

## AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM SENYAWA AKTIF DARI UMBI HATI TANAH (*Angiopteris evecta*)

Arnida<sup>1)</sup>, Wahyono<sup>2)</sup>, Mustofa<sup>3)</sup>, Ratna Asmah Susidarti<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Kalimantan Selatan

Email: [nida2573@yahoo.co.id](mailto:nida2573@yahoo.co.id); [arnida@unlam.ac.id](mailto:arnida@unlam.ac.id)

<sup>2)</sup> Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Email: [wahyonoug@yahoo.com](mailto:wahyonoug@yahoo.com)

<sup>3)</sup> Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Email: [mustofayogya@yahoo.com](mailto:mustofayogya@yahoo.com)

<sup>4)</sup> Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Email: [ratnasusdarti@ymail.com](mailto:ratnasusdarti@ymail.com)

### ABSTRACT

*There are several plants in Kalimantan that local people use to treat malaria such as *Hydrophylla spinosa* leaves, *Ampelocissus rubiginosa* tubers, *Uraria crinita* roots, and *hati tanah* (*Angiopteris evecta*) tubers. World annual cases of malaria and the increasingly wide plasmodial resistance to antimalarial medicines must be overcome by finding new antimalarial medicines. The study aims at finding out *in vitro* antiplasmodial activity of *A. evecta* tubers in the culture *P. falciparum* train FCR3. A kilogram *simplicia* is extracted using ethanol and the result is 250.5 g dried extract. It means that ethanol extract yield is 25%. Fractionation is carried out by triturating the ethanol extract and it gives 3 fractions, which are FA 5.15%, FB 36.5%, and FC 52.25% of 20 g ethanol extract (EE). The chromatogram profile of the FA, FB, and FC contents is obtained using KLT of chloroform-methanol moving phase (9:0.5 v/v). The *in vitro* antiplasmodial activity of each of the fractions in the culture *P. falciparum* FCR3 is tested in the incubation period of 72 hours. The results of the *in vitro* antiplasmodial activity test of the FA, FB, and FC in triplets are mean parasitemia percentage, inhibition, and IC<sub>50</sub> value. The results of the *in vitro* antiplasmodial activity test in triplets of the FA, FB, and FC of the *A. evecta* tubers are mean IC<sub>50</sub> values of 37.93 ± 1.19 µg/mL, 2.86 ± 0.27 µg/mL, and > 250 µg/mL, respectively. The *in vitro* antiplasmodial activity of the FB is categorized into very active or very potential.*

**Keywords:** *Angiopteris evecta*, antiplasmodial *in vitro*, antimalarial, bioassay guided

### 1. PENDAHULUAN

Gagalnya pemberantasan malaria disebabkan oleh munculnya resistensi *Plasmodium* terhadap antimalaria dan resistensi vektor terhadap insektisida. Beberapa jenis nyamuk *Anopheles* (vektor) telah resisten terhadap insektisida seperti DDT sehingga mengakibatkan peningkatan jumlah kasus penyakit malaria di beberapa negara tropis. Munculnya resistensi *Plasmodium* terhadap obat malaria mengakibatkan kegagalan pengobatan. Di Indonesia resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin ditemukan pertama kali di Kalimantan Timur tahun 1973.

Resistensi ini terus meluas dan pada tahun 1990 kasus malaria yang resisten klorokuin sudah ditemukan di seluruh Indonesia [1]. Upaya yang dilakukan untuk menanggulangi resistensi terus dilakukan sampai kemudian pemerintah dengan mengacu pada WHO merekomendasikan penggunaan kombinasi artemisinin sebagai obat pilihan pengganti klorokuin dikenal dengan ATC (*Artemisinin-based Combination Therapy*). Penggunaan obat dengan intensitas tinggi merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya resistensi. Resistensi artemisinin juga telah terjadi di perbatasan Kamboja-Thailand [2, 3]. Hal ini merupakan ancaman besar

terlebih belum ditemukannya obat alternatif yang efektif untuk melawan resistensi.

Kasus malaria di Kalimantan Selatan berlangsung terus tiap tahun. Sejak tahun 2006 serangan malaria mencapai 8.766 kasus, dengan jumlah penderita meninggal dunia sebanyak 10 orang. Sedangkan pada tahun 2007, jumlah kasus malaria mencapai 9.289 kasus dan 31 orang penderita meninggal dunia. Pada awal tahun 2008 jumlah penderita malaria klinis tercatat sebanyak 3.500 kasus dan 12 orang penderita diantaranya meninggal [4]. Resistensi terhadap antimalaria adalah kemampuan strain parasit untuk bertahan hidup dan/atau memperbanyak diri meskipun pemberian dan penyerapan obat diberikan dalam dosis yang dianjurkan atau lebih tinggi tetapi dalam toleransi kepatutan, dengan ketersediaan obat yang memadai. Resistensi terhadap obat (antimalaria) muncul karena terbentuknya parasit dengan mutasi genetik atau amplifikasi gen yang mengurangi kerentanan [5].

Pencarian obat baru terus dilakukan melalui berbagai cara termasuk eksplorasi dan pengembangan bahan alam serta sintesis obat untuk memperoleh obat yang efektif. Beberapa tanaman yang secara empirik digunakan oleh masyarakat untuk mengobati malaria telah diteliti dan dilaporkan mempunyai aktivitas antiplasmodium antara lain buah makassar (*Brucea javanica*) [6], sambiloto (*Tinospora crispa*) [7], pule (*Alstonia scholaris*) [8], pepaya (*Carica papaya*) [9], dan pasak bumi (*Eurycoma longifolia*). Meskipun sudah banyak senyawa berhasil diperoleh baik melalui eksplorasi dari bahan alam maupun sintesis tetapi belum banyak yang berhasil dikembangkan menjadi antimalaria modern.

Kalimantan terdapat beberapa tanaman yang digunakan oleh masyarakat untuk mengobati malaria, seperti daun jeruju (*H. spinosa* L.), umbi tawas ut (*A. rubiginosa* L.), akar cawat hanoman (*U. crinita*), dan hati tanah (*A. evecta*) [10]. Meskipun tanaman tersebut secara empiris (turun temurun) telah digunakan untuk mengobati malaria, tetapi kajian aktivitasnya secara ilmiah belum pernah dilaporkan. Hati tanah secara empiris digunakan sebagai antimalaria di Kalimantan

Tengah. Di Thailand tanaman ini digunakan sebagai diuretik, antipiretik, analgetik, tonik dan antidiare [11]. Di Malaysia digunakan sebagai anti tuberkulosis dan telah terbukti memiliki penghambatan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv [12]. Penelitian lain membuktikan bahwa daun, kulit batang, batang, akar dan umbi *A. evecta* memiliki efek antibakteri dan antifungi [13] serta hipoglikemik [14]. Rimpang *A. evecta* mengandung senyawa *angiopteriside*(4-0-beta-D-glucopyranosyl-L-thero-2-hexen-5-olide) *monohydrate* yang dapat menghambat HIV-1 [11].

Penelitian ini penting dilakukan sebagai penyelesaian disertasi dan juga merupakan usaha menemukan senyawa antimalaria baru dari tanaman Indonesia untuk mengatasi resistensi. Penelitian eksplorasi tanaman yang terdapat di Kalimantan dapat memberi data ilmiah dan verifikasi terhadap aktivitas biologis tanaman tersebut. Kasus malaria yang terjadi setiap tahunnya di dunia dan meluasnya resistensi *Plasmodium* terhadap obat malaria harus diatasi, melalui penemuan obat baru, salah satunya adalah melalui eksplorasi bahan alam.

## 2. METODE PENELITIAN

### A. Bahan Penelitian

#### 1. Bahan ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi

Bahan-bahan yang digunakan adalah etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat, metanol (sigma), kloroform, kertas saring, silika gel GF254 (sigma), plat KLT, air suling.

#### 2. Bahan untuk uji aktivitas antiplasmodium *in vitro*

Bahan-bahan yang digunakan adalah RPMI, HEPES, NaHCO<sub>3</sub>, *P. falciparum* strain FCR3, *P. berghei* strain ANKA, gentamisin, RBC (*Red Blood Cell*) golongan darah O, natrium klorida 0,9%; 1,6%; 12%, serum darah manusia golongan darah O, lilin, gliserol 10%, sorbitol 3%, DMSO, klorokuin, air suling, alkohol, dekstrosa 0,2%, giemsa, dan minyak imersi.

#### 3. Subyek penelitian

Bagian tanaman yang diambil adalah umbi *A. evecta* diambil di Palangkaraya Kalimantan Tengah. Pengolahan tanaman terdiri dari pencucian, sortasi. Pengeringan, dan

penyerbukan serta pembuatan herbarium kering untuk determinasi. Plasmodium yang digunakan adalah *Plasmodium falciparum* strain FCR3 diambil dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### B. Peralatan

##### 1. Alat ekstraksi, fraksinasi, dan Isolasi

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi, dan fraksinasi adalah alat-alat gelas, oven, seperangkat alat maserasi, *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor), water batch, cawan, timbangan, kromatografi kolom, kromatografi cair vakum (KCV), grinder, ayakan.

##### 2. Alat untuk uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* dan *in vivo*

Alat-alat yang digunakan adalah *mikroplate* 96 well, flask kultur, pipet mikro, tip biru, tip kuning, mikroskop, objek glass, *mikro tube*, *culture tube*, *chryo tube*, *membran filter* 0,22  $\mu\text{m}$ , *laminar air flow* (LAF), almari pendingin, *autoclave*, oven, *candle jar*, inkubator, penangas air, pipet pasteur, dan spuit.

#### C. Jalannya Penelitian

##### 1. Pengambilan Bahan, Determinasi dan *Ethical clearance*

Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense, Balitbang Botani-Puslitbang Biologi LIPI Bogor. *Ethical clearance* dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pengambilan bahan dilakukan di daerah Kalimantan yakni daun *H. spinosa* umbi *A. rubiginosa* dan batang *A. evecta* diambil serta akar *U. crinita*.

##### 2. Ekstraksi dan Fraksinasi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi yaitu perendaman sampel dengan pelarut etanol 96%. Serbuk sebanyak 200 gram dimasukkan dalam alat maserasi.

Ekstrak etanol yang diperoleh disuspensikan dengan *n*-heksana dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan dengan pelarut *n*-heksana. Campuran dipisahkan dengan cara digojok selama beberapa menit dan didiamkan sampai terjadi pemisahan yang larut dan tidak larut *n*-heksana. Bagian yang tidak larut ditambahkan dengan pelarut etil asetat dengan perlakuan seperti di atas sampai

diperoleh fraksi etil asetat. Selanjutnya fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat tersebut dilakukan uji aktivitas antiplasmodium, identifikasi dengan KLT.

##### 3. Uji aktivitas antiplasmodium *in vitro*

Uji aktivitas antiplasmodium dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi menggunakan kultur *Plasmodium* yang dipersiapkan. Uji ini menggunakan metode *candle jar* oleh Trager & Jansen [15, 16].

Kultur dimulai dengan *thawing* yang dilakukan secara aseptik di LAF. *Plasmodium* yang telah diambil dari tabung  $\text{N}_2$  cair dimasukkan ke dalam *conical tube* ditambahkan 200  $\mu\text{L}$  larutan A (NaCl 12%) didiamkan 2 menit lalu ditambahkan 10 mL larutan B (NaCl 1,6%) selanjutnya disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, endapan ditambahkan 10 mL larutan C (dekstrosa 0,2% dan NaCl 0,9%), disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit, supernatan dibuang. Endapan diambil dalam volume 1 tetes untuk dibuat apusan, endapan dipindahkan ke dalam flask kultur, ditambahkan RPMI, serum, dan RBC. *Candle jar* dimasukkan ke dalam inkubator 37°C selama 48 jam.

Bahan ditimbang, ditambahkan pelarut (200  $\mu\text{L}$  DMSO dan 800  $\mu\text{L}$  larutan RPMI) disterilkan dengan filtrasi menggunakan *membran filter* 0,22  $\mu\text{m}$ . Bahan (ekstrak) dibuat peringkat konsentrasi 500, 100, 50, 10, 1  $\mu\text{g/mL}$ . Bahan (fraksi) dibuat peringkat konsentrasi 200, 100, 20, 10, dan 1  $\mu\text{g/mL}$ . Bahan (isolat) dibuat peringkat konsentrasi 10, 8, 4, 2, dan 1  $\mu\text{g/mL}$ . Klorokuin digunakan sebagai kontrol positif dibuat dengan peringkat konsentrasi 20, 16, 12, 8, dan 4  $\mu\text{g/mL}$ . Inkubasi pada suhu 36°C selama 72 jam selanjutnya dibuat apusan.

Apusan dalam keadaan kering dicat dengan pewarna Giemsa 5%, didiamkan sampai 30 menit, dicuci dengan air kran mengalir. Biarkan kering, setelah itu ditambahkan minyak imersi. Pada mikroskop dapat dilihat dan dihitung jumlah eritrosit dan parasitemia dari apusan. Data yang diperoleh berupa persen penghambatan pertumbuhan. Nilai  $\text{IC}_{50}$  ditentukan dengan analisa probit dari persen penghambatan dengan logaritma kadar menggunakan SPSS.

#### D. Analisis Data

Data aktivitas antiplasmodium dinyatakan sebagai  $IC_{50}$  yang diperoleh dengan analisis probit. Data  $IC_{50}$  yang diperoleh diklasifikasikan berdasarkan kriteria yang disampaikan oleh Jennet-Siems *et al* (1999) [17] yaitu bahwa ekstrak dan fraksi dari tanaman obat dinyatakan tidak mempunyai aktivitas antiplasmodium bila  $IC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$ , sedangkan Munoz *et al* (2000) [18] menyatakan bahwa  $IC_{50}$  suatu ekstrak kurang dari  $5 \mu\text{g/mL}$  berarti aktivitas antiplasmodiumnya sangat baik,  $IC_{50}$  5-10  $\mu\text{g/mL}$  aktivitasnya baik, dan  $IC_{50} > 10 \mu\text{g/mL}$  adalah tidak aktif.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

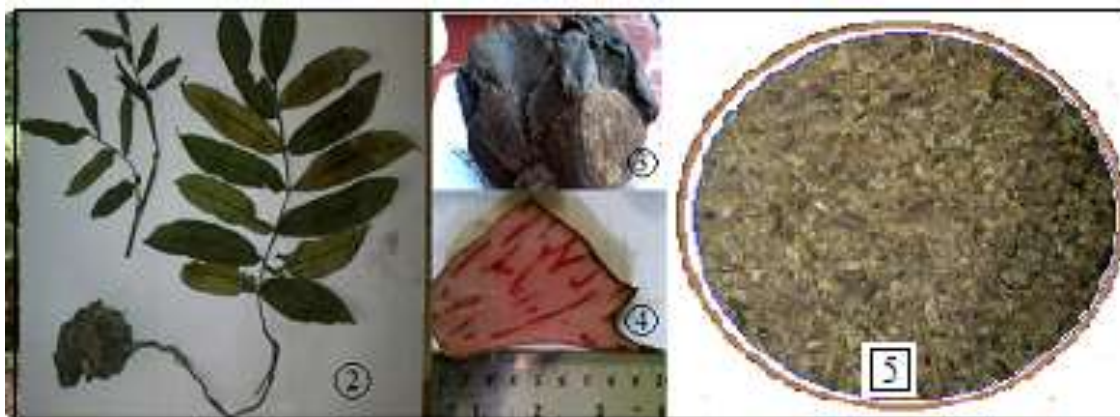
#### A. Determinasi Tanaman dan *Ethical Clearance*

Umbi *A. evecta* diambil dari daerah Palangkaraya Kalimantan Tengah pada bulan Januari 2012. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor. Tanaman Hati tanah dinyatakan sebagai *Angiopteris evecta* (G.Forst.) Hoffm suku Marattiaceae dalam

dokumen nomor 2296/IPH.1.02/If.8/IX/2012, tercantum pada Lampiran 1. Pengajuan *ethical clearance* kepada komite *ethical clearance* MHREC (*The Medical and Health Research Ethics Committee*) Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada telah memperoleh persetujuan dalam dokumen nomor KE/FK/1029/EC. *The Medical and Health Research Ethics Committee* berpedoman pada Deklarasi Helsinki 2008.

#### B. Pembuatan Simplisia Umbi *A. evecta*

Dari 20 kg berat basah umbi *A. evecta* diperoleh berat kering 1,98 kg (9,9%). Susut pengeringan sebesar 90,1% menunjukkan bahwa kadar air umbi *A. evecta* sangat dominan. Simplisia memiliki tekstur yang padat, agak keras tapi tidak sulit dibuat serbuk dan jika diserbukkan sampai halus akan berbentuk hablur. Oleh karena itu, penyerbukan simplisia kering dilakukan dengan menggunakan blender selama 1 menit sehingga diperoleh serbuk kasar dengan derajat halus 4/18 (Gambar 1). Simplisia berwarna coklat, tidak berasa, dan tidak berbau.



Gambar 1. Tanaman *A. evecta*, 2) herbarium; 3) batang; 4) potongan batang membujur; 5. simplisia

#### C. Ekstrak dan Fraksi

Simplisia *A. evecta* diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Penggunaan pelarut etanol dimaksudkan untuk menarik komponen kimia yang bersifat polar maupun non polar dalam simplisia umbi *A. evecta*. Ekstrak etanol (EE) yang diperoleh adalah 250,4 g ekstrak kering dari 1 kg simplisia, ini berarti rendemen ekstrak etanol adalah 25%. Ekstrak yang diperoleh kemudian

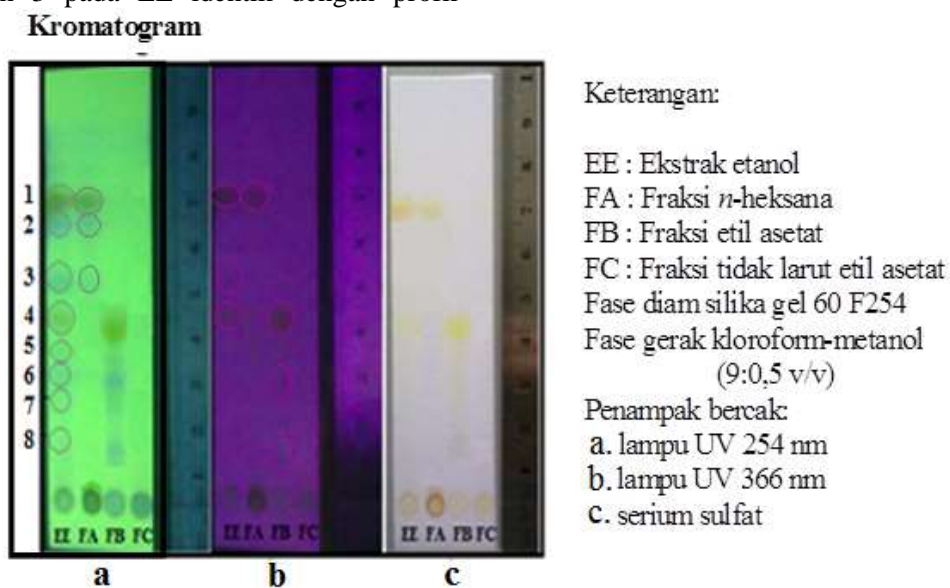
dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui profil kandungan kimianya, kemudian dilakukan triturasinya.

Triturasinya dilakukan terhadap ekstrak etanol (EE) umbi *A. evecta*. Pelarut yang digunakan dalam triturasinya adalah *n*-heksana dan etil asetat. Bagian yang larut *n*-heksana disebut sebagai fraksi A (FA), bagian yang larut etil asetat disebut sebagai fraksi B (FB) dan bagian tidak larut etil asetat disebut sebagai fraksi C (FC).

Fraksi A diperoleh 1,03 g (5,15%), fraksi B diperoleh 7,30 g (36,5%), dan fraksi C diperoleh 10,45 g (52,25%) dari 20 g EE.

Profil kromatogram dari kandungan kimia FA, FB, dan FC diperoleh dengan menggunakan KLT fase gerak kloroform - metanol (9:0,5 v/v). Profil kromatogram dari kandungan kimia FA, FB, dan FC diperoleh dengan menggunakan KLT fase gerak kloroform - metanol (9:0,5 v/v). Bila dibandingkan dengan profil kromatogram EE pada Gambar 2 dijelaskan bahwa bercak nomor 1, 2, dan 3 pada EE identik dengan profil

kromatogram FA, sedangkan bercak nomor 4, 5, 6, 7, dan 8 identik dengan profil kromatogram FB. Pada profil kromatogram FC tidak terlihat bercak yang terelusi, hal ini memperlihatkan kepolaran senyawa yang terdapat pada ketiga fraksi berbeda. Oleh karena itu, pemisahan senyawa dari ekstrak etanol umbi *A. evecta* dapat dikatakan terjadi pemisahan yang baik. Ketiga fraksi masing-masing diuji aktivitas antiplasmodium *in vitro* pada kultur *P. falciparum* FCR3, masa inkubasi 72jam.



Gambar 2. Profil kromatogram ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi larut etil asetat, dan fraksi tidak larut etil asetat

### 3. Aktivitas antiplasmodium *in vitro* fraksi

Fraksi FA, FB, dan FC yang diperoleh dari triturasi diuji aktivitas antiplasmodium *in vitro* pada kultur *P. falciparum* FCR3 dengan konsentrasi 0,5; 5; 25; 50; dan 250 µg/mL menggunakan masa inkubasi 72 jam. Hasil pengujian aktivitas antiplasmodium *in vitro* terhadap FA, FB, dan FC secara *triplet* diperoleh rerata persentase parasitemia, penghambatan, dan nilai IC<sub>50</sub>. Persen parasitemia diperoleh dari persentase jumlah eritrosit terinfeksi per seribu eritrosit. Persentase parasitemia diperoleh

Pada konsentrasi terkecil 0,5 µg/mL FA, FB dan FC mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium* secara berturut-turut 16,32 ± 0,27%; 35,58 ± 0,51%; dan 15,71 ± 0,35. Pada

semakin kecil dengan meningkatnya konsentrasi dari ketiga fraksi uji.

Dari persen parasitemia dan kontrol negatif terhitung persen penghambatan pertumbuhan *Plasmodium*. Persen penghambatan pertumbuhan *Plasmodium* dari pemberian FA, FB dan FC umbi *A. evecta* serta kloroquin yang diperoleh berbanding lurus terhadap konsentrasi yang digunakan. Hasil menunjukkan semakin besar konsentrasi pemberian FA, FB dan FC umbi *A. evecta* dan kloroquin semakin besar menghambat pertumbuhan *Plasmodium* (Tabel 1).

konsentrasi 5 µg/mL (sepuluh kali dari konsentrasi terkecil) mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium* secara berturut-turut 22,08 ± 1,57%; 50,53 ± 0,47%; dan 18,30 ±

0,21%. Jika membandingkan penghambatan pertumbuhan *Plasmodium* dari ketiga FA, FB, dan FC, terlihat FB sudah mampu menghambat 50% pada konsentrasi 5 µg/mL yang berarti

bahwa mempunyai penghambatan pertumbuhan *Plasmodium* lebih besar dibanding dengan FA dan FC.

Tabel 1. Rerata persentase parasitemia, penghambatan dari FA, FB, FC umbi *A. evecta*, kontrol negatif dan kloroquin terhadap kultur *P. falciparum* FCR3 inkubasi selama 72 jam

Bahan Uji	Konsentrasi (µg/mL)	Rerata Persentase Parasitemia ± SD (%)	Rerata Persentase Penghambatan ± SD (%)
<b>FA</b>	0,5	12,24 ± 0,04	16,32 ± 0,27
	5	11,40 ± 0,23	22,08 ± 1,57
	25	10,89 ± 0,05	25,55 ± 0,31
	50	8,12 ± 0,35	44,46 ± 2,40
	250	1,11 ± 0,25	92,43 ± 1,72
<b>FB</b>	0,5	9,42 ± 0,08	35,58 ± 0,51
	5	7,24 ± 0,07	50,53 ± 0,47
	25	6,50 ± 0,12	55,58 ± 0,85
	50	2,16 ± 0,05	85,24 ± 0,37
	250	0,06 ± 0,05	99,57 ± 0,37
<b>FC</b>	0,5	12,33 ± 0,05	15,71 ± 0,35
	5	11,95 ± 0,03	18,30 ± 0,21
	25	10,63 ± 0,04	27,36 ± 0,26
	50	10,30 ± 0,03	29,62 ± 0,18
	250	10,15 ± 0,06	30,60 ± 0,38
<b>Kontrol (-)</b>	200 mL	14,63 ± 0,63	
<b>Kloroquin</b>	40 x10 <sup>-3</sup>	0,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
	20 x10 <sup>-3</sup>	0,08 ± 0,14	99,45 ± 0,95
	16 x10 <sup>-3</sup>	0,29 ± 0,50	98,02 ± 3,43
	8 x10 <sup>-3</sup>	0,37 ± 0,51	97,48 ± 3,51
	6 x10 <sup>-3</sup>	0,55 ± 0,62	96,26 ± 4,22
	4 x10 <sup>-3</sup>	10,74 ± 0,96	26,61 ± 6,56

Aktivitas antiplasmodium FA, FB, dan FC umbi *A. evecta* dinyatakan dalam konsentrasi penghambatan 50% (IC<sub>50</sub>) yang dihitung dengan menggunakan analisis probit pada program SPSS 16. Analisis probit menganalisis hubungan antara konsentrasi bahan uji dengan persentase penghambatan pertumbuhan *P. falciparum*. Besar aktivitas antiplasmodium *in vitro* berbanding terbalik dengan nilai IC<sub>50</sub>, semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan semakin besar aktivitas antiplasmodium *in vitro*. Hasil uji aktivitas

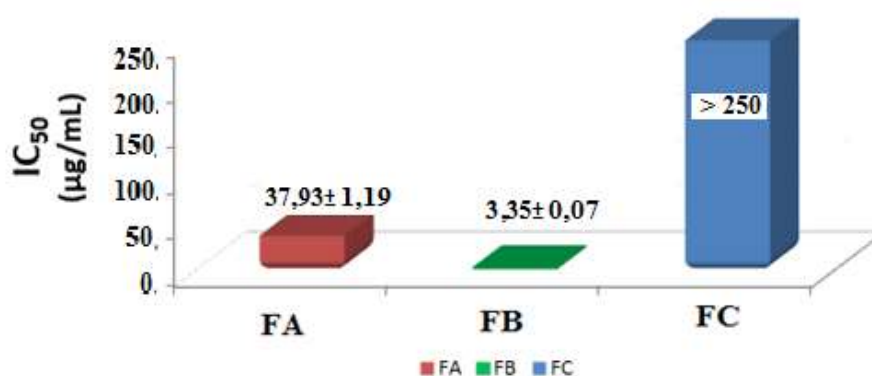
antiplasmodium *in vitro* yang dilakukan secara *triplet* terhadap FA, FB, dan FC umbi *A. evecta* diperoleh rerata nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut 37,93 ± 1,19 µg/mL; 3,35 ± 0,07 µg/mL; dan > 250 µg/mL Gambar 3).

Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dilakukan uji statistik untuk mengetahui perbedaan bermakna dari aktivitas antiplasmodium FA, FB, dan FC. Hasil uji statistik terhadap IC<sub>50</sub> FA, FB, dan FC dengan menggunakan uji *Anova* diperoleh perbedaan yang bermakna antara ketiga fraksi. Uji statistik dilanjutkan dengan *post hoc test*



untuk mengetahui perbedaan antar kelompok fraksi. Hasil *post hoc test* didapatkan perbedaan yang bermakna antara FA dan FB ( $p = 0,00$ ), FA dan FC ( $p = 0,00$ ), serta FB dan FC ( $p = 0,00$ ). Hal ini menunjukkan ketiga fraksi tersebut mempunyai nilai  $IC_{50}$  yang berbeda bermakna sehingga aktivitas antiplasmodium *in vitro* masing-masing fraksi berbeda. Aktivitas antiplasmodium *in vitro* dari FA, FB, dan FC dikategorikan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh. Aktivitas antiplasmodium *in vitro* dinyatakan sangat aktif atau sangat potensial jika memiliki nilai  $IC_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$  [18, 19, 20, 21], tergolong aktif jika nilai  $IC_{50}$  berkisar 5-50  $\mu\text{g/mL}$  [20, 21], kurang aktif bila  $IC_{50}$  50 – 100

$\mu\text{g/mL}$  dan tidak aktif jika  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$  [21]. Berdasarkan hal tersebut aktivitas antiplasmodium *in vitro* FA tergolong aktif, FB tergolong sangat aktif dan FC tergolong tidak aktif. Dari ketiga fraksi tersebut yang menunjukkan aktivitas antiplasmodium *in vitro* paling baik adalah FB (Gambar 3). Oleh karena itu, FB merupakan fraksi yang dilanjutkan untuk uji senyawa golongan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Profil KLT senyawa FB menunjukkan warna biru keunguan dengan penampak bercak serium sulfat yang berarti golongan senyawa aktif FB adalah glikosida.



Gambar 3. Nilai  $IC_{50}$  dari pemberian FA, FB, FC terhadap *P. falciparum* strain FCR3 masa inkubasi 72 jam

#### 4. KESIMPULAN

FA, FB, dan FC umbi *A. evecta* diperoleh rerata nilai  $IC_{50}$  berturut-turut 37,93 ± 1,19  $\mu\text{g/mL}$ ; 3,35 ± 0,07  $\mu\text{g/mL}$ ; dan > 250  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 5. REFERENSI

- [1] Departemen Kesehatan RI., 2006, *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*, Jakarta: Direktorat Jendral Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Jakarta.
- [2] WHO, 2011, *Global Plan for Artemisinin Resistance Containment (GPARC)*, WHO Press, Switzerland, 19.
- [3] Satimai, W., Sudathip, P., Vijakadge, S., Khamsiriwatchara, A., & Sawang, S., 2012, Artemisinin resistance containment project in Thailand, responses to mefloquine-artesunate combination therapy among *falciparum* malaria patients in provinces bordering Cambodia, *J Malaria*, **11**(1): 300-303.
- [4] Departemen Kesehatan RI, 2008, *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia: Gebrak Malaria*, Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- [5] WHO, 2010, *Guidelines for The Treatment of Malaria -- 2nd edition*, WHO Press, Switzerland, 1-22.
- [6] Pavanand, K., Nutakul, W., Dechatiwongse, T., Yoshihira, K., Yongvanitchit, K., Scovill, J.P., Flippen-Anderson, J.L., Gilardi, R., George, C., Kanchanapee, P., & Webster, H.K., 1986. *In vitro* antimalarial activity of *Brucea javanica*

- against multi-drug resistant *Plasmodium falciparum*. *Planta Med*, **52**: 108–111.
- [7] Muktiningsih, S.R., Muhammad, H.S., Warsana, I.W., Budhi, M., & Panjaitan, P., 2001, Review tanaman obat yang digunakan oleh pengobat tradisional di sumatra utara, sumatra selatan, bali dan sulawesi selatan, *Media Litbang Kesehatan*, XI, **4**: 25-36.
- [8] Tjokrosantoso, S., 1992, Sensitivitas batang *Alstonia scholaris* (Pule) Terhadap Parasit Malaria (*P.falciparum*), Yogyakarta, *Laporan Penelitian*, Lembaga Penelitian UGM
- [9] Hadi, S., 2003. Tanaman obat pulau Lombok : agen anti malaria dari *Alstonia scholaris* R. Br. *J Obat Bahan Alam.*, **3**(2): 28-33.
- [10] Arnida, Wahyono, Mustofa, & Susidarti, R.A., 2015, *In vitro* antiplasmodial activity of ethanol extracts of Borneo medicinal plants (*Hydrolea spinosa*; *Ampelocissus rubiginosa*; *Uraria crinite*; *Angiopteris evecta*), *Int J of Pharm and Pharma Sci*. **7**(5): 72-75.
- [11] Taveepanich, S., Kamthong, N., Sawasdipuksa, N., & Roengsumran, S., 2005, Chemical constituents and biological activity of *Angiopteris evecta* Hoffm, *J Sci Res Chula Univ*, **30**(2):187-192
- [12] Mohamad, S., Zin, N. M., Wahab, H. A., Ibrahim, P., Sulaiman, S.F., Zahariluddin, A.S.M., *et al.*, 2011, Antituberculosis potential of some ethnobotanically selected malaysian plants, *J Ethnopharmacol*, **113** (3): 1021-1026.
- [13] Khan, M.R., & Omoloso, A.D., 2008, Antibacterial and antifungal activities of *Angiopteris evecta*, *Fitoterapia*, **79**(5):366-369.
- [14] Hoa, N.K., Phan, D.N., Thuan, N.D., & Ostenson, C.G., 2009, Screening of the hypoglycemic effect of eight Vietnamese herbal drugs, *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, **31**(3):165-169.
- [15] Trager, W., & Jensen, J.B., 1976, Human malaria parasites in continous culture, *Science* **193**: 673-676.
- [16] Moll, K., Ljungstrom, I., Perlmann, H., Scherf, A., & Wahlgren, M., 2008, *Methods in Malaria Research*, University Boulevard, Manassas, 1-55.
- [17] Jennet-Siems, K., Mockenhaupt, F.P., Bienzle, U., Gupta, M.P., & Eich, E., 1999. *In vitro* antiplasmodial acivity of central americans medicinal plants, *Trop Med Intl Health*, **4**(9): 611-615.
- [18] Munoz, S., 2000, A search for natural bioactive compounds in bolivia through a multidiciplinary approach, part i. evaluation of the antimalarial activity of plants used by the chacobo indians, *J Ethnopharmacol*, **69**(2):12-37
- [19] Gessler, M.C., Nkunya, M.H.H., Mwasumbi, L.B., Heinrich, M., & Tanner, M., 1994, Screening Tanzanian medicinal plants for antimalarial activity, *Acta Tropica* **56**(1): 65-77.
- [20] Karov, D., Dicko, M.H., Sanon, S., Simpole, J., & Traore, A.S., 2003, Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm.f (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir (Fabaceae), *Ethnopharmacol*, **89**: 291-294.
- [21] Bickii, J., Tchouya, G.R.F., Tchouankeu, J.C., & Tsamo, E., 2007, Antimalarial activity in crude extracts of some cameroonian medicinal plants, *Afr J Trad CAM.*, **4** (1): 107-111