10,5 cm dan lebarnya 0,5-3,5 cm (Backer and van den Brink, 1965). Tumbuhan mimba banyak digunakan masyarakat sebagai obat, antara lain daunnya untuk pembangkit selera makan, obat disentri, borok,

malaria, minyaknya untuk eksema, kepala kotor, kudis, dan kulitnya untuk mengatasi gangguan lambung (Mardiswojo *et al.*, 1985). Sudarsono *et al.* (2002) juga mengatakan bahwa daun mimba digunakan untuk penambah nafsu makan, untuk menanggulangi disentri, borok, malaria, dan antibakteri. Mimba mengandung senyawa triterpen dan tetraterpen (limonoid, protolimonoid dan kelompok gedunin). Dalam minyak biji terdapat nimbolin A dan B, nimbin, dan gedunin. Tanin dan minyak atsiri terdapat pada kulit kayu dan daun (Gruenwald *et al.*, 1998). Metabolit yang ditemukan dari *A. indica* antara lain disetil vilasinin, nimbandiol, 3-desasetil salanin, salanol, dan azadirachtin (Sudarsono *et al.*, 2002).

Sebuah penelitian menyebutkan bahwa ekstrak kulit batang dan daun mimba telah teruji dapat melawan 105 galur bakteri dari 7 genus, yaitu *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, dan *Mycobacterium* (Fabry *et al.*, 1998). Fraksi kloroform daun mimba, dengan menggunakan metode difusi padat, diketahui mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* (Pramularsih, 2001). Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi komponen aktif antibakteri yang terdapat dalam ekstrak kloroform daun mimba dengan metode bioautografi.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat timbang, alat untuk penyarian: bejana tertutup, corong Buchner, dan cawan porselin, alat kromatografi lapis tipis: pipa kapiler, bejana kromatografi, lampu UV, lempeng kaca, kipas angin, dan oven. Seperangkat alat *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC): kolom kromatografi, vakum, cawan porselin, Erlenmeyer, dan gelas ukur. Seperangkat alat untuk uji antibakteri: cawan petri, LAF hood, pipet mikro, ose, spreader glass, Erlenmeyer, autoklaf, inkubator.

Bahan utama daun mimba (*A. indica*) diambil dari Pronosutan, Kembang, Nanggulan, Kulonprogo, Daerah Istimewa Yogyakarta pada bulan Agustus 2003. Pelarut organik: kloroform, metanol, n-heksana, etil asetat. DMSO, aquades, silika gel F 254, Pereaksi semprot: serum (IV) sulfat, anisaldehyda-asam sulfat, Dragendorff, FeCl_3 , uap amonia, sitroborat. Bahan uji antibakteri: mikroba (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*), media *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), salin (larutan NaCl 0,9%), dan kloramfenikol sebagai kontrol.

Cara kerja

Penyarian serbuk daun mimba

Penyarian serbuk daun mimba dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk kering daun mimba direndam dalam bejana tertutup dengan pelarut kloroform selama 24 jam, sambil digojog di atas shaker, kemudian disaring dengan corong Buchner. Prosedur ini diulang tiga kali untuk mendapatkan ekstrak kloroform.

Fraksinasi ekstrak daun mimba dengan metode *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC)

Fraksinasi dilakukan menurut Coll dan Bowden (1986) yang dimodifikasi dengan fase diam silika gel PF254 dan fase gerak bervariasi (n-heksana:100%; n-heksana: etil asetat = 15:1, 9:1, 5:1, 1:1, 1:5 (v/v); etil asetat 100%; metanol: kloroform = 1:1 (v/v)). Fraksi-fraksi ditampung dalam cawan porselin dan diuapkan pelarutnya hingga kering. Fraksi dengan profil KLT yang mirip digabung menjadi satu untuk diuji antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri (Mitscher et al., 1972)

Uji antibakteri dilakukan dengan metode dilusi padat pada konsentrasi 1000 µg/mL media. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif (+), sedangkan untuk kontrol negatif (-) digunakan DMSO. Ada tidaknya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung ekstrak kloroform/fraksi dibandingkan dengan kontrol positif dan negatifnya. Penentuan harga KHM dilakukan dengan metode dilusi cair.

Bioautografi dilakukan dengan meletakkan plat KLT sampel yang telah dikeringkan di atas media yang telah diberi suspensi bakteri selama 20 menit. Media pertumbuhan bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diamati zone hambatan yang terbentuk.

Isolasi komponen aktif dengan metode KLT preparatif

Isolasi dilakukan terhadap komponen aktif dalam fraksi yang menunjukkan zona hambatan pada sistem bioautografi dan dianalisis komponen yang terkandung di dalamnya dengan deteksi sinar UV 254 nm dan 365 nm, pereaksi Dragendorff, serum (IV) sulfat, anisaldehyda-asam sulfat, sitroborat, FeCl_3 , dan uap amonia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji pendahuluan terhadap ekstrak kloroform dengan konsentrasi 1000 µg/mL menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* tetapi tidak terhadap *E. coli*. Kontrol positif dengan larutan obat kloramfenikol 1000 µg/mL menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Kontrol negatif dengan larutan DMSO 100 µl memperlihatkan pertumbuhan yang normal dari bakteri uji (Tabel 1).

Pada uji ini konsentrasi dipilih 1000 µg/mL sebab jika ekstrak aktif pada konsentrasi > 1000 µg/mL ekstrak tersebut dianggap tidak efektif dikembangkan sebagai antimikroba baru dibanding obat-obat antibiotik yang sudah ada sekarang. Ekstrak dikatakan berpotensi jika pada kadar pemberian ≤ 1000 µg/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Mitscher et al., 1972).

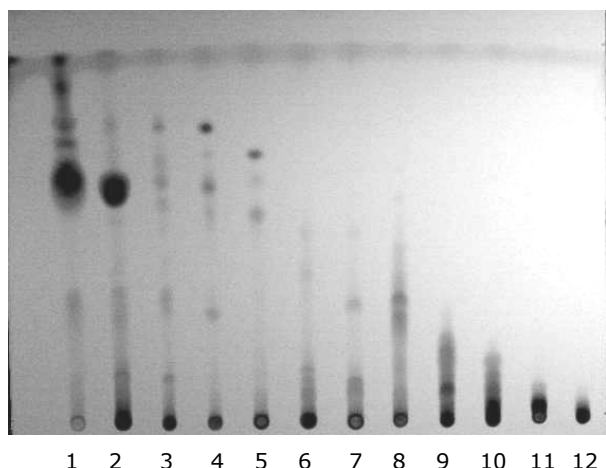
Tabel 1. Hasil uji pendahuluan aktivitas antibakteri ekstrak kloroform.

Sampel	Bakteri uji	
	SA	EC
Ekstrak kloroform 1000 µg/mL	++	--
K +	++	++
K -	--	--

Keterangan: SA: *S. aureus*, EC: *E. coli*, K +: Kontrol positif antibakteri (kloramfenikol 1000 µg/mL), K -: Kontrol negatif antibakteri (DMSO 100 µl), ++: aktif (tidak ada pertumbuhan), +: aktif (sedikit pertumbuhan), --: tidak aktif.

Salah satu kemungkinan penyebab perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak kloroform terhadap *S. aureus* dan *E. coli* adalah perbedaan komponen penyusun dinding sel bakteri tersebut. *S. aureus* merupakan bakteri gram positif dengan dinding sel yang relatif sederhana, hanya terdiri dari tiga lapisan, yaitu selaput sitoplasmik, lapisan peptidoglikan yang tebal, dan lapisan luar yang dinamakan simpai. Sedangkan dinding sel *E. coli* mempunyai struktur yang berlapis-lapis dan sangat kompleks (Jawetz et al., 1986). Kompleksan struktur dinding sel bakteri gram negatif ini menjadi rintangan yang besar bagi agen antimikroba untuk menembusnya.

Dari hasil fraksinasi ekstrak kloroform diperoleh tiga belas fraksi (Gambar 1.) dan fraksi-fraksi dengan profil KLT yang hampir sama dijadikan satu sehingga diperoleh tujuh fraksi yang siap diuji antibakteri. Uji aktivitas fraksi menunjukkan beberapa fraksi aktif (Tabel 2).



Gambar 1. Hasil KLT fraksinasi ekstrak kloroform. Keterangan: Fase diam = silika gel GF 254. Fase gerak = n-heksana: etil asetat = 2:1 (v/v). Deteksi pereaksi semprot serum(IV) sulfat.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri beberapa fraksi dari ekstrak kloroform pada konsentrasi 1000 µg/mL.

Sampel uji	SA
Fraksi 1	--
Fraksi 2+3	++
Fraksi 4+5	++
Fraksi 6	++
Fraksi 7+8+9	++
Fraksi 10+11+12	++
Fraksi 13	+
K +	++
K -	--

Keterangan: SA: *S. aureus*, K +: Kontrol positif antibakteri (kloramfenikol 1000 µg/mL), K -: Kontrol negatif antibakteri (DMSO 100 µl), ++: aktif (tidak ada pertumbuhan), +: aktif (sedikit pertumbuhan), --: tidak aktif.

Tabel 3. Hasil uji penentuan KHM.

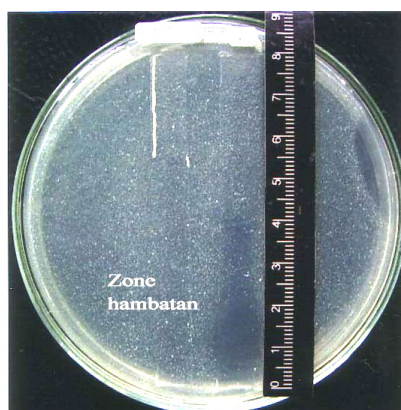
Kadar isolat (µg/mL)	SA
500	+
250	--
125	--
62,5	--
31,25	-
K + (25)	++
K+ (12,5)	+
KP	--
KM	--

Keterangan: SA: *S. aureus*, K + (25): Kontrol positif (kloramfenikol 25 µg/mL), K + (12,5): Kontrol positif (kloramfenikol 12,5 µg/mL), KP: Kontrol pelarut (DMSO 20 µl), KM: Kontrol media (media + bakteri), ++: aktif (tidak ada pertumbuhan), +: aktif (sedikit pertumbuhan), --: tidak aktif.

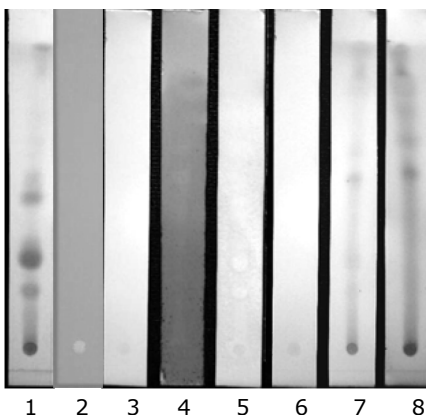
Salah satu fraksi aktif diisolasi komponen aktifnya dengan metode bioautografi. Kontrol negatif digunakan untuk memastikan bahwa zona jernih yang terjadi disebabkan oleh senyawa yang terdapat dalam kromatogram sampel. Hasil uji menunjukkan adanya dua zona jernih dengan hRf

43,75 dan 18,75 pada sistem KLT dengan fase diam silika gel F254 dan fase gerak n-heksana-etil asetat 3:1 (v/v) (Gambar 2). Isolasi dilakukan terhadap senyawa dengan hRf tersebut dan diketahui isolat dengan hRf 18,75 mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan KHM 500 µg/mL (Tabel 3).

Deteksi kromatogram isolat dengan sinar UV 254 memperlihatkan beberapa pemataman yang menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang mengandung minimal 2 ikatan rangkap terkonjugasi. Sedangkan pada sinar UV 365 tidak terjadi pemendaran yang menunjukkan tidak adanya senyawa dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang lebih panjang (inti aromatis atau gugus kromofor dan aoksokrom). Kromatogram isolat menunjukkan hasil negatif terhadap pereaksi uap amonia, sitroborat, Dragendorff, dan FeCl₃ yang menunjukkan tidak adanya kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid dalam isolat. Deteksi dengan serum (IV) sulfat dan anisaldehyde-asam sulfat memunculkan banyak bercak pada kromatogram. Anisaldehyde-asam sulfat digunakan salah satunya untuk deteksi senyawa terpenoid (Tabel 4, Gambar 3).



Gambar 2. Bioautografi gabungan fraksi 2 dan 3. Fase diam silika gel F254; fase gerak n-heksana-etil asetat 3:1 (v/v).



Gambar 3. Profil KLT isolat dengan hRf 18,75. Keterangan: Fase diam: silika gel F 254. Fase gerak n-heksana: etil asetat = 1:1 (v/v) + 3 tetes asam asetat glasial: 1. UV 254, 2. UV 365, 3. uap amonia, 4. Dragendorff, 5. FeCl₃, 6. sitroborat, 7. serum (IV) sulfat, 8. anisaldehyde-asam sulfat.

Tabel 4. Hasil analisis KLT isolat daun mimba. Fase diam: silika gel F 254, fase gerak n-heksana: etil asetat = 1:1 (v/v), + 3 tetes asam asetat glasial.

hRF	Penampak bercak					
	254	365	UA	SB	DD	FeCl ₃ CS AA
18,75 pepadaman	-	-	-	-	-	coklat -
28,75 pepadaman	-	-	-	-	-	kuning -
48,75 pepadaman	-	-	-	-	-	kuning -
56,25	-	-	-	-	-	coklat hijau
68,75	-	-	-	-	-	coklat ungu
78,13	-	-	-	-	-	- hijau
88,75	-	-	-	-	-	coklat hijau
98,75 pepadaman	-	-	-	-	-	coklat hijau ungu

Keterangan: 254: UV 254, 365: UV 365, DD: Dragendorff, CS: serium(IV) sulfat, AA: anisaldehyda-asam sulfat, UA: uap amonia, SB: sitroborat.

KESIMPULAN

Ekstrak kloroform (konsentrasi 1000 µg/mL) aktif menghambat pertumbuhan *S. aureus* tetapi tidak aktif terhadap *E. coli*. Isolat pita bawah pada sistem KLT preparatif dengan fase gerak n-heksana: etil asetat = 2:1 (v/v) aktif terhadap *S. aureus* sampai kadar 500 µg/mL. Isolat yang diperoleh mengandung senyawa terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, C.A. and R.C. Bakhuizen van den Brink Jr. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)*. Vol. II. Groningen: N.V.P. Noordhoff.
- Fabry, W., P.O. Okemo, and R. Ansorg. 1998. Antibacterial activity of East African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 60 (1): 79-84.
- Gruenwald, J., T. Brendler, and C. Jaenicke. 1998. *Physicians' Desk Reference for Herbal Medicines*. 1st edition. Montvale, NJ.: Medical Economic Company.
- Heyne, A. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Jawetz, Z.E., J.L. Melnick, and E.A. Adelberg. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kedokteran*. Edisi XIV. Penerjemah: Tonang, H. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Mardiswojo, S. dan H. Rajakmangunsudarso. 1985. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*. Cetakan Pertama. Jakarta: Balai Pustaka.
- Mitscher, L.A., R.P. Leu, M.S. Bathala, W. Wu, J.L. Beal, 1972. *Lloydia* 35: 157.
- Pramulsih, E.D. 2001. *Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mimba (Azadirachta indica Juss.) terhadap Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi beserta Profil KLTnya*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sudarsono, D. Gunawan, S. Wahyuono, I.A. Donatus, dan Purnomo. 2002. *Tumbuhan Obat II, Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, dan Penggunaan*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.

Pengaruh Ketersediaan Air terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Bahan Aktif Saponin Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.)

The effect of water availability on growth and saponin content of Talinum paniculatum Gaertn.

SOLICHATUN*, ENDANG ANGGARWULAN, WIDYA MUDYANTINI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: eanggarwulan@yahoo.com

Diterima: 17 Mei 2005. Disetujui: 21 Juli 2005.

Abstract. *Talinum paniculatum* Gaertn. known as "ginseng jawa" is one of medicinal plant which has an important role as an aphrodisiac. The plant contains several active substances (secondary metabolites), there are saponin, alkaloid, essential oil, resin, tannin, flavonoid, glycoside, and sterol. The aims of this research were to know the effect of water availability on growth and saponin content of *T. paniculatum*. The experiment was installed as a completely randomized design, with one treatment and 5 replicates. The drought condition was indicated with water availability of media on 4 level, that was 40% field capacity (drought/temporary wilting point), 60% field capacity, 80% field capacity, and 100% field capacity (waterlogged). The plants were being grown in the greenhouse. The result of the research indicated that the growth of *T. paniculatum* was inhibited by drought condition. The lower of water availability had impacted on the lower of growth parameters (dry weight, water use efficiency, relative growth rate), but oppositely, the lower of water availability, the higher of saponin content. The drought condition (40% field capacity) had resulted the highest saponin content. The waterlogged condition (100% field capacity) had resulted the lowest saponin content.

Key words: *Talinum paniculatum*, saponin, water availability, growth.

PENDAHULUAN

Talinum paniculatum Gaertn. merupakan salah satu tanaman obat yang potensial untuk dikembangkan penggunaannya. Di Indonesia, tanaman *T. paniculatum* dikenal dengan nama daerah antara lain ginseng jawa, som jawa, kolesom, atau talesom. Umbi som jawa berkhasiat sebagai obat penambah stamina (afrodisiak), obat radang paru-paru, diare, haid tidak teratur, dan melancarkan air susu ibu (ASI) (Wijayakusuma dkk., 1994); selain itu juga berguna sebagai anti inflamasi (Soedibyo, 1998). Tanaman ini belum dibudidayakan secara luas baik ditingkat petani maupun perusahaan, karena belum tersedia paket teknologinya (Darwati dkk., 2000).

Bagian yang digunakan sebagai bahan obat adalah akar atau umbinya. Kandungan kimia tumbuhan ini antara lain saponin, triterpen/steroid, polifenol, minyak astiri, flavonoid, dan tanin (Santa dan Prajogo, 1999; Saroni dkk., 1999; Soedibyo, 1998). Prolin adalah senyawa metabolit sekunder yang umumnya dibentuk sebagai respon adanya cekaman kekeringan dan salinitas di lingkungan (Levitt, 1980).

Talinum masih jarang dibudidayakan di Indonesia. Untuk mengantisipasi kebutuhan yang terus meningkat secara kontinyu dan mempunyai mutu sebagai bahan baku fitofarmaka, maka

diperlukan upaya-upaya pembudidayaan yang tepat. Produktivitas dan mutu som jawa sebagai bahan baku obat dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain kesuburan tanah, cara bercocok tanam, kondisi iklim, dan status atau ketersediaan air tanah. Penambahan bahan organik (casting, kompos daun bambu) diketahui dapat meningkatkan produktivitas som jawa (Darwati dkk. 2000).

Kebutuhan air bagi tumbuhan berbeda-beda, tergantung jenis tumbuhan dan fase pertumbuhannya. Pada musim kemarau, tumbuhan sering mendapatkan cekaman air (*water stress*) karena kekurangan pasokan air di daerah perakaran dan laju evapotranspirasi yang melebihi laju absorpsi air oleh tumbuhan (Levitt, 1980). Sebaliknya pada musim penghujan, tumbuhan sering mengalami kondisi jenuh air.

Perakaran tumbuhan tumbuh ke dalam tanah yang lembab dan menarik air sampai tercapai potensial air kritis dalam tanah. Air yang dapat diserap dari tanah oleh akar tumbuhan disebut air yang tersedia. Air yang tersedia merupakan perbedaan antara jumlah air dalam tanah pada kapasitas lapang dan jumlah air dalam tanah pada persentase pelayuan permanen. Air pada kapasitas lapang adalah air yang tetap tersimpan dalam tanah yang tidak mengalir ke bawah karena gaya gravitasi; sedangkan air pada persentase pelayuan permanen adalah apabila pada kelembaban tanah

tersebut tumbuhan yang tumbuh diatasnya akan layu dan tidak akan segar kembali dalam atmosfer dengan kelembaban relatif 100% (Gardner *et al.*, 1991).

Air seringkali membatasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman budidaya. Respon tumbuhan terhadap kekurangan air dapat dilihat pada aktivitas metabolismenya, morfologinya, tingkat pertumbuhannya, atau produktivitasnya. Pertumbuhan sel merupakan fungsi tanaman yang paling sensitif terhadap kekurangan air. Kekurangan air akan mempengaruhi turgor sel sehingga akan mengurangi pengembangan sel, sintesis protein, dan sintesis dinding sel (Gardner *et al.*, 1991). Pengaruh kekurangan air selama tingkat vegetatif adalah berkembangnya daun-daun yang ukurannya lebih kecil, yang dapat mengurangi penyerapan cahaya. Kekurangan air juga mengurangi sintesis klorofil dan mengurangi aktivitas beberapa enzim (misalnya nitrat reduktase). Kekurangan air justru meningkatkan aktivitas enzim-enzim hidrolisis (misalnya amilase) (Hsiao *et al.* dalam Gardner *et al.* 1991).

Cekaman kekeringan dapat menurunkan tingkat produktivitas (biomassa) tanaman, karena menurunnya metabolisme primer, penyusutan luas daun dan aktivitas fotosintesis. Penurunan akumulasi biomassa akibat cekaman air untuk setiap jenis tanaman besarnya tidak sama. Hal tersebut dipengaruhi oleh tanggap masing-masing jenis tanaman. Penurunan akumulasi biomassa tanaman obat jenis pegagan (*Centella asiatica* L.) mencapai 48,9% pada cekaman kekeringan 50% kapasitas lapang (KL) dan tidak mampu tumbuh pada cekaman air 40% KL (Rahardjo *et al.*, 1999). Penurunan akumulasi biomassa tanaman tempuyung (*Sonchus oleraceus* L.) mencapai 52,8% pada cekaman air sebesar 50% KL dibandingkan dengan cekaman air 80. Tanaman tempuyung yang ditanam pada kondisi kering dengan intensitas cahaya penuh, kadar flavonoidnya lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang ditanam pada daerah iklim basah dan di bawah naungan. Tanaman tempuyung yang mendapat cekaman air sebesar 60% kapasitas lapang, kadar flavonoidnya mencapai dua kali lipat dibandingkan dengan tanaman yang tidak terkena cekaman (Rahardjo dan Darwati, 2000).

Berdasarkan faktor genetiknya, daya adaptasi tumbuhan terhadap cekaman lingkungan berbeda-beda. Hidayati dalam Sukarman dkk. (2000) melaporkan bahwa *Vicia faba* yang diberi perlakuan cekaman kekeringan akan menunjukkan respon fisiologis daun yaitu menutupnya stomata, menurunnya jumlah dan luas daun. Respon fisiologis akar (bobot kering akar, jumlah dan efektivitas bintil akar) menurun pesat dengan meningkatnya cekaman kekeringan. Pada tanaman kedelai, ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan ditandai dengan sistem perakaran yang lebih baik, dan kemampuan pengaturan osmotik dan meningkatnya kandungan prolin pada daun (Hanim dalam Sukarman dkk., 2000). Pada tanaman tapak dara (*Vinca rosea* L.) cekaman

kekeringan 40% dan 60% kapasitas lapang menurunkan pertumbuhan dan biomassa tanaman secara nyata (Sukarman dkk., 2000).

Metabolit sekunder tumbuhan telah lama diketahui mempunyai banyak manfaat bagi tumbuhan diantaranya sebagai bahan obat atau farmasi, pewarna makanan, pestisida, dan pewangi (Heble, 1996). Sedang bagi tumbuhan sendiri metabolit sekunder sering berperan untuk kelangsungan hidup suatu spesies dalam menghadapi spesies yang lain (Manitto, 1992). Saponin merupakan metabolit sekunder yang termasuk golongan glikosida terpen (Hopkins, 1999). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat, yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air, larut dalam alkohol, dan dapat menghemolisis darah hewan.

Mengingat nilai penting tanaman obat (dalam hal ini adalah ginseng jawa) adalah pada kandungan bahan aktifnya, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan bahan aktif (metabolit sekunder) tanaman obat tersebut pada kondisi ketersediaan air tanah yang berbeda-beda. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh informasi tentang akumulasi metabolit sekunder ginseng jawa pada kondisi kekeringan maupun kondisi jenuh air sehingga dapat dipakai sebagai acuan dalam teknik budidayanya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan dan kandungan saponin ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) pada kondisi cekaman air. Manfaat penelitian ini adalah diperolehnya informasi tentang respon pertumbuhan ginseng jawa terhadap ketersediaan air yang berbeda sehingga dapat dipakai sebagai acuan dalam teknik budidayanya.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Percobaan dilakukan di rumah kaca Laboratorium Pusat MIPA UNS, mulai bulan Juni-Oktober 2004. Analisis kandungan saponin dilakukan di Sub Lab. Biologi, Lab. Pusat MIPA UNS. Saponin murni (Merck) diperoleh dari PPOT UGM.

Bahan dan alat

Ginseng jawa (*T. paniculatum* Gaertn.) yang digunakan sebagai bahan penelitian diperoleh dari daerah Boyolali. Biji ginseng jawa yang telah tua (berwarna kehitaman) dikeringanginkan, lalu dikecambahkan. Kecambah yang telah berumur 3 minggu digunakan sebagai bahan penelitian.

Media tanam menggunakan tanah tipe regosol dari daerah Boyolali. Tanah dikeringanginkan dan diayak. Setelah ditimbang masing-masing seberat 250 g, tanah dimasukkan ke dalam polibag-polibag. Tanah kemudian dihitung kapasitas lapangnya dengan metode gravimetri (penimbangan).

Pupuk dasar yang dipakai adalah 12,5 mg urea, 37,5 mg TSP, dan 37,5 mg KCl. Pemeliharaan rutin yang dilakukan meliputi penyiraman (sesuai

perlakuan), penyiangan (secara manual) dan pengendalian hama dan penyakit (jika diperlukan).

Rancangan penelitian

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu tingkat ketersediaan air (40%, 60%, 80%, dan 100% kapasitas lapang), dengan 5 ulangan. Perlakuan diberikan selama 12 minggu (3 bulan), dimulai saat tanaman berumur tiga minggu setelah tanam. Untuk mempertahankan kondisi perlakuan dilakukan penambahan air sesuai dengan ketersediaan air yang ditentukan dengan metode penimbangan.

Tanaman dipanen pada umur 12 minggu (3 bulan) setelah perlakuan. Tanaman yang sudah dipanen dimasukkan ke dalam kantong-kantong kertas untuk dioven (temperatur 70-80°C) selama 4-5 hari sampai tercapai berat konstan. Parameter yang diamati meliputi berat kering tanaman, laju pertumbuhan relatif, rasio tajuk-akar, efisiensi penggunaan air, kadar saponin umbi, dan kadar saponin total.

Kadar saponin dihitung menurut Stahl (1985). Umbi kering sebanyak 0,1 g digerus dengan mortal hingga menjadi serbuk halus. Serbuk yang telah halus dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan kemudian diekstraksi dengan etanol 70% di atas penangas air pada suhu 80° selama 15 menit. Hasil ekstraksi diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 365 nm. Kadar saponin lalu dihitung dengan menggunakan saponin Merck sebagai pembandingan.

Tanaman dipanen pada umur 12 minggu (3 bulan) hari setelah perlakuan. Parameter yang diamati meliputi berat kering tanaman, rasio tajuk-akar, laju pertumbuhan relatif, efisiensi penggunaan air, kadar saponin umbi, dan kadar saponin total.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* taraf 1%, 5%, atau 10% (Steel dan Torrie, 1989; Mead *et al.*, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketersediaan air akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan suatu tanaman. Pertumbuhan suatu tumbuhan dapat diukur melalui berat kering dan laju pertumbuhan relatifnya. Berat kering tumbuhan yang berupa biomassa total, dipandang sebagai manifestasi proses-proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh tumbuhan. Biomassa tumbuhan meliputi hasil fotosintesis, serapan unsur hara dan air. Berat kering dapat menunjukkan produktivitas tanaman karena 90% hasil fotosintesis terdapat dalam bentuk berat kering (Gardner *et al.*, 1991). Dari data parameter pertumbuhan diketahui bahwa perlakuan perbedaan tingkat ketersediaan air (40, 60, 80, dan 100% kapasitas lapang) akan

menurunkan akumulasi berat kering tanaman ginseng jawa.

Proses pembesaran dan pembentangan sel, selain dipengaruhi oleh faktor hormon, juga dipengaruhi oleh turgor sel. Ketersediaan air yang rendah (40 dan 60% kapasitas lapang) akan menurunkan tekanan turgor sel. Turgor sel yang rendah akan menurunkan kemampuan sel untuk membentang, sehingga akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangannya.

Pengaruh perbedaan ketersediaan air terhadap berat kering tanaman dapat dilihat pada Tabel 1. Ketersediaan air 40% kapasitas lapang menghasilkan berat kering tanaman yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian 80% ketersediaan air. Ketersediaan air sebesar 80% kapasitas lapang diketahui merupakan tingkat ketersediaan air yang optimum, karena pada tingkat ketersediaan air yang lebih tinggi (yaitu 100%) akumulasi berat kering justru lebih kecil. Ketersediaan air 100% kapasitas lapang menyebabkan tanah tempat ginseng jawa tumbuh menjadi jenuh oleh air dan diduga hal ini justru akan menyulitkan penyerapan air dan hara oleh akar-akar tanaman karena terciptanya kondisi yang mendekati anaerob.

Tabel 1. Parameter pertumbuhan dan kandungan saponin tanaman *T. paniculatum* yang tumbuh pada berbagai ketersediaan air pada umur 11 minggu (78 hari) setelah perlakuan.

Parameter	Tingkat ketersediaan air (%)			
	40	60	80	100
Berat kering tanaman (g)	0,308 ^a	0,568 ^{ab}	0,936 ^b	0,850 ^b
Rasio tajuk-akar	1,09 ^a	1,03 ^a	0,44 ^a	0,49 ^a
Laju pertumbuhan relatif (mg/hari)	0,051 ^a	0,054 ^a	0,067 ^b	0,066 ^b
Efisiensi penggunaan air (g berat kering/kg air)	0,59 ^a	0,83 ^{ab}	1,26 ^b	1,11 ^b
Kadar saponin total umbi (ppm)	22.652 ^b	13.333 ^a	13.672 ^a	10.556 ^a
Kadar saponin total tanaman (ppm)	38.244 ^c	28.346 ^{ab}	30.974 ^b	27.240 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada DMRT taraf 1%

Pengaruh perbedaan ketersediaan air terhadap rasio tajuk-akar dapat dilihat pada Tabel 1. Alometri dari pertumbuhan tajuk dan pertumbuhan akar (biasa dinyatakan sebagai rasio tajuk-akar) memiliki kepentingan fisiologis. Rasio tajuk-akar dapat menggambarkan salah satu tipe toleransi terhadap adanya kekeringan. Rasio tajuk-akar dikendalikan oleh faktor genetik maupun faktor lingkungan (Gardner *et al.* 1991). Pada dasarnya pertumbuhan merupakan keseimbangan antara perolehan karbon pada fotosintesis dan pengeluarannya dalam respirasi. Dalam kondisi tercekam (misalnya kekeringan), keseimbangan tersebut akan mengalami perubahan yang dapat mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan (Amthor, 1994). Rasio

tajuk-akar dapat menjadi petunjuk pertumbuhan yang berkaitan dengan ketersediaan air dan unsur hara khususnya nitrogen dalam tanah.

Kekurangan air yang menghambat pertumbuhan tajuk dan akar, mempunyai pengaruh yang relatif lebih besar terhadap pertumbuhan tajuk (Loomis dalam Gardner *et al.*, 1991). Pertumbuhan tajuk lebih digalakkan apabila tersedia unsur nitrogen (N) dan air yang banyak; sedangkan pertumbuhan akar lebih digalakkan apabila faktor-faktor nitrogen dan air terbatas. Hal ini akan mempengaruhi rasio tajuk-akar. Rasio tajuk-akar digunakan untuk mengetahui kemampuan tumbuhan dalam mempertahankan keseimbangan fungsional di lingkungan yang mengalami cekaman. Rasio tajuk-akar bersifat plastis; nilainya akan meningkat pada kondisi ketersediaan air, nitrogen, oksigen, dan suhu yang rendah (Fitter dan Hay, 1998). Hal ini terjadi karena pada tumbuhan yang mengalami cekaman akan mengalokasikan sebagian besar hasil fotosintesisnya ke organ penyimpanan.

Pengaruh perbedaan ketersediaan air terhadap laju pertumbuhan relatif tanaman dapat dilihat pada Tabel 1. Ketersediaan air 40% kapasitas lapang menghasilkan laju pertumbuhan relatif tanaman yang lebih kecil dibandingkan dengan pemberian 80% ketersediaan air. Proses pembesaran dan pembentangan sel, selain dipengaruhi oleh faktor hormon, juga dipengaruhi oleh turgor sel. Laju pertumbuhan relatif menunjukkan peningkatan berat biomassa tanaman dalam suatu interval waktu dibandingkan dengan berat tanaman awal (Gardner *et al.*, 1991). Laju pertumbuhan relatif umumnya didasarkan pada pengukuran berat kering tanaman.

Dari Tabel 1 diketahui bahwa pemberian ketersediaan air yang berbeda menyebabkan laju pertumbuhan relatif tanaman ginseng jawa berbeda. Pada ketersediaan air 80 dan 100% kapasitas lapang, laju pertumbuhan relatif tanaman ginseng jawa lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang tumbuh pada ketersediaan air 40 dan 60% kapasitas lapang. Hal ini diduga terjadi karena ketersediaan air yang cukup tinggi akan mempengaruhi turgor sel; turgor sel akan mempengaruhi pembentangan sel sehingga akan menentukan tingkat pertumbuhan (akumulasi biomassa/berat kering).

Pengaruh perbedaan ketersediaan air terhadap efisiensi penggunaan air dapat dilihat pada Tabel 1. Perbedaan ketersediaan air tidak mempengaruhi efisiensi penggunaan air *T. paniculatum* yang diuji. Efisiensi penggunaan air (*water use efficiency*-WUE) terkait dengan jumlah air yang digunakan untuk memproduksi hasil panen (biomassa). Umumnya yang dicari dari penelitian-penelitian tentang WUE adalah tanaman yang tinggi nilai WUE-nya dengan tetap mempertahankan produktivitas yang tinggi.

Tanaman *T. paniculatum* merupakan tumbuhan obat yang umumnya diambil bagian umbinya. Sehingga, parameter kadar saponin umbi juga menjadi pertimbangan dalam budidaya tanaman obat ini. Selain pada umbi, kadar saponin juga diukur pada bagian daun tanaman ginseng jawa. Menurut Wijayakusuma dkk. (1994) daun ginseng

jawa juga mengandung saponin. Pengaruh ketersediaan air terhadap kadar saponin umbi dan kadar saponin total (daun, batang, dan umbi) dapat dilihat pada Tabel 1.

Ketersediaan air yang berbeda akan menghasilkan kadar saponin yang berbeda pula. Ketersediaan air yang rendah (40%) memberikan kadar saponin umbi yang tertinggi. Semakin tinggi tingkat ketersediaan air, maka kadar saponin umbi akan semakin menurun. Demikian pula untuk kadar saponin total. Saponin merupakan salah satu metabolit sekunder. Metabolit sekunder secara umum akan meningkat akumulasinya di dalam tubuh tanaman pada saat tanaman mengalami cekaman lingkungan (termasuk cekaman kekeringan) (Hopkins, 1999).

Secara umum, semakin tinggi tingkat ketersediaan air akan menurunkan akumulasi berat kering tanaman, tetapi sebaliknya akan meningkatkan kandungan bahan aktif tanaman ginseng jawa yaitu saponin. Sebagai salah satu tanaman obat, yang menjadi pertimbangan akan khasiatnya adalah kandungan bahan aktifnya, sehingga untuk membudidayakan tanaman ginseng jawa perlu dipertimbangkan segi kualitas bahan obatnya (tingginya kandungan bahan aktif) atau segi kuantitasnya (tingginya berat kering tanaman).

KESIMPULAN

Ketersediaan air (40, 60, 80, dan 100%) mempengaruhi berat kering, laju pertumbuhan relatif, efisiensi penggunaan air, kadar saponin umbi, dan kadar saponin total tanaman ginseng jawa (*T. paniculatum*). Ketersediaan air tidak mempengaruhi rasio tajuk-akar. Secara umum, semakin tinggi tingkat ketersediaan air, maka akumulasi berat kering tanaman akan semakin menurun, sebaliknya kadar saponinnya akan meningkat. Sebagai bahan pertimbangan untuk teknik budidaya tanaman ginseng jawa, disarankan untuk menggunakan tingkat ketersediaan air antara 40-60% untuk memperoleh kadar saponin umbi yang tinggi. Jika berat kering tanaman menjadi tujuan dari pembudidayaan, maka tingkat ketersediaan air 80% akan menghasilkan akumulasi berat kering terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amthor, J.S. 1994. Plant respiratory responses to the environment and their effects on the carbon balance. In: Wilkinson, R.E. *Plant Environment Interactions*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Darwati, I., M. Rahardjo, S.M.D., dan Rosita. 2000. Produktivitas som jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.) pada beberapa komposisi bahan organik. *Jurnal Littri* 6 (1): 1-4.
- Fitter, A.H. dan R.K.M. Hay. 1998. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Gardner, F.P., Perace, R.B., dan Mitchell, R.L. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Susilo, H. Jakarta: UI Press.

- Heble, M.R. 1996. Production of secondary metabolites through tissue culture and its prospects for commercial use. In: Islam, A.S. (ed.) *Plant Tissue Culture*. New Delhi: Science Publisher, Inc.
- Hopkins, W.G. 1999. *Introduction to Plant Physiology*. Toronto: John Wiley and Sons, Inc.
- Levitt, J. 1980. *Responses of Plant to Environmental Stresses, Volume II: Water, Radiation, Salt, and Other Stresses*. New York: Academic Press.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Penerjemah: Koensoemardiyah. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Mead, R., R.N. Curnow, and A.M. Hasted. 1993. *Statistical Methods in Agriculture and Experimental Biology*. London: Chapman and Hall.
- Rahardjo, M. dan I. Darwati. 2000. Pengaruh cekaman air terhadap produksi dan mutu simplisia tempuyung (**Sonchus arvensis** L.). *Jurnal Littri* 6 (3): 73-79.
- Rahardjo, M., S.M.D. Rosita, R. Fathan, dan Sudiarto. 1999. Pengaruh cekaman air terhadap mutu simplisia pegagan (**Centella asiatica** L.). *Jurnal Littri* 5 (3): 92-97.
- Soedibyo, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Sudiro. Bandung: ITB.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1989. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Jakarta: Penerbit PT. Gramedia.
- Sukarman, I. Darwati, dan D. Rusmin. 2000. Karakter morfologi dan fisiologi tapak dara (**Vinca rosea** L.) pada beberapa cekaman air. *Jurnal Littri* 6 (2): 50-54.
- Wijayakusuma, H., H.M. Dalimarkha, dan A.S. Wirian. 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Pustaka Kartini.

Pengaruh Penambahan DL-Triptofan terhadap Pertumbuhan Kalus dan Produksi Alkaloid-Reserpin Pule Pandak [*Rauvolfia serpentina* (L.) Bentham ex Kurz.] secara *In Vitro*

The effect of DL-tryptophan on callus growth and alkaloid-reserpin production of pule pandak [Rauvolfia serpentina (L.) Bentham ex Kurz] in vitro

HENI ARYATI, ENDANG ANGGARWULAN*, SOLICHATUN

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: eanggarwulan@yahoo.com

Diterima: 21 Maret 2005. Disetujui: 7 Juni 2005.

Abstract. The purposes of this research were to study the effect of amino acid DL-tryptophan at various concentrations on culture callus growth and production of alkaloid-reserpine of *Rauvolfia serpentina* and to determine optimum concentration of DL-tryptophan to yield maximum alkaloid reserpine of the callus. This research was consisted of three phases. First phase was to determine compatible sterilan for *R. serpentina* leaf explants. Second phase was to initiate/ to induce callus formation from the explants. Third phase was treatment phase to know the influence of DL-tryptophan addition on growth and alkaloid-reserpine production of the callus. Experimental design that used was Completely Randomized Design (CRD). The treatment was concentration of the amino acid DL- tryptophan with three levels concentration three restating for each level. The levels were 0 mg/L, 10 mg/L and 20 mg/L. Obtained data were analyzed quantitatively and qualitatively. Quantitative data were wet weight, dry weight, growth rate and alkaloid content of the callus at each level of concentration. Qualitative data have been measured were compatible sterilitant test and callus morphology (color and texture). Quantitative data then have been analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued with DMRT test at level 95%. The result indicated that addition of DL- tryptophan precursor had an effect on the reduction of the callus growth of *R. serpentina* in media MS in vitro. Addition of DL-tryptophan precursor to produce of alkaloid-reserpine of the callus of *R. serpentina* in media MS in vitro and optimum concentration of DL-tryptophan precursor that must be added to yield of alkaloid-reserpine could not be determined yet, it caused by the alkaloid-reserpine was not detected yet by the thin layer chromatography (TLC).

Key words: *Rauvolfia serpentina*, DL-tryptophan, callus growth, alkaloid, reserpine.

PENDAHULUAN

Pada saat ini pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku obat terus meningkat. Peningkatan kebutuhan akan bahan baku tersebut sejalan dengan kembalinya masyarakat memanfaatkan tumbuhan sebagai bahan obat alami (Amzu dan Haryanto dalam Lestari dan Mariska, 1997). Salah satu jenis tumbuhan obat yang saat ini banyak dibutuhkan adalah pule pandak. Pule pandak atau akar tikus [*Rauvolfia serpentina* (L.) Bentham ex Kurz] banyak digunakan untuk bahan baku obat tradisional maupun obat modern. Tumbuhan ini mengandung antara lain reserpin, ajmalisin, sterol, dan alseroksilon (Youngken dalam Lestari dan Mariska, 2001). Senyawa-senyawa tersebut merupakan alkaloid indol monoterpenoid (Ramawat *et al.*, 1999). Kegunaannya antara lain adalah sebagai obat penurun panas, penurun tekanan darah tinggi, radang jantung dan radang usus (Zuhud dkk. dalam Lestari dan Mariska, 2001).

Saat ini pule pandak dilaporkan termasuk tumbuhan yang langka dan mulai kritis keberadaannya (Zuhud dkk. dalam Lestari dan Mariska, 2001). Kebutuhan akar untuk membuat

ekstrak pule pandak diperkirakan hampir 650 ton per tahun (Ramawat *et al.*, 1999), sehingga diperlukan cara yang tepat untuk mengatasi masalah ini; salah satunya adalah dengan kultur *in vitro*. Teknik kultur *in vitro* telah banyak digunakan sebagai salah satu alternatif untuk menghasilkan metabolit sekunder; karena dengan teknik ini senyawa yang dikehendaki dapat ditingkatkan jumlahnya dengan cara memanipulasi media maupun dengan penambahan senyawa prekursor/prazat (Sugiarso, 1999). Triptofan merupakan prazat alkaloid indol monoterpenoid, terutama untuk senyawa reserpin.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan prekursor triptofan terhadap pertumbuhan kalus *R. serpentina* dalam media MS (Murashige-Skoog); dan mengkaji pengaruh penambahan prekursor triptofan terhadap produksi alkaloid-reserpin pada kalus *R. serpentina*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pengaruh penambahan prekursor triptofan terhadap pertumbuhan kalus dan produksi alkaloid-reserpin pada *R. serpentina* dalam media MS secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dari bulan Agustus tahun 2003 hingga Juli tahun 2004 di Sub Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat MIPA, UNS, Surakarta. Analisis reserpin dilakukan di Pusat Penelitian Obat Tradisional (PPOT) UGM, Yogyakarta.

Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga taraf, yaitu 3 faktor tunggal konsentrasi DL-triptofan (0/ kontrol, 10, dan 20 mg/L), tiap-tiap perlakuan dengan 3 ulangan.

Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap, meliputi (i) persiapan, (ii) penentuan metode sterilisasi eksplan, (iii) induksi pembentukan kalus, (iv) penanaman kalus pada media perlakuan, dan (v) pengamatan dan pengujian hasil.

Data yang diamati meliputi pertumbuhan kalus pule pandak dan produksi alkaloid-reserpin yang terkandung di dalam kalus tanaman tersebut pada setiap perlakuan yang diberikan. Pengamatan pertumbuhan kalus meliputi berat kering kalus dan morfologi kalus (warna kalus dan tekstur kalus), sedangkan pengambilan data untuk mengetahui produksi alkaloid-reserpin yang dihasilkan dalam kalus pule pandak dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

Analisis kuantitatif digunakan pada pengamatan parameter pertumbuhan kalus yang meliputi berat kering kalus dan kandungan alkaloidnya pada tiap perlakuan. Data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan Analisis Varian (ANOVA) dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT pada taraf 5%. Analisis kualitatif digunakan dalam penentuan uji sterilan yang cocok serta morfologi kalus yang meliputi warna dan tekstur kalus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengetahui jenis sterilan yang cocok terhadap eksplan yang berupa daun pule pandak, dicoba dengan menggunakan berbagai macam metode sterilisasi yang tercantum dalam Tabel 1. Metode sterilisasi yang terbaik adalah yang mampu menekan tingkat kontaminasi serendah mungkin dengan tetap mempertahankan kesegaran jaringan tanaman setinggi mungkin.

Pertumbuhan kalus *R. serpentina* dalam media yang berbeda disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan tabel ini, metode sterilisasi yang paling baik digunakan untuk eksplan tersebut adalah metode sterilisasi nomor 5. Dari hasil pengamatan dapat diambil kesimpulan bahwa jenis media terbaik adalah nomor 2 karena pertumbuhan kalus *R. serpentina* yang paling baik terjadi pada jenis media tersebut dibandingkan dengan jenis media yang lain. Selanjutnya formulasi tersebut dipakai untuk menginduksi kalus pada eksplan daun pule pandak.

Tabel 1. Uji sterilan pada eksplan daun *R. serpentina*.

	Jenis sterilan (metode sterilisasi)	Waktu sterilisasi (menit)	Tingkat kontaminasi (%)	Kesegaran jaringan *)	Jenis dan jumlah kontaminan **)
1	Etanol 70% Akuades Clorox 30% Akuades 3x	0,5 3 5 @ 3	0	-	-
2	Etanol 70% Akuades Clorox 20% Akuades 3x	0,5 3 10 @ 3	0,65	+	Jamur ++
3	Etanol 65% Akuades Clorox 30% Akuades	0,5 3 5 @ 3	0	++	-
4	Etanol 65% Akuades Clorox 20% Akuades 3x	0,5 3 10 @ 3	0	+	-
5	Etanol 60% Akuades Clorox 30% Akuades 3x	0,5 3 5 @ 3	0	++ +	-
6	Etanol 60% Akuades Clorox 20% Akuades 3x	0,5 3 10 @ 3	2,6	-	Bakteri ++

Keterangan: *) Kesegaran Jaringan: (-): tidak segar, (+) kurang segar, (++) cukup segar, (+++) segar. **) Jumlah kontaminan: (-) tidak ada, (+) sedikit, (++) sedang, (+++) banyak.

Tabel 2. Pertumbuhan kalus *R. serpentina* dalam media yang berbeda.

Jenis media	Warna eksplan	Warna kalus	Pertumbuhan kalus	Keterangan lain
1	Hijau tua	Hijau muda	++	-
2	Hijau tua	Hijau muda	+++	-
3	Hijau-coklat	Kuning-coklat	+	-
4	Hijau-coklat-kuning	Hijau-coklat-kuning	++	Tumbuh akar
5	Hijau tua	Hijau-kuning	+	-

Keterangan: 1. Media dasar MS + NAA 1 mg/L + kinetin 1 mg/L, 2. Media dasar MS + NAA 2 mg/L + kinetin 2 mg/L, 3. Media dasar MS+NAA 1 mg/L + kinetin 0,5 mg/L + air kelapa 100 ml/l, 4. Media dasar MS+NAA 2 mg/L + kinetin 1 mg/L + air kelapa 100 ml/l, 5. Media dasar MS+NAA 2 mg/L + kinetin 0,5 mg/L + air kelapa 200 ml/l; (+) kurang baik, (++) cukup baik, (+++) sangat baik.

Pertumbuhan kalus pada media perlakuan

Morfologi (tekstur dan warna) kalus

Morfologi kalus pada ketiga media perlakuan dari awal sampai akhir pengamatan tidak mengalami perubahan, tekstur kalus kompak dan warna kalus hijau tua. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata (tidak signifikan) terhadap perbedaan tekstur dan warna kalus.

Berat kering kalus

Hasil pengamatan mengenai berat kering kalus *R. serpentina* pada media perlakuan tersaji pada Tabel 3. Dari hasil analisis varian dan uji DMRT pada taraf 5% diketahui bahwa setiap perlakuan yang diberikan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap rata-rata berat kering kalus *R. serpentina* pada media perlakuan tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asam amino DL-triptofan kurang berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus yang salah satu penerapannya dapat diketahui melalui perubahan (pertambahan) berat kering yang signifikan.

Tabel 3. Rata-rata berat kering (gram) kalus *R. serpentina* (umur 15 hari pada media perlakuan)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
T ₀	0,48	0,40	0,47	1,3500	0,4500
T ₁₀	0,38	0,72	0,59	1,6900	0,5633
T ₂₀	0,47	0,58	0,19	1,2400	0,4133

Keterangan: T₀ = konsentrasi DL-triptofan 0 mg/L, T₁₀ = konsentrasi DL-triptofan 10 mg/L, T₂₀ = konsentrasi DL-triptofan 20 mg/L.

Analisis kandungan alkaloid-reserpin pada kalus

Hasil analisis alkaloid-reserpin yang terkandung pada kalus *R. serpentina* dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) adalah negatif karena kandungan alkaloid di dalam jaringan tanaman terlalu rendah sehingga tidak dapat dideteksi. Hasil yang negatif tersebut kemungkinan disebabkan:

(i) Eksplan yang digunakan (berupa daun muda) yang mengandung alkaloid lebih rendah daripada di dalam akar *R. serpentina*, sehingga kalus yang diperoleh dari eksplan tersebut juga menghasilkan kadar alkaloid yang rendah. Hal ini menyebabkan tidak terdeteksinya alkaloid indol monoterpenoid (AIM) pada pelat KLT. Hasil tersebut serupa dengan laporan penelitian Kinnersley dan Dougall dalam Ernawati (1992) bahwa nikotin yang dihasilkan kalus *Nicotiana tabacum* sangat ditentukan oleh genotipe tanaman induk asal eksplan yang digunakan untuk menginisiasi kalus tersebut. Selain itu menurut Zenk *et al.* dalam Wattimena (1992) pada kultur *Catharanthus roseus*, kalus yang berasal dari eksplan yang menghasilkan alkaloid tinggi cenderung untuk menghasilkan alkaloid yang tinggi pula.

(ii) Sifat kimia alkaloid yang paling penting ialah kebasaannya. Metode pemurnian dan pencirian

umumnya mengandalkan sifat tersebut. Masalah yang timbul pada beberapa kasus ialah bahwa alkaloid berada dalam bentuk terikat yang tidak dapat dibebaskan pada kondisi ekstraksi yang biasa. Senyawa pengompleksnya mungkin polisakarida atau glikoprotein yang dapat melepaskan alkaloid jika diperlakukan dengan asam (Robinson, 1995).

(iii) Bentuk kultur kalus yang digunakan kurang tepat karena kalus yang digunakan belum mengalami diferensiasi. Kesimpulan tersebut diambil berdasarkan pada: (a) Metabolisme sekunder merupakan bentuk diferensiasi dari sel-sel tanaman. Beberapa bentuk diferensiasi dapat diciptakan dengan mudah ke dalam kultur-kultur sel daripada ke dalam kultur-kultur lainnya. Dengan mempertimbangkan bahwa kultur larutan sel terdiri dari bagian-bagian sel yang tumbuh dengan cepat maka hal ini bukan merupakan kondisi yang optimal bagi diferensiasi. Produksi alkaloid dari berbagai kultur sel dan kultur organ dari spesies *Cinchona* secara jelas menunjukkan bahwa diferensiasi paralel dengan produksi alkaloid (Sakya, 1995). (b) Pembentukan metabolit sekunder akan lebih banyak pada saat kalus berdiferensiasi menjadi tunas maupun akar (Staba, 1980). (c) Keberhasilan pembentukan metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* sangat tergantung pada faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan metabolit tersebut pada tanaman utuh. Satu hal yang sangat penting yaitu keeratan hubungan antara pembentukan metabolit sekunder dengan proses diferensiasi, sebab terjadinya metabolit sekunder pada kultur *in vitro* hanya merupakan hasil sampingan dari diferensiasi (Dalimienthe, 1987). (d) Diferensiasi dari kalus atau suspensi sel seringkali dapat menyebabkan munculnya kembali kemampuan biosintesis untuk memproduksi metabolit sekunder (Charlwood *et al.*, dalam Subroto dan Artanti, 1996).

(iv) Tumbuhan yang sudah jelas-jelas dikenal sebagai tumbuhan alkaloid ternyata tidak semua jaringannya mengandung alkaloid atau tidak mengandung alkaloid pada setiap tahap pertumbuhan dan pada semua lokasi geografis (Robinson, 1995). Kondisi geografis ternyata juga mempengaruhi kadar alkaloid (Hamid, 1995).

(v) Rendahnya ekspresi dari gen-gen yang mengontrol tahap-tahap penting dari jalur biosintesis (Subroto dan Artanti, 1996). Hal ini didukung oleh: (a) Metabolit sekunder biasanya diekspresikan dalam jumlah banyak (*highly expressed*) dalam organ-organ yang terdiferensiasi dan jaringan-jaringan dari tanaman utuh/ lengkap, dan ditekan (*repressed*) dalam sel-sel kultur (Trolinder, 1991). (b) Metabolisme sekunder dalam tanaman kemungkinan juga sangat dipengaruhi oleh perubahan ekspresi dari gen-gen pengatur (Edwards dan Gatehouse, 1999). (c) Penelitian pada saat ini menyimpulkan bahwa bagian (*compartment*) spesifik dari sel, jaringan dan organ pada biosintesis AIM, dan metabolisme sekunder secara umum, diatur oleh ekspresi yang berbeda dari jalur-jalur biosintesis dan dikontrol oleh transport intermedier pada tempat yang tepat untuk akumulasi (Pierre *et*

al., 1999). (d) Hubungan tentang perbedaan esensial dalam jalur keseluruhan ekspresi gen-gen antara *disorganised* dan *organised culture* adalah bahwa meskipun jalur struktural gen-gen yang tepat dapat menunjukkan keberadaannya dalam *disorganised culture*, gen-gen tersebut seringkali tidak diekspresikan. Hal ini mungkin menyebabkan kenyataan bahwa faktor-faktor transkripsi yang tepat menjadi tidak aktif. Bila pembentukan faktor-faktor transkripsi yang tepat dapat diaktifkan (*switched on*), maka pembentukan produk sekunder dapat terjadi (Walton *et al.*, 1999).

(vi) Adanya kendala biologis dari sel atau jaringan yang menghambat sintesis metabolit sekunder. Hal ini didasarkan pada: (a) Salah satu faktor utama yang menentukan ada atau tidaknya akumulasi metabolit sekunder, ditentukan juga oleh hubungannya dengan pembentukan dan diferensiasi (perbedaan sifat) sel dari tanaman tersebut. Selain itu, keberhasilan sintesis metabolit sekunder pada kultur *in vitro* dipengaruhi oleh faktor lingkungan media (yaitu cahaya, ZPT, prekursor serta nutrisi) dan kendala biologis (yaitu pertumbuhan, perbedaan morfologi dan perbedaan aktivitas biosintesis) (Butcher dan Tabata dalam Dalimoenthe, 1987). (b) Perbedaan morfologi: pada tanaman tingkat tinggi, ada senyawa-senyawa tertentu yang disintesis atau diakumulasi hanya oleh organ atau jaringan tertentu. Misalnya nikotin disintesis oleh bagian akar tembakau, kemudian diangkut (ditranslokasikan) ke daun untuk disimpan. Pembentukan morfin tidak dapat terjadi, karena bentuk sel yang tidak teratur pada kultur tersebut. Tetapi ada juga senyawa-senyawa yang tidak membutuhkan organ atau jaringan khusus untuk menghasilkan metabolit sekunder, misalnya derivat shikonin, resin, opium dan lain sebagainya (Tabata dalam Dalimoenthe, 1987). Mengingat reserpin terlokalisasi sebagian besar pada bagian akar tanaman *R. serpentina* di alam, maka kemungkinan akumulasinya di dalam kultur *in vitro* tidak dapat terjadi karena organ penyimpanannya yang berupa akar tidak tersedia di dalam kultur kalus tersebut. (c) perbedaan aktivitas biosintesis: perbedaan bentuk dan fungsi sel merupakan faktor lain yang juga berpengaruh terhadap sintesis metabolit sekunder (Tabata dalam Dalimoenthe, 1987). Dengan demikian kemungkinan terdapat perbedaan bentuk dan fungsi sel pada kalus *R. serpentina* dalam kultur *in vitro* dan di dalam tanaman *R. serpentina in vivo*, sehingga menyebabkan perbedaan aktivitas biosintesis dan sintesis metabolit sekunder di dalam kalus tidak dapat berlangsung dengan baik. Butcher dalam Dalimoenthe (1987) menyatakan bahwa tampaknya enzim, organel spesifik, kecocokan antara enzim dengan substrat, dan ketersediaan lokasi untuk penyimpanan, merupakan pembatas untuk sintesis senyawa-senyawa metabolit sekunder.

(vii) Prekursor DL-triptofan tidak digunakan untuk membentuk alkaloid-reserpin, tetapi digunakan untuk membentuk senyawa yang lain, misalnya: (a) asam nikotinat, karena triptofan juga merupakan prazat dari asam nikotinat/ niasin

(vitamin B) (Manitto, 1992). (b) fitoaleksin, glukosinolat, indole- dan anthranilat. Tanaman juga menggunakan jalur biosintesis triptofan untuk menyediakan prekursor terhadap sintesis hormon auksin (Indole-3-acetic acid/ IAA), fitoaleksin, glukosinolat, dan indole- serta anthranilat yang keduanya merupakan derivat alkaloid (Radwanski dan Last, 1995). (c) hormon auksin (Indole-3-acetic acid/ IAA) (Salisbury dan Ross, 1995; Radwanski dan Last, 1995).

(viii) Pada proses biosintesis AIM dibutuhkan tipe sel spesifik dan kontrol perkembangan yang tidak tersedia di dalam kultur *R. serpentina*, sehingga proses biosintesis AIM menjadi terhambat. Kesimpulan ini didasarkan hasil penelitian Pierre *et al.* (1999) bahwa koordinasi pengaturan dari gen-gen *tdc* dan *str 1* mRNAs (gen-gen yang menyandikan enzim triptofan dekarboksilase dan striktosidin sintase) pada tanaman *Catharanthus roseus* berhubungan (berasosiasi) dengan tipe sel spesifik dan kontrol perkembangan (*developmental control*). Dalam morfogenesis, proses perkembangan menghasilkan spesialisasi biokimia dari sel-sel pada biosintesis dan/atau akumulasi metabolit sekunder, seperti fenilpropanoid, monoterpenoid dan alkaloid.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan, dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan prekursor DL-triptofan berpengaruh terhadap penurunan pertumbuhan kalus *R. serpentina* dalam media MS secara *in vitro*. Selain itu penambahan prekursor DL-triptofan terhadap produksi alkaloid-reserpin pada kalus *R. serpentina* dalam media MS secara *in vitro* belum dapat diketahui secara pasti, karena belum terdeteksi pada hasil analisis dengan KLT.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang analisis kandungan alkaloid-reserpin secara kualitatif dan kuantitatif sekaligus isolasinya dengan metode dan alat lain yang lebih baik, misalnya dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)/ high performance liquid chromatography (HPLC) yang mempunyai tingkat kepekaan yang lebih tinggi daripada KLT dalam menganalisis kandungan senyawa kimia dalam jaringan tumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimoenthe, S.L. 1987. Kultur jaringan sebagai sarana untuk menghasilkan metabolit sekunder. Dalam Pramono, S., D. Gunawan dan C.J. Soegihardjo (ed.) *Buku Risalah Seminar Nasional Metabolit Sekunder 1987*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM.
- Edwards, R. and J.A. Gatehouse. 1999. Secondary Metabolism. In Lea, P.J. and R.C. Leegood (eds.) *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Second edition. London: John Wiley and Sons Ltd.
- Ernawati, A. 1992. Produksi senyawa-senyawa metabolit sekunder dengan kultur jaringan tanaman. Dalam

- Wattimena, G.A. (ed.) *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: PAU Bioteknologi IPB.
- Hamid, A. 1995. Khasiat pule pandak. *Trubus* 304: 72-73.
- Lestari, E.G. dan I. Mariska. 1997. Kultur *in vitro* sebagai metode pelestarian tumbuhan obat langka. *Buletin Plasma Nutfah* 2 (1): 1-8.
- Lestari, E.G. dan I. Mariska, 2001. Perbanyakan dan penyimpanan tanaman *Rauvolfia serpentina* secara *in vitro*. *Bul. Plasma Nutfah*. 7 (1): 40-45.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Penerjemah: Koensoemardiyah. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Pierre, B.S., F.A.V. Flota, and V.D. Luca. 1999. Multicellular compartmentation of **Catharanthus roseus** alkaloid biosynthesis predict intercellular translocation of a pathway intermediate. www.plantphysiol.org.
- Radwanski, E.R., and R.L. Last. 1995. Tryptophan biosynthesis and metabolism: biochemical and molecular genetics. *The Plant Cell* 7 (7): 921-934.
- Ramawat, K.G., R. Sharma, and S.S. Suri. 1999. Medicinal plants. In Ramawat, K.G. and J.M. Merillon (ed.) *Biotechnology Secondary Metabolites*. New Hampshire: Science Publishers, Inc.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Padmawinata, K. Bandung: Penerbit ITB.
- Sakya, A.T. 1995. Produksi metabolit sekunder melalui pengembangan sel tanaman. *Caraka Tani* 11: 7-17.
- Salisbury, F.B. and C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3. Bandung: Penerbit ITB.
- Staba, E.J. 1980. *Plant Tissue Culture as a Source of Biochemistry*. London: CRC Press, Inc.
- Subroto, M.A. dan N. Artanti. 1996. Produksi metabolit sekunder dari tanaman melalui teknik biak sel dan jaringan: suatu rintisan ke arah tahap komersialisasi industri. *Warta Biotech* 10 (1): 5-9.
- Sugiarso, D. 1999. Kadar alkaloid total kalus **Catharanthus roseus** (L) G. Don pada media MS dengan penambahan triptofan. *Abstrak Hasil Penelitian* 12: 59-60.
- Trolinder, N.L. 1991. Use of plant bioregulators in tissue culture. In Gausman, H.W. (ed.) *Plant Biochemical Regulators*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Walton, N.J., A.W. Alfermann, and M.J.C. Rhodes. 1999. Production of secondary metabolites in cell and differentiated organ cultures. In Wink, M. (ed.) *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*. Sheffield: Sheffield Academic Press and CRC Press.
- Wattimena, G.A. 1992. *Bioteknologi Tanaman*, Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.

Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Peningkatan Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) akibat Pemberian Asetaminofen

Effects of turmeric extract (Curcuma domestica Val.) on the increase of SGOT and SGPT level in the mice (Rattus norvegicus) due to the acetaminophen administration

HARTONO^{1,*}, IDA NURWATI¹, FANY IKASARI¹, WIRYANTO²

¹ Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

² Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta (UNS) Surakarta 57126

* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-664178. email: hartonofkuns@yahoo.com

Diterima: 17 Mei 2005. Disetujui: 15 Juni 2005.

Abstract. Turmeric (*Curcuma domestica* Val.) contains a peculiar substance called *curcumin* that bears medical merit. The results of various types of study with *curcumin* show that it is able to restore damaged liver cells; therefore, it is predicted that the turmeric extract also bears the same ability. This study aims at finding out whether there is an effect of the turmeric extract on the increase of SGOT and SGPT level in the mice due to the acetaminophen administration. This is an experimental study with a *post-test only controlled group design*. The research used were 20 male mice (*Rattus norvegicus*), Strain Wistar, aged ± 2 months old, weighed 150 grams. They were divided into 4 groups, and each group consisted of 4 mice. Group 1 was control group. Group 2 was exposed to one-time administration of acetaminophen with the toxic dosage of 1.35 grams over each kilogram of body weight. Groups 3 and 4 were each given turmeric extract with the dosage of 5 milligrams and 10 milligrams over each kilogram of body weight respectively; after two hours, they were subject to one-time acetaminophen administration with the dosage of 1.35 grams over each kilogram of body weight. Data gathering was then conducted following 48 hours of the latest treatment by taking the blood samples of the mice through their *sinus orbitalis*. The blood samples from the 4 groups were then examined for their level of SGOT and SGPT with a kinetic method. The data were analyzed by means of ANOVA followed by Post Hoc Test using Tukey test completed with homogenous subsets. The results show a significant effect of the turmeric extract on the increase of the SGOT and SGPT level in the mice due to the acetaminophen administration.

Key words: turmeric, SGOT/SGPT, acetaminophen, mice.

PENDAHULUAN

Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) merupakan jenis temu-temuan yang mengandung *kurkuminoid*, yang terdiri atas senyawa *kurkumin* dan turunannya yang meliputi *desmetoksikurkumin* dan *bisdesmetoksikurkumin* (Ernita dan Rosyidah, 2000). *Kurkuminoid* merupakan bahan aktif dalam rimpang kunyit yang mempunyai aktivitas biologis berspektrum luas, yang salah satunya antihepatotoksik (Sujatno, 1997). Kunyit telah dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat secara luas baik di perkotaan maupun di pedesaan terutama dalam rumah tangga karena berbagai macam kegunaannya. Bagian dari kunyit yang terutama dimanfaatkan adalah rimpangnya yaitu banyak dimanfaatkan untuk keperluan ramuan obat tradisional, bahan pewarna tekstil, bumbu penyedap masakan, rempah-rempah, dan bahan kosmetik. Manfaat rimpang kunyit sebagai obat tradisional antara lain untuk obat gatal, kesemutan, gusi bengkak, luka, sesak napas, sakit perut, bisul, kudis, encok, sakit kuning, memperbaiki pencernaan, antidiare, penawar racun, dan sebagainya (Rukmana, 1999).

Dari penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dapat mencegah kerusakan hati akut yang diinduksi oleh CCl_4 dan asetaminofen pada mencit (Lin et al., 1995). Selain itu juga telah diketahui efek hepatoprotektif dari ekstrak temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc) akibat pemberian asetaminofen pada tikus putih jantan (Nurrochmad dan Murwanti, 2000).

Agen hepatotoksik antara lain asetaminofen. Penggunaan asetaminofen sebagai analgetik dan antipiretik telah dikenal oleh masyarakat umum dan banyak dijual bebas di pasaran. Hal ini menyebabkan dengan mudahnya masyarakat mengkonsumsinya tanpa harus menggunakan resep dokter dan pengetahuan masyarakat mengenai obat ini masih sangat kurang terutama tentang toksisitasnya bila digunakan dalam dosis berlebihan. Akibatnya, obat tersebut sering dikonsumsi dalam dosis berlebihan sampai mencapai dosis toksik sehingga menyebabkan hepatotoksitas, yang ditandai dengan kenaikan kadar *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT), laktat

dehidrogenase, kadar bilirubin serum serta pemanjangan masa protrombin (Wilmana dalam Nurrochmad dan Murwanti, 2000).

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. Kenaikan kadar transaminase serum disebabkan oleh sel-sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis atau hancur. Enzim-enzim tersebut masuk ke dalam peredaran darah. Kadarnya dalam darah tidak hanya disebabkan oleh kerusakan hati karena enzim-enzim tersebut terutama GOT juga terdapat pada organ-organ tubuh yang lain. Hal-hal yang dapat meningkatkan kadar SGOT dan SGPT antara lain penyakit jantung, ginjal, trauma otot yang berat, dan penyakit pada saluran pencernaan (Speicher dan Smith, 1996).

Dengan adanya kandungan senyawa *kurkumin* dalam kunyit, maka penulis ingin mengetahui apakah ada pengaruh ekstrak rimpang kunyit terhadap peningkatan kadar SGOT dan SGPT tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat pemberian asetaminofen.

BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah, sonde lambung, tabung mikropipiler, rak tabung reaksi, tabung reaksi kecil, timbangan.

Bahan yang digunakan adalah, ekstrak kunyit, 56,25 mg air, akuades, Broiller (BR) I, asetaminofen sediaan drop 100 mg/1 mL. Hewan uji adalah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain Wistar dengan umur ± 2 bulan dan berat badan ± 150 gram. BR I digunakan sebagai pakan sebanyak 15-20 gr satu kali sehari dan minuman yang digunakan adalah air biasa sebanyak 15-30 mL satu kali sehari. Dosis pemberian pakan tidak dibedakan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan rancangan penelitian sederhana *pot-test only control group design*, dengan 4 macam perlakuan setiap perlakuan dengan 5 ulangan (Hadi, 1995).

Cara kerja

Kegiatan penelitian dibagi menjadi 2 tahapan yaitu tahap persiapan penelitian dan tahap pelaksanaan penelitian. Tahap persiapan penelitian meliputi adaptasi 20 tikus putih jantan, selama 10 hari di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNS. Pengelompokan hewan uji terdiri atas 5 tikus kelompok kontrol dan 5 tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan I, II dan III. Masing-masing kandang berisi 1 tikus (Suhardjono, 1993). Pengukuran berat badan hewan uji dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan. Pengukuran suhu dan kelembaban udara dilakukan selama penelitian berlangsung.

Tahap persiapan berikutnya adalah pembuatan ekstrak rimpang kunyit. Rimpang kunyit ditimbang seberat ± 500 gram, kemudian dicuci, ditiriskan, lalu

dikeringkan dengan oven 50°C sehingga didapatkan bobot kering. Bobot kering ditimbang lalu dibuat serbuk (digiling dan diayak). Serbuk kering ditimbang ± 50 mg kemudian dimasukkan kertas saring dan dimasukkan *labu soxhlet*. Selanjutnya dilakukan proses *soxhletasi* dengan pelarut alkohol 96% ± 500 mL. Pembuatan ekstrak dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu, Karanganyar. Ekstrak rimpang kunyit didapatkan dalam bentuk kental (pasta). Untuk mempermudah pemberian pada tikus putih, ekstrak diencerkan dengan aquades.

Tahap pelaksanaan penelitian berlangsung selama 3 hari, sebelum perlakuan hewan uji ditimbang lebih dulu. Setelah siap subjek penelitian dibagi dalam empat kelompok, masing-masing kelompok terdiri 5 tikus (Tabel 1.).

Tabel 1. Pembagian kelompok hewan uji dan dosis yang dikenakan.

Kel.	Dosis
1	kelompok kontrol, hanya diberi makanan BR I dan air.
2	kelompok perlakuan I, diberi asetaminofen dosis toksik peroral sebanyak 1,35 gram/kg BB.
3	kelompok perlakuan II, diberi ekstrak kunyit dosis tunggal peroral tiap tikus sebanyak 5 mg/kg BB, pemberian dengan sonde lambung. Setelah 2 jam, diberi asetaminofen dosis toksik sebanyak 1,35 gram/kg BB.
4	kelompok perlakuan III, diberi ekstrak kunyit dosis tunggal peroral tiap tikus sebanyak 10 mg/kg BB dan 2 jam kemudian diberi asetaminofen dosis toksik sebanyak 1,35 gram/kg BB.

Seluruh hewan uji selama pemberian perlakuan diberi makanan BR I dan air. Empat puluh delapan jam setelah pemberian asetaminofen (hari ke-3 penelitian), semua hewan uji (kelompok 1, 2, 3, dan 4) diambil darahnya melalui sinus orbitalis dengan menggunakan tabung mikropipiler sebanyak 1,5 mL kemudian diperiksa kadar SGOT dan SGPT dengan metode kinetik. Pengukuran kadar SGOT dan SGPT dilakukan setelah 48 jam, sebab hepatotoksitas maksimal terjadi 48 jam setelah pemberian asetaminofen (Rachmania dalam Nurrochmad dan Murwanti, 2000).

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Anova dilanjutkan *Post Hoc Test* menggunakan analisis *Tukey* dan *Homogeneous Subset* (Santoso, 2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan asetaminofen sebagai model kerusakan hepar. Indikator kerusakan hepar didasarkan pada perbedaan kadar SGOT dan SGPT antara kelompok 1 dan 2. Hasil pengukuran SGOT dan SGPT tikus putih jantan pada kelompok 1 dan 2 seperti terlihat pada Tabel 2.

Kadar SGOT rata-rata untuk kelompok 1 sebesar 152 U/L. Kelompok 2 kadar SGOT rata-rata 1098 U/L. Kadar SGPT rata-rata untuk kelompok 1 sebesar 48 U/L. Kelompok 2 kadar SGPT rata-rata 318 U/L. Dari uji *Anova* dilanjutkan dengan analisis *Tukey* diketahui bahwa terdapat perbedaan rata-rata kadar SGOT dan SGPT yang bermakna antara kelompok 1 dibanding kelompok 2 ($\alpha = 0,05$). Hal ini ditunjukkan dengan nilai $p=0,000$ baik untuk kadar SGOT dan SGPT. Kadar SGOT dan SGPT pada kelompok 2 jauh lebih tinggi dibanding kelompok 1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian asetaminofen dosis 1,35 gram/kg BB mampu memberikan efek kerusakan pada hepar tikus putih. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Dehpour *et al.* (1999), Nurrochmad dan Murwanti (2000), dan Lin *et al.* (2000).

Pemberian asetaminofen dosis tinggi akan mengakibatkan penurunan proses konjugasi dengan asam glukuronat dan asam sulfat pada hepar yang berakibat peningkatan oksidasi yang dikatalisis sitokrom p-450 sehingga terjadi peningkatan pembentukan *N-acetyl-para-benzoquinoneimine* (NAPQI), dan simpanan *glutathion* hati menjadi berkurang. Terbentuknya metabolit antara NAPQI dalam jumlah yang banyak dan penurunan jumlah *glutathion* hati, akan berakibat terbentuknya ikatan kovalen antara metabolit dengan makromolekul sel-sel hati sehingga terjadi nekrosis atau kerusakan hati. Hepatosit yang rusak melepaskan faktor-faktor penarik dan mengaktifkan makrofag hati, menyebabkan nekrosis sel dengan melepaskan enzim proteolitik lisosomal dan oksigen reaktif. Sel-sel hati yang rusak akan melepaskan enzim-enzim yang menandai kerusakan tersebut diantaranya SGOT dan SGPT (Husadha, 1996).

Tabel 2. Kadar SGOT dan SGPT darah tikus putih (U/L) kelompok 1, 2, 3, dan 4, 48 jam setelah perlakuan terakhir.

Kelompok	kadar SGOT darah tikus putih (U/L) $\pm$ SD	kadar SGPT darah tikus putih (U/L) $\pm$ SD
1 (N = 5)	152,00 $\pm$ 21,40 ^a	48,00 $\pm$ 6,29 ^a
2 (N = 5)	1098,20 $\pm$ 110,99 ^b	318,00 $\pm$ 17,78 ^b
3 (N = 5)	262,20 $\pm$ 30,68 ^a	202,60 $\pm$ 16,88 ^c
4 (N = 5)	214,40 $\pm$ 41,07 ^a	143,00 $\pm$ 98,40 ^d

Keterangan: huruf yang sama pada satu kolom menunjukkan tidak beda nyata pada uji *Anova* dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* dengan $\alpha = 0,05$.

Efek hepatoprotektor dari rimpang kunyit ditunjukkan dari perbedaan kadar rata-rata SGOT/SGPT antara kelompok 2 dan kelompok 3, antara kelompok 2 dan kelompok 4, serta antara kelompok 3 dan kelompok 4. Kadar rata-rata SGOT kelompok 3 sebesar 262 U/L jauh lebih rendah dibanding kadar rata-rata SGOT kelompok 2 yaitu 1098 U/L. Demikian juga kadar SGPT rata-rata kelompok 3 sebesar 202 U/L masih lebih rendah dari kadar rata-rata kelompok 2 yaitu 318 U/L. Hasil analisis statistik dengan uji *Anova* diperoleh hasil terdapat perbedaan rata-rata kadar SGOT dan SGPT yang

bermakna ($\alpha = 0,05$) antara kelompok 2 dibanding kelompok 3, yang ditunjukkan dengan nilai $p = 0,000$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tikus putih yang diberikan rimpang kunyit sebelum pemberian asetaminofen kadar rata-rata SGOT/SGPT jauh lebih rendah dibanding kelompok tikus yang tanpa pemberian rimpang kunyit. Hal ini menunjukkan bahwa rimpang kunyit mampu mencegah kenaikan kadar SGOT/SGPT akibat pemberian asetaminofen dosis toksik. Pengaruh rimpang kunyit sebagai hepatoprotektor semakin jelas pada kelompok 4, yang diberikan rimpang kunyit dengan dosis 2 kali dosis kelompok 3 yaitu 10 mg/kgBB. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2. Terjadi perbedaan kadar rata-rata SGOT/SGPT yang signifikan antara kelompok 4 dibanding kelompok 3, terutama untuk kadar SGPT. Kadar rata-rata SGOT/SGPT kelompok 4 lebih rendah dibanding kelompok 3, meskipun dibanding kelompok 1 (kontrol) kadar rata-ratanya masih lebih tinggi tetapi dibanding kelompok 2 kadarnya masih jauh lebih rendah.

Hasil analisis tersebut di atas menunjukkan bahwa rimpang kunyit memberikan efek hepatoprotektor pada hewan uji. Hasil analisis statistik ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Lin *et al.* (1995). Dari penelitian tersebut telah diketahui bahwa ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dapat mencegah kerusakan hati akut yang diinduksi oleh CCl_4 dan asetaminofen pada mencit. Selain itu juga telah diketahui efek hepatoprotektif dari ekstrak temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc) akibat pemberian asetaminofen pada tikus putih jantan (Nurrochmad dan Murwanti, 2000). Dengan adanya kandungan senyawa *kurkumin* dalam kunyit, yang juga terdapat pada temulawak dan temu putih, maka diharapkan bahwa ekstrak rimpang kunyit dapat memberikan efek serupa.

Rimpang kunyit mengandung senyawa yang berkhasiat obat yaitu *kurkuminoid*, yang terdiri atas *kurkumin*, *desmetoksikurkumin*, dan *bisdesmetoksikurkumin*. Senyawa *kurkumin* ini yang diduga mampu melindungi sel-sel hati dari bahan toksik (Khanna, 1999). *Kurkumin* memberikan karakteristik warna kuning terang dan rasa yang kuat pada kunyit (Anonim, 2004). *Kurkumin* larut dalam alkohol dan asam asetat glasial, tidak larut dalam air dan eter (Budavari *et al.*, 1996). Setelah pemberian peroral akan diabsorpsi oleh usus dan ekskresinya sebagian besar lewat feses. Konsentrasi dalam serum akan mencapai puncak setelah satu jam, kemudian turun sampai nol setelah lima jam (Anonim, 2000). Selain mempunyai efek antihepatotoksik, kunyit juga mempunyai efek antiinflamasi, antibakteri, antiperoksidasi, spasmolitik, meningkatkan sekresi empedu, menurunkan kadar kolesterol darah, serta dapat mencegah perlemakan hati (Sujatno, 1997). *Kurkumin* yang ada dalam ekstrak kunyit berfungsi sebagai antihepatotoksik yang melindungi sel-sel hati dari kerusakan. *Kurkumin* ini telah terbukti mampu meningkatkan muatan *glutathion* hati sehingga kebutuhannya untuk berkonjugasi dengan

NAPQI akan terpenuhi dan tidak terjadi ikatan NAPQI dengan makromolekul hepatosit (Stoner dan Mukhtar, 1995).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak rimpang kunyit pada semua dosis perlakuan mampu memberikan efek hepatoprotektor terhadap kerusakan hepar hewan uji akibat pemberian asetaminofen yang ditandai dengan kenaikan kadar SGOT dan SGPT.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2000. *Curcuminoids: Absorption and Metabolism*. www.curcuminoids.com/absorption.htm
- Anonim. 2004. *Curcumin*. www.loweringcholesterol.net/herbal-remedies/curcumin/what-is-curcumin
- Budavari, S., M.J. O'Neil, A. Smith, P.E. Heckelman, and J.F. Kinneary. 1996. *The Merck Index*. 12th ed. New York: Merck Index Laboratories.
- Dehpour, A.R., H. Zahedi, S. Amini, M. Akhgari, and M. Abdollahi. 1999. *Effects of Glycyrrhiza Derivates Against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity*. www.sums.ac.ir/~ijms/9912/dehpour9912.html
- Ernita, D. dan R. Rosyidah. 2000. *Kunyit (Curcuma domestica Val.)*. www.asiamaya.com/jamu/isi/kunyit_curcumaedomestica.htm
- Hadi S., 1995. *Statistik*. Jilid 3. Cetakan 19. Yogyakarta: Andi Offset.
- Husadha, Y. 1996. Fisiologi dan pemeriksaan biokimiawi hati. Dalam: Noer, S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid I. Edisi ke-3. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Khanna, N.M. 1999. *Turmeric-Nature's Precious Gift*. www.ias.ac.in/currsci/may25/articles25.htm
- Lin, S.C., C.C. Lin, Y.H. Lin, S. Supriyatna, and C.W. Teng, 1995. *Protective and Therapeutic Effects of Curcuma xanthorrhiza on Hepatotoxin-induced Liver Damage*. www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&List_uids=8571920&dopt=Abstract
- Lin, S.C., T.C. Chung, T.H. Ueng, Y.H. Lin, S.H. Hsu, C.L. Chiang, and C.C. Lin. 2000. *The Hepatoprotective Effects of Solanum alatum Moench. on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Mice*. www.findarticles.com/cf_dls/mOHKP/1_28/65014418/p1/article.jhtml
- Nurrochmad, A. dan R. Murwanti. 2000. Efek hepatoprotektif ekstrak alkohol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc) pada tikus putih jantan. *Pharmacon* 1 (1): 31-36.
- Rukmana, R. 1999. *Kunyit*. Cetakan pertama. Yogyakarta: Kanisius.
- Santoso, S. 2003. *SPSS Versi 10*. Cetakan ke-4. Jakarta: Elex Media Computindo.
- Soehardjono, J. 1993. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Speicher, C.E. dan J.W. Smith. 1996. *Pemilihan Uji Laboratorium yang Efektif*. Penerjemah: Suyono, J.. Cetakan kedua. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Stoner, G.D. and H. Mukhtar. 1995. *Polyphenols as Cancer Chemopreventive Agents_A Review*. www.teahealth.co.uk/cgi_gen/reslib/0000000030.htm
- Sujatno, M. 1997. Efek attapulgit, ekstrak daun *Psidium guajava*, dan ekstrak akar *Curcuma domestica* terhadap diare akut nonspesifik. *Majalah Kedokteran Indonesia* 46 (4): 199-200.

Uji Antimalaria Ekstrak Buah *Morinda citrifolia* dan Aktivitas Makrofag pada Mencit (*Mus musculus*) setelah Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Antimalaria assay of fruit extract of Morinda citrifolia and activity of mice (Mus musculus) macrophage after infecting it with Plasmodium berghei

RAHADI HUTOMO¹, SUTARNO^{1*}, WIEN WINARNO², KUSMARDI³

¹ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126.

² Laboratorium Eksperimental Farmakologi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta 10430.

³ Laboratorium Imunopatologi, Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia (UI) Jakarta 1002.

* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. email: ssutarno@mipa.uns.ac.id

Diterima: 17 Mei 2005. Disetujui: 15 Juni 2005.

Abstract. Malaria is a world wide disease. Death resulting from the disease was caused by the parasite's resistance to the malaria drugs and the problem of immune system. The aims of the research were to know the effect of *M. citrifolia* fruit extract to *Plasmodium berghei* on total red blood cells of mice, and to know the effect of the extract on the number of intraperitoneal macrophage phagocytosing latex after infected by *P. berghei*. Three doses of fruit extract, 200, 150, 100 mg/kg BB were used in this study. Fansidar was used as positive control, while distilled water was used as negative control. The result of this research indicated that dose of 200 mg/kg BB could reduce number of parasitemia to 3.576%, dose of 150 mg/kg BB to 4.107%, and dose of 100 mg/kg BB to 13.331% on day 5, and could not reduce any number of parasitemia on the next day. Inhibition by Fansidar reached 0.201%, while distilled water did not show any inhibition activity. Different macrophage activity on phagocytosing latex was taken place. The average of macrophage activity on phagocytosing latex at dose of 200 mg/kg BB was 3.8x10⁶ cell, at dose of 150 mg/kg BB was 2.53x10⁶ cell/mL, while at dose 100 mg/kg BB was 1.5x10⁶ cell/mL, and 2.43x10⁶ cell/mL for the control. Based on the results of the study, it can be concluded that the reduction of the number of parasitemia taken place at dose 200 and 150 mg/kg BB, although its activity is much lower than malaria drug of Fansidar. Macrophage activities increased at dose of 200 mg/kg BB.

Key words: malaria, *Morinda citrifolia*, parasitemia, *Plasmodium berghei*, macrophage.

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang sampai saat ini masih menjadi masalah utama kesehatan penduduk dunia. Selama 100 tahun, dunia belum dapat memberikan kontribusi yang jelas terhadap pengobatan penyakit ini (Riley, 2000). European Commision (2002) mengatakan bahwa penyakit tersebut tidak hanya menyerang daerah tropis, tetapi juga menyerang daerah subtropis di seluruh dunia. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Reisberg (1994) yang mengatakan bahwa kematian banyak terjadi pada negara-negara yang menjadi daerah endemik malaria, antara lain Negara-negara Asia Tenggara termasuk Indonesia, India, Meksiko, Haiti, Amerika Tengah, dan negara-negara Afrika.

Data WHO menunjukkan bahwa setiap tahun sekitar 300 juta orang di dunia mempunyai resiko yang sama untuk terjangkit penyakit malaria, dengan tingkat kematian dapat mencapai angka 1 - 1,5 juta orang (Yuliandini, 2000), sedangkan Lawrence (2000) menyatakan bahwa sebanyak 3 juta orang yang diketahui meninggal dunia tiap tahunnya selama satu dekade ini disebabkan oleh penyakit malaria.

Sebagai negara endemik menurut Arbani (1991), masalah malaria di Indonesia sering dialami oleh para penduduk yang tinggal di areal persawahan dekat dengan hutan. Selain itu, menurut Departemen Kesehatan RI (1994), peningkatan kasus malaria pertahun yang terjadi di daerah timur akibat adanya pembukaan daerah baru. Pada tahun 1998 dan 1999, menurut Yuliandini (2000), di beberapa daerah, yakni Sumatera, Yogyakarta, Jawa Tengah, Lampung dan Sumatera Utara terjadi peristiwa penyebaran malaria secara besar-besaran. Sebanyak 21 orang meninggal dunia pada peristiwa tersebut, dari 18.812 kasus yang telah dilaporkan. Selain itu dari sumber yang sama, sekitar 10.000 orang terjangkit malaria di Banyumas, Jawa Tengah. Menurut Barcus (2002), antara tahun 1986 dan 1995 angka *annual parasite incidence* (API) di Purworejo berkisar antara 2-11 kasus per 1000 penduduk dalam satu tahun, dari yang biasanya hanya 5 kasus per tahun. Pada tahun 2000, jumlah API pada wilayah tersebut menjadi 44,5%.

Kematian akibat malaria banyak disebabkan oleh lingkungan yang sesuai untuk penyebaran parasit dan sudah resistannya *Plasmodium falciparum* terhadap obat anti-malaria yang sering digunakan,

seperti klorokuin (CQ) (Najera, 1996). Di lain pihak, lemahnya imunitas merupakan salah satu penyebab kematian penderita malaria pada usia anak (Kuby, 1997). Laporan pertama tentang resistansi *P. falciparum* terhadap klorokuin ialah pada awal tahun 1960an di Amerika Selatan dan Asia Tenggara. Menurut D'Alessandro dan Buttiens (2001) kejadian tersebut terulang kembali di Afrika pada akhir tahun 1970. Kemudian kejadian tersebut terus menyebar, menurut Jelinek *et al.*, (2002) banyak penyebaran resistansi tersebut sering disebabkan oleh adanya perpindahan penduduk dari daerah endemik menuju ke daerah yang baru, sedangkan kasus resistansi *P. falciparum* terhadap CQ di Indonesia seperti yang dilaporkan Arbani (1991) sudah menyebar sampai 27 propinsi di Indonesia.

Selain menimbulkan kematian, menurut Noble dan Noble (1983) penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan pada organ-organ dalam. Kerusakan tersebut antara lain adalah kerusakan pada otak yang dapat menimbulkan kerusakan pada selaput otak dan terjadi hemoragi pada daerah serebrum. Terjadinya *Black-water fever*, akibat adanya hemolisis intravaskuler yang kemudian diikuti oleh hemoglobinuria. Selain itu masih seringnya peristiwa relapse (kambuh) dan reinfeksi (infeksi ulang) pada penyakit ini.

Kayser *et al.*, (2000) mengatakan banyak senyawa alam dari tumbuhan dapat dijadikan senyawa antimalaria alternatif pengganti obat malaria yang sudah resistan terhadap parasit. Menurut Dzulkarnain (1998) tanaman obat di Indonesia dapat dijadikan sebagai antimalaria, yang bersifat *antiplasmodia* dan juga bersifat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit malaria. Adanya pemberian tanaman obat tersebut terbukti dapat memperpanjang umur mencit yang terserang malaria dengan mencegah kerusakan pada hati dan limpa.

Sudarsono *et al.*, (2002) mengatakan bahwa *Morinda citrifolia* L. biasa digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati malaria. Makiinde dan Awe (1997) mengatakan hal yang sama bahwa ekstrak etanol daun *M. lucida* dapat menghambat *P. falciparum* secara *in vitro*, pada penelitian lain Koumaglo *et al.*, (1992) dalam Sudarsono *et al.*, (2002) menyatakan bahwa tiga komponen dari ekstrak kulit batang dan kulit akar, yaitu digitolurein, rubiadin-1-metil, dan damnakantal terbukti menghambat pertumbuhan *P. falciparum* secara *in vitro*. Selain itu pada *P. berghei* juga telah dilakukan penelitian, yaitu oleh Obih *et al.*, (1985) menggunakan *M. lucida* sebagai penghambat pertumbuhan dari *P. berghei*.

Bahan aktif yang sering ditemukan pada buah *M. citrifolia* adalah: L-arginine (Solomon, 1998), xeronine (Wang *et al.*, 2002), senyawa polisakarida (Hirazumi dan Furusawa, 1999), damnakantal (Koumaglo *et al.* 1992) dan antrakuinon. Senyawa-senyawa ini antara lain berfungsi sebagai antiviral, sitotoksik, dan antimikrobia (Ali *et al.*, 2000). Selain itu buah *M. citrifolia* juga mengandung senyawa morindon, soranjidiol, scopoletin, dan terpene.

Penelitian yang dilakukan oleh Hirazumi dan Furusawa (2000) menyatakan bahwa *M. citrifolia* juga dapat menekan pertumbuhan tumor dengan meningkatkan aktivitas sistem imun inang dan mengurangi aktivitas agen immunosupresif. Mekanisme penghambatan tersebut diindikasikan oleh terstimulasikannya faktor sistem imun, antara lain tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-10, interleukin-12 p70, dan interferon- γ (IFN- γ). Selain itu *M. citrifolia* diduga dapat menginduksi aktivasi dari makrofag.

Semakin banyaknya kasus resistansi malaria terhadap CQ, dan belum adanya penelitian tentang potensi antimalaria dari *M. citrifolia*, hal tersebut merupakan faktor yang melatarbelakangi diadakannya penelitian ini. Selain itu, kemampuan dari *M. citrifolia* yang dapat meningkatkan imunitas terhadap suatu penyakit. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mengetahui potensi antimalaria *M. citrifolia* sebagai antiplasmodia dan imunomodulator terhadap penyakit malaria.

Penelitian ini bertujuan untuk: (i) mengetahui pengaruh ekstrak buah *M. citrifolia* terhadap angka parasitemia mencit setelah diinfeksi *P. berghei*, (ii) mengetahui pengaruh ekstrak buah *M. citrifolia* terhadap jumlah makrofag intraperitoneal yang memfagositosis lateks setelah diinfeksi *P. berghei* pada mencit.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan, yaitu mulai dari bulan Maret s.d. April 2004, di Laboratorium Eksperimental Farmakologi Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional Litbang Depkes RI, Jakarta dan Laboratorium Imunopatologi, Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Bahan dan alat

Bahan hewan uji. Hewan uji berupa mencit jantan galur swiss, dengan berat badan 25-35 g, dan berumur antara 6-8 minggu. Bahan makanan mencit digunakan pakan mencit BR I.

Bahan tanaman. Bahan tanaman berupa buah *M. citrifolia* didapat dari Perkebunan Toga Saridatra, Banjar Arum, Kalibawang, Kulon Progo.

Cara kerja

Rancangan percobaan

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Percobaan pertama bertujuan melihat jumlah parasitemia menggunakan 5 perlakuan dengan masing-masing 5 ulangan, sedangkan percobaan kedua bertujuan melihat persentase fagositosis makrofag menggunakan 4 perlakuan masing-masing 6 ulangan.

Pengambilan tanaman

Buah *M. citrifolia* yang sudah matang dan segar dengan warna sedikit cerah.

Pembuatan ekstrak buah *M. citrifolia*:

Buah *M. citrifolia* dibersihkan, diiris tipis-tipis dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 40° C, kemudian digiling halus menggunakan blender. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode perkolasi. Serbuk kering buah *M. citrifolia* direndam dengan larutan etanol 95% dalam gelas beker selama 3 jam, kemudian dipindahkan dengan hati-hati kedalam perkolator sambil ditekan, dan ditambah larutan penyari etanol 70%, lalu didiamkan selama 24 jam. Perkolat akan menetes dari kran yang telah dibuka. Perkolasi dihentikan jika cairan sudah tidak pekat atau lebih jernih. Perkolat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C, lalu dikeringkan dengan oven hingga menjadi ekstrak kering.

Pemeliharaan mencit

Sebelum dilakukan perlakuan mencit, diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 1 minggu. Proses inokulasi atau transfer *P. berghei* pada mencit: Proses transfer *P. berghei* didapat dari mencit donor yang sudah diinfeksi. Tiga ekor mencit donor diambil darahnya dari sinus orbitalis menggunakan kapiler hematokrit yang terlebih dahulu diberi heparin, lalu ditampung dalam tabung. Ketiga darah tersebut dikocok, kemudian dihitung angka parasitemianya jika mencapai 2-3%, maka sudah dapat diinfeksi ke mencit yang lain, selanjutnya pada setiap mencit disuntikkan darah yang mengandung *P. berghei* sebanyak 0,1 mL secara peritoneal (Dewi *et al.*, 1996).

Perlakuan pada hewan uji

Mencit dibagi 2 kelompok besar berdasarkan jenis percobaan. Kemudian dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan dosis perlakuan dan kontrol. Kelompok pertama dengan metode 7 hari test untuk melihat angka parasitemia dengan metode pemberian dilakukan secara peroral:

- kelompok I : dosis 200 mg/kg BB
- kelompok II : dosis 150 mg/kg BB
- kelompok III : dosis 100 mg/kg BB
- kelompok IV : kontrol positif menggunakan fansidar 20 mg/kg,
- kelompok V : kontrol negatif hanya diberikan akuades

Kelompok kedua dilakukan selama 4 hari, tanpa diberikan kontrol positif karena fansidar hanya bersifat antiplasmodia, kelompok ini bertujuan untuk mengetahui persentase fagositosis makrofag yang dilakukan secara peroral:

- kelompok I : dosis 200 mg/kg BB
- kelompok II : dosis 150 mg/kg BB
- kelompok III : dosis 100 mg/kg BB
- kelompok IV : kontrol hanya menggunakan akuades

Penentuan dosis tersebut didasarkan pada penelitian Murray (2000), untuk ekstrak buah *M.*

citrifolia mempunyai dosis aman untuk manusia antara 500-1000 mg per hari. Dosis tersebut dikonversikan terlebih dahulu untuk penentuan dosis mencit dengan angka konversi 0,0026, hasil yang didapat sebesar 91-182 mg/kg BB.

Dalam penelitian ini digunakan dua perlakuan. Perlakuan pertama dilakukan menggunakan tes 7 hari, yaitu 7 hari pengamatan angka parasitemia dengan pemberian ekstrak buah *M. citrifolia* selama 3 hari berturut-turut (Dewi *et al.*, 1996). Perlakuan kedua yang ditujukan untuk pengamatan makrofag yaitu 4 hari diberikan ekstrak *M. citrifolia*, kemudian hari terakhir diamati, karena melakukan dua perlakuan yang berbeda maka populasi mencit yang digunakan juga berbeda.

Pemeriksaan pada hewan uji

Dilakukan pemeriksaan angka parasitemia setiap hari sampai hari ke-7, dengan membuat sediaan darah tipis dan tebal. Pemeriksaan tersebut dilakukan dengan memotong ujung ekor mencit. Selain itu, dilakukan perhitungan kemampuan fagositosis dari sel makrofag pada perlakuan 4 hari pemberian bahan uji, yaitu pada hari akhir mencit dibunuh dan diambil sampel cairan peritoneal.

Analisis angka parasitemia. Perhitungan parasit digunakan metode apus darah Giemsa. Darah perifer dalam volume 1,0-1,5 mikroliter diambil kemudian dibuat preparat apus darah metode tipis dan tebal dengan metode pewarnaan Giemsa yang sudah diberi buffer. Perhitungan parasitemia dilakukan secara manual dengan menghitung prosentase jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei* dalam 1000 sel darah merah (Kakkilaya, 2002).

Analisis fagositosis makrofag. Dalam melakukan analisis fagositosis makrofag menurut (Fitriani, 2002) yang telah dimodifikasi oleh (Kusmardi, 2004) dilakukan dua cara yaitu mengisolasi makrofag dan pemeriksaan fagositosis makrofag dengan lateks.

Isolasi makrofag. Sebelum dibunuh mencit disuntik larutan garam fisiologis sebanyak 3 mL pada daerah intraperitoneal. Mencit dibunuh menggunakan dietileter, lalu dibaringkan telentang dan kemudian disuntikkan kembali garam fisiologis sebanyak 3 mL. Membuat irisan kecil pada kulit menggunakan gunting, setelah terlihat peritoneal, dengan jarum suntik 5 mL cairan intraperitoneal diambil sebanyak 5 mL. Cairan intraperitoneal sebanyak 5 mL tersebut dipindahkan ke dalam tabung dan kemudian disentrifuge 1600 rpm selama 5 menit, kemudian dicuci dengan PBS sebanyak dua kali. Proses selanjutnya adalah proses purifikasi makrofag, natan dari hasil sentrifuge di atas dimasukkan ke dalam wadah plastik yang disebut botol *flush*, botol *flush* tersebut sudah berisi medium RPMI. Kemudian diinkubasi selama satu malam pada inkubator CO₂ dengan suhu 37° C. Setelah melewati satu malam, proses purifikasi dilanjutkan dengan membuang medium RPMI dari botol *flush*, dan menambahkan serum dan ditunggu selama 15 menit untuk melepas sel – sel makrofag

yang menempel pada dinding plastik botol *flush*. Selanjutnya dilakukan proses pembiakan atau kultur yang dimulai dengan memindahkan larutan serum dengan sel-sel makrofag tersebut ke dalam tabung, dan kemudian disentrifuge 1600 rpm selama 5 menit. Kemudian dihitung dengan hemacytometer, untuk mengetahui jumlah sel makrofag yang akan dikultur. Natan hasil sentrifuge tersebut, dengan jumlah sel makrofag rata-rata 5×10^5 sel dipindahkan ke dalam botol *flush* untuk dikultur. Sebelumnya botol *flush* sudah diberi medium lengkap (RPMI yang ditambahkan *Fungizone*, dan *Serum* 10%). Proses mengkultur dilanjutkan dengan menginkubasi pada CO₂ inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pemeriksaan fagositosis makrofag dengan lateks. Suspensi makrofag yang sudah dikultur dipindahkan ke dalam tabung, kemudian botol *flush* diberi serum kembali untuk mendapatkan makrofag yang cukup banyak, setelah itu dicuci dengan RPMI. Setelah dicuci dengan RPMI, larutan sel-sel makrofag diberikan suspensi Lateks, lalu didiamkan selama 5 menit. Jumlah sel makrofag yang memfagositosis lateks dihitung menggunakan hemacytometer.

Pengamatan gejala klinis. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat keadaan fisik dan berat badan mencit selama 7 hari berturut-turut.

Analisis data

Analisis yang digunakan adalah kuantitatif dan kualitatif. Analisis kuantitatif digunakan dalam pengamatan data primer, yaitu angka parasitemia dan persentase fagositosis makrofag. Data angka parasitemia dianalisis sidik ragam menggunakan uji ANOVA dua arah, kemudian dilakukan uji lanjut LSD bila ada perbedaan yang nyata. Sedangkan data persentase jumlah makrofag akan dianalisis dengan ANOVA satu arah, kemudian dilakukan uji lanjut Duncan dan SNK. Data kualitatif seperti berat badan mencit akan dijadikan data pendukung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penurunan angka parasitemia saat pemberian ekstrak buah *M. citrifolia*

Penghitungan angka parasitemia mencit merupakan metode yang biasa digunakan dalam penelitian malaria. Fungsi dari penghitungan ini adalah untuk menentukan positif tidaknya seekor mencit setelah diinfeksi melalui intraperitoneal sel darah merah yang telah terinfeksi *P. berghei*. Selain itu, juga dapat diketahui berapa angka parasitemia mencit tersebut. Parasitemia ialah persentase jumlah sel darah merah yang terinfeksi oleh *P. berghei*

dalam 1000 sel darah merah. Metode ini dapat dilakukan dengan mengamati sel darah merah dalam preparat apus darah yang dibuat menggunakan metode pewarnaan giemsa. Pewarnaan giemsa merupakan pewarnaan yang paling sering digunakan karena berfungsi membedakan antara sel darah merah yang terinfeksi dan yang tidak terinfeksi. Dengan demikian maka, penghitungan angka parasitemia dari mencit dapat digunakan untuk mengetahui penambahan jumlah *P. berghei*. Perlakuan yang diberikan pada hewan uji menggunakan metode 7 hari pengamatan angka parasitemia, dengan pengobatan selama 3 hari berturut-turut. Hal tersebut sesuai keputusan Departemen Kesehatan RI tahun 1995. Metode ini bertujuan untuk mengetahui bahan atau obat yang diberikan dapat dijadikan obat penyakit malaria.

Tabel 1. menunjukkan bahwa pada semua kelompok di hari pertama mempunyai angka parasitemia yang mendekati seragam, yaitu antara 3-4%. Hal ini karena penyuntikan darah dengan jumlah yang sama pada saat transfer *P. berghei*, sehingga jumlah parasit pada darah mempunyai rata-rata yang sama. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Murdiani (2000), yang memberitahukan bahwa dengan menginjeksi darah yang terinfeksi *P. berghei* sebanyak 0,1 mL didapat rata-rata jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei* antara 2-3% angka parasitemia pada hari pertama.

Tabel 1. menunjukkan bahwa secara umum pada kelompok I dan II mengalami penurunan sampai pada hari ke-5. Pada hari ke-5 angka parasitemia berturut-turut menjadi sebesar 3,576% dan 4,107%. Sedangkan, pada hari ke-6 dan ke-7 terjadi peningkatan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei*. Terjadinya penurunan yang dialami oleh kelompok I dan II, disebabkan adanya pemberian ekstrak buah *M. citrifolia* selama 3 hari, yang dapat menurunkan dan menahan laju pertumbuhan sampai dengan hari ke-5. Sedangkan pada hari ke-6 sampai hari ke-7 terjadi peningkatan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei*, hal ini karena sudah tidak diberikan ekstrak buah *M. citrifolia*. Penurunan pada hari ke-5 sekitar 3-4%, jumlah ini dianggap masih dapat meningkatkan jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei*. Karena menurut Dewi *et al.*, (1996), angka parasitemia yang dianggap positif jika mempunyai

Tabel 1. Jumlah rata-rata angka parasitemia (%) selama 7 hari.

	Kel I	Kel II	Kel III	Kel IV	Kel V
Hari 1	4,296±0,687	4,301±0,776	3,926±0,796	3,921±0,683	4,644±0,834
Hari 2	14,014±5,63	8,967±5,674	11,341±2,736	1,777±0,208	15,08±6,239
Hari 3	9,688±3,350	13,798±8,732	11,685±5,121	1,431±0,308	16,862±6,883
Hari 4	4,941±1,147	8,469±6,624	11,554±3,564	0,552±0,213	18,367±7,965
Hari 5	3,576±0,543	4,109±0,526	13,331±3,523	0,299±0,116	21,399±3,918
Hari 6	14,962±1,719	7,991±1,619	23,952±5,730	0,275±0,068	21,821±2,077
Hari 7	24,301±3,853	16,363±2,975	28,044±2,513	0,201±0,078	24,259±1,858

Keterangan: kelompok I: dosis 200 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* kelompok II: dosis 150 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* kelompok III: dosis 100 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* kelompok IV: kontrol positif menggunakan fansidar, kelompok V: kontrol negatif hanya diberikan akuades.

angka parasitemia minimal 2-3%. Oleh sebab itu, dengan jumlah sel darah merah yang terinfeksi oleh *P. berghei* lebih besar dari 2-3%, maka akan memudahkan *P. berghei* dapat berkembang lagi tanpa adanya pemberian ekstrak buah *M. citrifolia*.

Kelompok III yang merupakan dosis terkecil, pada kelompok ini tidak menunjukkan adanya penurunan angka parasitemia. Hal tersebut terlihat antara hari ke-2 sampai hari ke-4 angka parasitemia mempunyai nilai rata-rata yang hampir sama yaitu berkisar 11%. Kemudian angka parasitemia meningkat hingga menjadi 28,044% di hari ke-7. Hal tersebut lebih disebabkan kecilnya jumlah pemberian dosis ekstrak yang diberikan kepada mencit yang terinfeksi malaria *P. berghei*, sehingga dosis tersebut tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei*.

Kelompok IV menggunakan perlakuan dengan fansidar. Pada kelompok ini di hari ke-2 sudah terlihat penurunan sebesar 2,144% dengan jumlah awal pada hari pertama rata-rata sebesar 3,921% yang kemudian menjadi 1,772% pada hari ke-2. Pada hari keempat tercatat persentase parasitemia mencapai rata-rata 0,552%. Setelah hari ke-4 penurunan masih terjadi hingga hari ke-7 dengan nilai 0,201%. Sebagaimana yang telah diketahui, fansidar merupakan obat malaria yang biasa digunakan dan relatif aman (Basco *et al.*, 2001). Maka sudah sepantasnya didapatkan hasil yang terbukti menurunkan angka parasitemia hingga 0,201% pada nilai terendah.

Kelompok V merupakan kelompok kontrol yang hanya diberikan akuades. Pada kelompok ini tidak terjadi penurunan, tetapi yang terjadi adalah peningkatan angka parasitemia. Pada hari ke-2 terjadi peningkatan 10,436% yang mengubah angka parasitemia menjadi 15,080%. Peningkatan tersebut terus terjadi hingga hari ke-7 yang mempunyai angka parasitemia sebesar 24,259%. Dikarenakan hanya akuades yang diberikan pada mencit kelompok ini maka angka parasitemia pada kelompok ini terus meningkat. Pada hari ke-5 salah satu mencit dari kelompok ini mati, hal tersebut dapat terjadi karena akuades tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei*, sehingga terjadi kematian pada mencit tersebut.

Kematian yang terjadi pada kelompok V sesuai dengan penelitian yang sudah pernah dilakukan oleh Dewi *et al.* (1997) mengatakan bahwa kematian mencit lebih dipengaruhi oleh tingkatan pasase atau proses transfer parasit dari mencit ke mencit. Semakin tinggi tingkat pasasennya maka tingkat virulensi parasit tersebut semakin ganas. Pada penelitian ini digunakan pasase pertama, kematian terjadi pada hari ke-5. Hal tersebut sama seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi *et al.*, (1997) yaitu banyak kematian terjadi pada hari ke-5 dan ke-6.

Selain itu, dalam hubungan antara angka parasitemia dengan tingkat anemia, menurut Richards *et al.*, (1998) mengatakan bahwa dari 148 penderita malaria akut *P. falciparum*, dengan 75% mempunyai angka parasitemia kurang dari 1%, dan 24% penderita malaria lainnya mempunyai angka

parasitemia antara 1-5%. Pada 148 penderita malaria tersebut didapat jumlah penderita yang anemia sebanyak 15%. Berdasarkan data di atas narasumber mengatakan bahwa anemia tidak ada hubungannya dengan jumlah parasitemia. Dewi *et al.*, (1996) menambahkan bahwa semakin lama mencit terinfeksi malaria *P. berghei* maka anemia yang dialami mencit tersebut semakin berat. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin di hari ke-5 pada mencit yang terinfeksi *P. berghei*. Mencit normal pada penelitian tersebut mempunyai jumlah eritrosit sebesar 4,3 juta/ μ L dan mempunyai kadar hemoglobin sebesar 12,89 g/dl, sedangkan mencit yang terinfeksi *P. berghei* mempunyai jumlah 2,7 juta/ μ L dengan kadar hemoglobin sebesar 7,73 g/dl.

Data perubahan angka parasitemia tiap harinya dianalisis menggunakan statistik dengan uji ANOVA dua arah, yaitu perubahan angka parasitemia sangat dipengaruhi oleh pemberian dosis dan perubahan hari. Setelah dianalisis didapat nilai signifikansi ($P < 0,05$). Hal tersebut berarti bahwa adanya perbedaan pada kelompok I, II, III dan kelompok kontrol negatif serta kelompok kontrol positif. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang nyata maka data tersebut dianalisis dengan Uji LSD.

Hasil analisis statistik uji LSD menunjukkan bahwa selama pemberian ekstrak buah *M. citrifolia* dengan dosis 200 dan 150 mg/kg BB dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* dengan menurunkan angka parasitemia, karena mempunyai signifikansi ($P < 0,05$) terhadap kelompok V (kelompok pemberian akuades). Pada dosis 100 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* tidak dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei*. Walaupun pada saat pemberian ekstrak dosis 200 dan 150 mg/kg BB mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *P. berghei* dengan menurunkan angka parasitemia, tetapi kedua dosis ini tidak dapat dikatakan sebagai bahan untuk pengobatan malaria. Karena kedua dosis ini tidak satupun yang dapat menurunkan sebaik kelompok perlakuan dengan fansidar, atau dengan kata lain kedua dosis tersebut tidak mempunyai efek yang sama dengan obat malaria yang biasa digunakan yaitu fansidar. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi kelompok I dan II ($P < 0,05$) terhadap kelompok IV atau kelompok pemberian fansidar.

Menurut Keyser *et al.*, (2000) tiap bahan atau obat antimalaria mempunyai mekanisme penghambatan yang spesifik, begitu pula senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan. Sebagai pembanding, obat Fansidar yang tersusun dari senyawa pirimetamin dan sulfadoksin. Kedua senyawa ini menurut Gatton *et al.*, (2004) berfungsi sebagai penghambat kerja dua enzim fungsional pada biosintesis senyawa folat parasit. Enzim tersebut adalah *dihydrofolate reductase* dan *dihydropteroate synthetase*.

Menurut Hunter *et al.*, (2003) senyawa folat memegang peranan penting dalam pertumbuhan sel, jalur metabolisme, termasuk sintesis DNA dan RNA, serta pembentukan protein dari asam amino.

Karena pentingnya enzim dihydrofolate reductase dalam metabolisme, maka enzim ini sering menjadi target dari obat antibakteri, dan penyakit yang disebabkan oleh parasit sebagai contoh malaria.

Enzim *dihydrofolate reductase* ialah enzim yang sangat berperan dalam pembentukan tetrahydrofolat (THF). THF tersebut adalah bentuk aktif dari senyawa folat atau asam folat. Folat akan mengalami penambahan 2 atom H menjadi dihydrofolat, yang kemudian dihydrofolat akan mengalami penambahan 2 atom H menjadi tetrahydrofolat. Kedua reaksi tersebut dapat terjadi karena adanya enzim *dihydrofolate reductase* (McKee and McKee, 1999).

Pada ekstrak buah *M. citrifolia* belum diketahui secara spesifik bagaimana ekstrak ini dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei*. Tetapi penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Koumaglo *et al.*, (1992) memberitahukan bahwa pertumbuhan *P. falciparum* dapat dihambat dengan pemberian tiga senyawa yaitu digitolurein, rubiadin-1-metil, dan damnakantal pada ekstrak kulit tangkai dan kulit akar *M. lucida* secara *in vitro*. Kayser *et al.*, (2000) menambahkan bahwa pada senyawa tersebut terdapat gugus aldehid yang berikatan pada atom C no.2, sebagaimana telah diketahui bahwa senyawa aldehid ini lebih sering berfungsi sebagai senyawa yang sitotoksik. Dari sumber yang sama pula disebutkan bahwa struktur planar senyawa damnakantal merupakan penyebab senyawa tersebut mempunyai potensi untuk menghambat pertumbuhan dari *P. falciparum* secara *in vitro*. Hal tersebut karena senyawa tersebut mempunyai struktur siklik planar yaitu struktur yang berpotensi sebagai DNA-interkalator. Menurut Elkins (1998) dalam buah *M. citrifolia* terkandung senyawa damnakantal. Jadi kemungkinan terbesar, senyawa yang berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *P. berghei* pada sel darah mencit adalah senyawa damnakantal.

Senyawa-senyawa lain seperti camptotekin, netropsin dan saintopin juga telah diketahui mempunyai fungsi sebagai DNA-interkalator (Knab *et al.*, 1995). Senyawa-senyawa tersebut terbukti dapat mengatur dan bahkan kerja dari senyawa yang berfungsi sebagai DNA-interkalator dapat berlawanan dengan fungsi enzim katalis Topoisomerase I dan II (Capranico *et al.*, 1990). Menurut Albert *et al.*, (1983) DNA topoisomerase merupakan enzim yang terpenting dalam replikasi DNA. Walaupun tidak sepenting enzim DNA polymerase tetapi dengan tidak berfungsinya enzim ini maka peristiwa replikasi DNA tidak akan berlangsung dan pembelahan sel tidak akan terjadi.

Secara umum replikasi DNA adalah terbelah atau terbukanya rantai ganda dari DNA yang kemudian terjadi polymerisasi rantai DNA baru. Tetapi sebelum hal tersebut terjadi, kadang terjadi suatu "winding problem" atau yang disebut masalah dalam lilitan strain DNA. Masalah tersebut umumnya disebabkan oleh tidak teraturnya gulungan atau lilitan strain DNA yang kemudian dapat menjadi kusut. Strategi alternatif yang biasa

dipakai untuk menyelesaikan masalah ini adalah dengan adanya enzim DNA topoisomerase (Albert *et al.*, 1983).

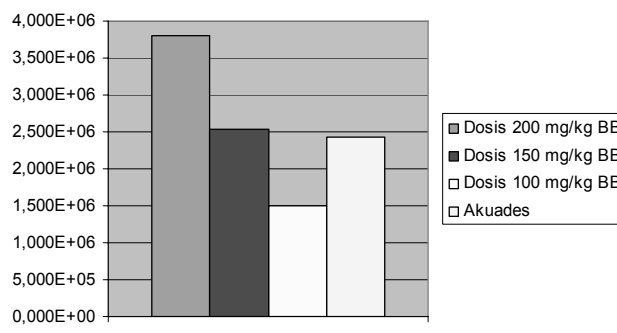
Enzim DNA topoisomerase merupakan enzim penting untuk proses replikasi DNA dan pembelahan sel. Dihambatnya fungsi enzim tersebut maka kemungkinan terbesar adalah proses tersebut tidak akan terjadi. Penghambatan pertumbuhan pada *P. falciparum* pada penelitian Koumaglo *et al.*, (1992) disebabkan oleh adanya ketiga senyawa yang berpotensi sebagai DNA-interkalator.

Pada buah *M. citrifolia* terdapat senyawa damnakantal yang diketahui berpotensi sebagai DNA-interkalator. DNA interkalator mempunyai fungsi yang antagonis dengan enzim topoisomerase I dan II. Jadi senyawa damnakantal ekstrak buah *M. citrifolia* dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* dengan menghambat fungsi enzim topoisomerase I dan II pada proses sintesa protein *P. berghei*.

Peningkatan jumlah makrofag yang memfagositosis lateks setelah pemberian ekstrak buah *M. citrifolia*

Pengamatan aktivitas makrofag yang memfagositosis lateks bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kemampuan dari ekstrak buah *M. citrifolia* sebagai bahan imunomodulator. Sebagaimana yang telah diketahui bahwa makrofag merupakan salah satu sel fagosit yang berperan penting pada saat pertama kali terjadi invasi oleh *P. berghei* terhadap sel darah merah mencit. Penelitian oleh Nogami *et al.*, (1998) membuktikan bahwa mencit yang kehilangan Reseptor Pencari Tipe A (*Macrophage Scavenger Receptor A*) pada sel makrofag akan lebih cepat mengalami kematian dibandingkan dengan mencit yang normal. Hal tersebut membuktikan bahwa fungsi dari makrofag tersebut sangatlah penting untuk mempertahankan tubuh dari invasi parasit.

Pengamatan makrofag ini dilakukan dengan cara mengkultur makrofag intraperitoneal mencit, yang diinduksi dengan lateks. Lateks tersebut berfungsi sebagai antigen, sehingga diharapkan makrofag tersebut dapat memfagositosis lateks. Setelah itu dilakukan penghitungan menggunakan hemasitometer. Kriteria penghitungan makrofag yang memfagositosis berdasarkan hasil pengamatan pada mikroskop, yaitu mengamati makrofag yang menempel atau sudah memakan lateks.



Gambar 1. Rata-rata jumlah makrofag yang aktif memfagositosis lateks dalam sel/ml.

Gambar 1. memperlihatkan bahwa adanya perbedaan jumlah makrofag yang memfagosit lateks antara kelompok mencit yang diberikan ekstrak buah *M. citrifolia* dengan mencit tanpa pemberian ekstrak buah *M. citrifolia* setelah diinfeksi *P. berghei*. Pada dosis 200 mg/kg BB didapat rata-rata $3,8 \times 10^6$ sel makrofag yang memfagosit lateks. Pada dosis 150 mg/kg BB didapat rata-rata $2,53 \times 10^6$ sel makrofag yang memfagosit lateks. Dosis yang ketiga yaitu 100 mg/kg BB jumlah rata-rata sel makrofag yang memfagosit lateks sebanyak $1,5 \times 10^6$ sel makrofag, sedangkan pada kelompok akuades didapat jumlah rata-rata sel makrofag yang memfagosit lateks sebesar $2,43 \times 10^6$ sel makrofag.

Dosis 200 mg/kg BB mencit memberikan jumlah rata-rata makrofag yang memakan lateks terbesar, kemudian dosis 150 mg/kg BB. Tetapi pada dosis 100 mg/kg BB, peningkatan aktivitas tersebut tidak terlihat, karena jumlah makrofag yang memfagosit lateks kurang dari kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* merupakan dosis yang dapat digunakan untuk meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag pada mencit setelah diinfeksi *P. berghei*. Pada kelompok kontrol didapat jumlah makrofag yang memfagosit lateks lebih besar dari kelompok dosis 100 mg/kg BB. Hal ini disebabkan oleh banyaknya antigen pada kelompok kontrol yang berfungsi sebagai induktor untuk meningkatkan fungsi fagositosis dari makrofag, sedangkan pada kelompok dosis 100 mg/kg BB disebabkan dosis yang kecil yang menyebabkan aktivitas makrofag untuk memfagosit lateks tidak sebaik dosis 200 ataupun 150 mg/kg BB.

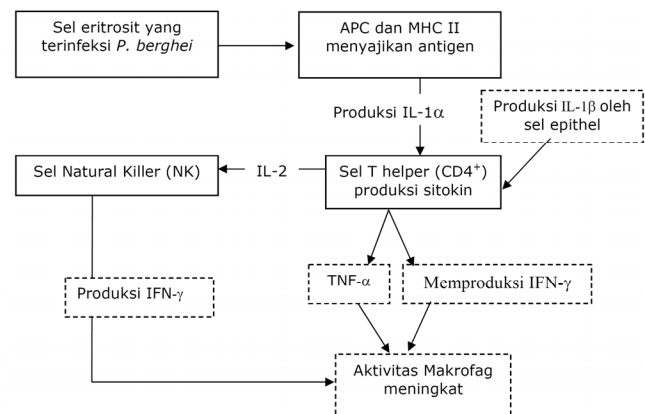
Data yang didapat dari perhitungan secara statistik menunjukkan bahwa seluruh sampel yang berjumlah 12 mempunyai nilai jumlah makrofag yang aktif memakan lateks terdistribusi normal. Hal tersebut ditunjukkan dengan Test Kolmogorov-Smirnov. Dua belas sampel tersebut setelah dianalisis dengan ANOVA satu arah didapat nilai signifikansi sebesar 0,006. Hal tersebut menunjukkan bahwa dari beberapa kelompok yang telah diteliti mempunyai perbedaan yang nyata.

Setelah mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok secara nyata, maka data tersebut dianalisis menggunakan uji homogenous Duncan dan SNK (Student-Newman-Keuls). Hasil yang didapat dari analisis masing-masing uji menyatakan hal yang sama, yaitu jumlah makrofag yang memfagositosis setelah pemberian dosis II dan III tidak mempunyai perbedaan dengan kelompok kontrol. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi sebesar 0,110 untuk Uji SNK dan 0,056 untuk Uji Duncan.

Uji Duncan dan SNK tersebut memberikan informasi selanjutnya dari data yang telah dianalisis dengan ANOVA satu arah, yaitu menunjukkan kelompok yang paling signifikan hasilnya setelah diberikan perlakuan-perlakuan tersebut. Hasil analisis didapat, dari keempat kelompok perlakuan

hanya kelompok I yang menunjukkan signifikansi pada $p = 0,006$. Dengan demikian, kelompok I atau dosis 200 mg/Kg BB dapat dikatakan sebagai dosis yang mampu meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag terhadap lateks dibandingkan dengan kelompok IV atau kelompok yang hanya diberikan akuades, sedangkan kelompok dosis 150 dan 100 mg/kg BB belum dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag terhadap lateks.

Peningkatan aktivitas makrofag mencit setelah diberikan ekstrak buah *M. citrifolia* disebabkan adanya peningkatan sekret sitokin yang dihasilkan oleh sel-sel imunokompeten, antara lain Interleukin- 1β (IL- 1β). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan dari Hirazumi dan Furusawa (2000) yang mengatakan bahwa ekstrak buah *M. citrifolia* meningkatkan sekresi dari IL- 1β , TNF- α , dan interferon γ . Menurut Kresno (2001) dari beberapa sitokin tersebut, IL- 1β merupakan sitokin yang dapat mempengaruhi proliferasi sel T helper ($CD4^+$). Selain itu mikroorganisme intraseluler dapat diketahui oleh APC atau makrofag bersama dengan MHC kelas II untuk mengekspresikan antigen serta mensekresi IL- 1α yang dapat mempengaruhi proliferasi sel T helper ($CD4^+$). Sel T helper tersebut kemudian mensekresi beberapa sitokin, menurut Greenberg *et al.*, (2001) sel T helper tipe 1 (Th1) pada saat infeksi malaria mensekresi sitokin antara lain IFN- γ , IL-2, dan TNF- α . Dengan adanya sitokin-sitokin yang merupakan faktor pengaktif sel makrofag, maka aktivitas fagositosis makrofag dapat ditingkatkan (Gambar 2).



Gambar 2. Skema mekanisme peningkatan aktivitas fagositosis makrofag setelah pemberian ekstrak buah *M. citrifolia* L menurut beberapa sumber. Keterangan: Dipengaruhi oleh senyawa polisakarida buah *M. citrifolia*.

Selain itu menurut Kuby (1997) makrofag teraktivasi oleh adanya antigen yang masuk ke dalam tubuh. Subowo (1993) mengatakan bahwa senyawa polisakarida murni dapat direspon dengan baik oleh sistem imun pada mencit dan manusia. Antigen polisakarida yang sederhana adalah dextran dan levan. Pada ekstrak buah *M. citrifolia* terdapat senyawa polisakarida yang berfungsi sebagai peningkat aktivitas sel makrofag. Dengan adanya pernyataan diatas dapat dikatakan bahwa senyawa

Tabel 2 Rata-rata perubahan berat badan (g) mencit selama 7 hari.

	Kel I	Kel II	Kel III	Kel IV	Kel V
Hari 1	33,8±5,263	34,6±3,435	34,4±3,361	32,0±4,528	32,0±2,915
Hari 2	34,0±3,742	34,0±3,317	34,4±3,647	32,4±4,159	32,2±3,033
Hari 3	33,4±4,505	34,8±3,033	35,4±3,130	34,0±3,674	31,6±2,510
Hari 4	33,2±3,701	35,0±3,317	35,8±3,271	36,6±3,130	32,2±1,643
Hari 5	35,8±3,114	35,4±3,130	35,6±3,209	37,2±2,949	32,7±2,217
Hari 6	36,2±2,683	35,6±3,049	34,8±3,564	36,2±2,775	33,0±2,309
Hari 7	36,6±3,130	36,4±2,966	34,4±2,881	38,2±5,450	32,5±1,915

Keterangan: kelompok I: dosis 200 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* kelompok II: dosis 150 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* kelompok III: dosis 100 mg/kg BB ekstrak buah *M. citrifolia* kelompok IV: kontrol positif menggunakan fansidar, kelompok V: kontrol negatif hanya diberikan akuades.

polisakarida dari ekstrak buah *M. citrifolia* dianggap suatu antigen oleh mencit.

Berat badan sebagai indikator keadaan penyakit malaria

Berat badan merupakan salah satu indikator yang memperlihatkan bagaimana keadaan penyakit malaria. Secara umum, pada keadaan terinfeksi *P. berghei*, berat badan mencit akan menurun seiring dengan meningkatnya jumlah sel darah merah yang terinfeksi oleh *P. berghei*. Jadi dengan mengamati perubahan berat badan mencit, diharapkan dapat mengetahui hubungannya dengan perubahan angka parasitemia pada mencit. Pengambilan data perubahan berat badan digunakan untuk menunjang data perubahan angka parasitemia pada mencit.

Pada Tabel 2. semua kelompok mengalami peningkatan berat badan, jika dibandingkan antara hari pertama dengan hari ke-7, kecuali kelompok III. Perubahan yang sangat mencolok adalah pada kelompok IV yaitu meningkat sekitar 6,2 gram dalam tujuh hari. Demikian pula kelompok I dan II terjadi peningkatan berat badan dalam tujuh hari. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa angka parasitemia atau jumlah sel darah merah yang terinfeksi *P. berghei* dapat mempengaruhi perubahan berat badan mencit.

Dengan melihat hasil yang didapat antara angka parasitemia dengan jumlah makrofag yang memfagositosis lateks setelah infeksi *P. berghei*, memberikan suatu pandangan baru kepada dunia pengobatan terhadap penyakit malaria. Penyakit malaria merupakan permasalahan penduduk dunia yang sering mengakibatkan kematian. Ekstrak buah *M. citrifolia* ini dimungkinkan akan dapat mengurangi permasalahan tersebut, karena ekstrak ini mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *P. berghei* yang ditunjukkan pada mencit. Selain itu, ekstrak ini bersifat imunomodulator yaitu dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, dengan meningkatnya kemampuan makrofag tersebut ekstrak buah *M. citrifolia* dapat memperlambat kematian yang diakibatkan oleh *P. berghei* pada mencit.

KESIMPULAN

Ekstrak buah *M. citrifolia* dengan pelarut alkohol 70% pada dosis 200 mg dan 150 mg/kg BB, dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* yaitu dengan menurunkan angka parasitemia pada hari ke-5 menjadi 3,576% dan 4,109%, walaupun mempunyai efek yang lebih rendah dari obat malaria fansidar. Ekstrak

buah *M. citrifolia* dengan pelarut alkohol 70% pada dosis 200 mg/Kg BB dapat meningkatkan jumlah makrofag yang memfagositosis lateks.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J.D. Watson. 1983. *Molecular Biology of The Cell*. 3rd Edition. New York: Garland Publishing.
- Ali, A.M., N.H. Ismail, M.M. Mackeen, L.S. Yazan, S.M. Mohamed, A.S.H. Ho and N.H. Lajis. 2000. antiviral, cytotoxic and antimicrobial activities of anthraquinones isolated from the roots of **Morinda elliptica** (abstract). *Pharmaceutical Biology* 38 (4): 298-301.
- Arbani P.R. 1991. Malaria control program in Indonesia. In: Salazar, N.P., T. Chongsuphajais, T. Harinasuta, and J. Karbwang (eds.). *Advanced Knowledge on Malaria in Southeast Asia*. Bangkok: Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. Seameo Tropmed Network.
- Awe, S.O., and J.M. Makinde. 1997. Evaluation of sensitivity of **Plasmodium falciparum** to **Morinda lucida** leaf extract sample using rabbit in vitro microtest technique. *Indian Journal of Pharmacology*. 30: 51-53.
- Barcus, M.J., F. Laihad, M. Sururi, P. Sismadi, H. Marwoto, M.J. Bangs, and J.K. Baird. 2002. Epidemic malaria in the Menoreh Hills of Central Java (Abstract). *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene* 66 (3):287-292.
- Basco, L.K., A. Same-Ekobo, V.F. Ngane, M. Ndounga, T. Metoh, P. Ringwald, and G. Soula. 2002. Therapeutic efficacy of sulfadoxine-pyrimethamine, amodiaquine and the sulfadoxine-pyrimethamine-amodiaquine combination against uncomplicated **Plasmodium falciparum** malaria in young children in Cameroon. *Bulletin of the World Health Organization* 80: 538-545.
- Capranico G., K.W. Kohn, and Y. Pommier. 1990. Local sequence requirements for DNA cleavage by mammalian topoisomerase II in the presence of doxorubicin. *Nucleic Acids Research* 18 (22): 6611-6619.
- D'Alessandro, U. and H. Buttiens. 2001. History and importance of antimalarial drug resistance (abstract). *Tropical Medicine International Health* 6 (11):845-848.
- Departemen Kesehatan RI. 1994. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 1993*. Jakarta: Pusat Data Kesehatan.
- Departemen Kesesehatan RI. 1995. *Tes Resistansi untuk Plasmodium falciparum*. Jakarta. Direktorat Jendral PPM.
- Dewi, R.M., R.P. Jekti, dan A. Harijani. 1996. Keadaan hematologis mencit yang diinfeksi dengan

- Plasmodium berghei**. *Cermin Dunia Kedokteran* 106: 37-39.
- Dewi, R.M., R.P. Jekti, dan E. Sulaksono. 1997. Pengaruh pasase terhadap gejala klinis pada mencit strain Swiss Derived yang diinfeksi **Plasmodium berghei**. *Cermin Dunia Kedokteran* 106: 34-36.
- Dzulkarnain, B. 1998. *Tanaman-tanaman Antimalaria*. Jakarta: Puslitbang Farmasi, Balitbang Kesehatan, Depkes RI.
- Elkins, R. M.H. 1998. *Hawaiian Noni (Morinda citrifolia) PrizeHerb of Hawaii and The South Pacific*. Woodland Publishing. Pleasant Grove, UT. www.nutraceutical.com/educate/pdf/hawaiian_noni.pdf
- European Commision, 2002. *COST B9 Action on Chemotherapy of Protozoal infections (Report)*. Brussel: European Cooperation in The Field of Scientific and Technical Research.
- Fitriani, J. 2002. *Pengaruh Perasan Buah Morinda citrifolia terhadap Fagositosis Makrofag Mencit Balb/C yang Diinokulasikan Listeria monocytogenes*. [Skripsi]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Gandahasada, S., D. Herny, and W. Pribadi. 2000. *Parasitologi Kedokteran*. Edisi ke-2. Jakarta. Fakultas Kedokteran UI.
- Gatton, M.L., L.B. Martin, and Q. Cheng. 2004. Evolution of Resistance to Sulfadoxine-Pyrimethamine in **Plasmodium falciparum**. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* June 2004: 2116-2123.
- Greenberg, P.L., V. Gordeuk, S. Issaragrisil, N. Siritanaratkul, S. Fucharoen, and R.C. Ribeiro. 2001. Major hematologic diseases in the developing world new aspects of diagnosis and management of thalassemia, malarial anemia, and acute leukemia. *Hematology*: 479-498.
- Hirazumi, A. and E. Furusawa. 1999. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of **Morinda citrifolia** (Noni) with antitumour activity (Review). In: Blumenthal, M. *Noni Juice Fraction Shows Immunomodulatory and Potential Anti-tumor Activity in Rats*. Texas: HerbclipTM.
- Hunter W.N., M.S. Alphey, C.S. Bond, and A.W. Schuttelkopf. 2003. Targeting metabolic pathways in microbial pathogens: oxidative stress and anti-folate drug resistance in trypanosomatids. *Biochemical Society Transactions* 31 (3): C07-C10.
- Irwin, P.J. 1992. Respon imun terhadap parasit protozoa. In: Burgess, G.W. (ed). *Teknologi Elisa dalam Diagnosis dan Penelitian*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Jelinek, T., G. Peyerl-Hoffmann, N. Mühlberger, O. Wichmann, M. Wilhelm, N. Schmider, M.P. Grobusch, F. von Sonnenburg, J. Gascon, H. Laferl, C. Hatz, M. Alifrangis, G. Burchard, P. McWhinney, M. Schulze, H. Kollaritsch, S. da Cunha, J. Beøan, P. Kern, I. Gjørup and J. Cuadros. 2002. Molecular surveillance of drug resistance through imported isolates of **Plasmodium falciparum** in Europe. *Malaria Journal* 1: 11.
- Kakkilaya, B.S. 2002. *Peripheral Smear Examination for Malarial Parasite*. Dr. B.S. Kakkilaya's Malaria Web Site.
- Kayser, O., A. F. Kiderlen, and S.L. Croft. 2000. *Natural Products as Potential Antiparasitic Drugs*. www.fu-berlin.de/akkayscr/antiparasiticsfromnature.pdf
- Knab A.M., J. Fertala, and M. Bjornsti. 1995. A camptothecin-resistant DNA topoisomerase I mutant exhibits altered sensitivities to other DNA topoisomerase poisons. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* 270 (11): 6141-6148.
- Koumaglo, K., M. Gbeassor, O. Nikabu, C. de Souza, and W. Werner. 1992. Effects of three compounds extracted from **Morinda lucida** on **Plasmodium falciparum** (Abstract). *Planta Medica* 58 (6): 533-534.
- Kresno, S.B. 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratoium*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kuby, J. 1997. *Immunology*. 3rd edition. New York: W.H. Freeman and Company.
- Lawrence, M. 2000. *Enlisting a New Ally in The War Against Malaria*. In: Kumar, S. (ed). *Discovery a Publication of the Whitehead institute for biomedical Research*. Whitehead Institute.
- McKee, T. and McKee J. R. 1999. *Biochemistry: an Introduction*, 2nd edition. New York: McGraw-Hill Companies Inc.
- Murray, M. T. 2000. Noni juice - the passing of another panacea?. *Natural Medicine Online* 3 (2): 3.
- Najera, J.A. 1996. *Malaria Control Among refugees and displaced populations*. World Health Organlzation Division of Control of Tropical Diseases Malaria Unit.
- Noble, E.K. and G.A. Noble. 1989. *Parasitologi Biologi Parasit Hewan*. Penerjemah: Wadiarto. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Nogami, S., J. Watanabe, K. Nakagaki, K. Nakata, H. Suzuki, H. Suzuki, M. Fujisawa, T. Kodama, and S. Kojima. 1998. Short Report: Involvement of Macrophage Scavenger Receptors in Protection Against Murine Malaria. Japan: *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene* 59 (5): 843-845.
- Obih, P.O., J. Makinde, and O.J. Laoye. 1985. investigations of various extracts of Morinda lucida for antimalarial actions on Plasmodium berghei berghei in mice (abstract). *African Journal Medical Medline Science* 14: 45-49.
- Reisberg, B. 1994. Malaria. In: Phair, J.P. and H.M. Sommers, (eds.). *Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi* Penerjemah: Wahab, S. 4th Edition. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Richards M.W., R.H. Behrens, and J.F. Doherty. 1998. Short report: hematologic changes in acute, imported **Plasmodium falciparum** malaria. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene* 59 (6): 859.
- Riley, E.M. 2000. The London School of Hygiene and Tropical Medicine: a New Century of Malaria Research. *Memio Instituto Oswaldo Cruz* 95: 25-32.
- Solomon, N. 1998. Recent scientific studies **Morinda citrifolia** (noni). In: *Buah Mengkudu dan Khasiatnya A Gift from Nature*. Bandar Lampung: Ekafood. www.ekafood.com.
- Sudarsono, P.N., D. Gunawan, S. Wahyuono, I.A. Donatus, dan Purnomo. 2002. *Tumbuhan Obat II*. Yogyakarta: PSOT UGM, Deltomed, Java Plant.
- Wang, M.Y., B.J. West, C.J. Jensen, D. Nowicki, S.U Chen, A.K. Palu, and G. Anderson. 2002. **Morinda citrifolia** (noni): a literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacologica Sinica* 23: 1127-1141.
- Yulindari, T. 2000. *Malaria, an Age Old Disease Proves Hard to Control*. London: Associated Press. www.StopGettingSick.com.

PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

Tulisan diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm²), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tatanama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m⁻², l⁻¹, h⁻¹) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

Judul ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat bersegi, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian dan metode-metode khusus yang digunakan. **Pendahuluan** (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan

menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan, meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

Pustaka dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa pustaka. Naskah yang ditulis oleh dua penulis, maka nama keduanya disebutkan, sedang naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, maka hanya nama penulis pertama ditulis diikuti *et al.* atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto *et al.*, 1998; Baker and Manwell, 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy, 1991 *cit* Coward, 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward, 1999).

Daftar Pustaka diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

Jurnal:

Suranto, S., K.H. Gough, D.D. Shukla, and C.K. Pallaghy. 1998. Coat protein sequence of Krish-infected strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. *Archives of Virology* 143: 1015-1020.

Buku:

Sprent, J.I. and P. Sprent. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects*. London: Chapman and Hall.

Bab dalam buku:

Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman, C.G. (ed.). *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

Abstrak:

Liu, Q., S. Salih, J. Ingersoll, R. Meng, L. Owens, and F. Hammerschlag. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. *Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science*. Lake Buena Vista, Fla., 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra, H.S. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. Dalam: Setyawan, A.D. dan Sutarno (ed.). *Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa*. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko, T. 2001. *Biotransformasi Isoflavon oleh Rhizopus oryzae UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai* [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.

Informasi dari Internet:

Rosauer, D. 1998. *Forest Disturbance and Succession*. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

Beberapa catatan tambahan. Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol α , β , χ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

Kemajuan Naskah. Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

PENTING: Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok setuju memindahkan hak cipta (*copyright*) naskah yang diterbitkan *Biofarmasi, Journal of Pharmacological and Biological Sciences* kepada Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Penulis tidak lagi diperkenankan menerbitkan naskah secara utuh tanpa ijin penerbit. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

- Perbandingan Komposisi Kimia Minyak Atsiri Dua Jenis Kunci Pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe. dan *K. rotunda* Linn.).** 39-42
• SRI BUDI SULIANTI, SOFNIE M. CHAIRUL
- Isolasi Komponen Aktif Antibakteri Ekstrak Kloroform Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) dengan Bioautografi** 43-46
• DWI APRISTIANI, PUJI ASTUTI
- Pengaruh Ketersediaan Air terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Bahan Aktif Saponin Tanaman Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.)** 47-51
• SOLICHATUN, ENDANG ANGGARWULAN, WIDYA MUDYANTINI
- Pengaruh Penambahan DL-Triptofan terhadap Pertumbuhan Kalus dan Produksi Alkaloid-Reserpin Pule Pandak [*Rauvolfia serpentina* (L.) Bentham ex Kurz.] secara *In Vitro*** 52-56
• HENI ARYATI, ENDANG ANGGARWULAN, SOLICHATUN
- Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Peningkatan Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) akibat Pemberian Asetaminofen** 57-60
• HARTONO, IDA NURWATI, WIRYANTO
- Uji Antimalaria Ekstrak Buah *Morinda citrifolia* dan Aktivitas Makrofag pada Mencit (*Mus musculus*) setelah Diinfeksi *Plasmodium berghei*** 61-69
• RAHADI HUTOMO, SUTARNO, WIEN WINARNO, KUSMARDI

