

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN POLIMERISASI HEM EKSTRAK ETANOL
BATANG MANURAN (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne) ASAL
KOTABARU KALIMANTAN SELATAN**

**HEME POLYMERITATION INHIBITION ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT
OF MANURAN (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne) STEM FROM
KOTABARU SOUTH KALIMANTAN**

Arnida, Eka Rahmawaty Sahi, Sutomo, Fadlillaturrahma

*Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jl. A. Yani Km 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan
Email : arnida01@unlam.co.id*

Abstract

*Malaria is one of the health problems that can cause death. Manuran (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne) is a plant from Kotabaru South Borneo used traditionally as anti malaria. This study aims to determine the chemical content and inhibitory activity of heme polymerization based on IC₅₀ ethanol extract of *C. tomentosa*'s stem. Based on the identification of chemical content with phytochemical screening and Thin Layer Chromatography shows the presence of flavonoids, terpenoids, saponins, tannins and anthraquinones in *C. tomentosa*'s stem. Inhibition activity of hemolymerization polymerization as early screening of antimalarial activity showed IC₅₀ ethanol extract of *C. tomentosa* at 1.56 ± 0.07 mg/mL smaller than chloroquine diphosphate 1.82 ± 0.10 mg / mL. This shows that the ethanol extract of *C. tomentosa*'s stem has inhibition activity of hem polymerization. The result of independent test of t-test sample obtained significance value of 0.395 so that H₀ is accepted, there is no significant difference ($p > 0,05$) between IC₅₀ ethanol extract of *C. tomentosa*'s stem with positive control. Therefore, the ethanol extract of *C. tomentosa*'s stem can be categorized as having equivalent activity to positive control inhibiting hem polymerization.*

Keywords: *Polymerization hem, *Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne, ethanol extract, IC₅₀*

Abstrak

Malaria merupakan salah satu masalah kesehatan yang dapat menyebabkan kematian. Manuran (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne) adalah tumbuhan asal Kotabaru Kalimantan Selatan yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat sebagai anti malaria. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan kimia dan aktivitas penghambatan polimerisasi hem berdasarkan nilai IC50 ekstrak etanol batang *C. tomentosa*. Berdasarkan identifikasi kandungan kimia dengan skrining fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan adanya senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, tanin dan antrakuinon pada batang *C. tomentosa*. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem sebagai skrining awal uji aktivitas antimalaria menunjukkan rerata IC50 ekstrak etanol batang *C. tomentosa* sebesar $1,56 \pm 0,07$ mg/mL lebih kecil dibandingkan klorokuin difosfat sebesar $1,82 \pm 0,10$ mg/mL. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol batang *C. tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem. Hasil uji *independent* sampel *t-test* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,395 sehingga H_0 diterima, tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara nilai IC50 ekstrak etanol batang *C. tomentosa* dengan kontrol positif. Oleh karena itu, ekstrak etanol batang *C. tomentosa* dapat dikategorikan memiliki aktivitas yang sebanding dengan kontrol positif dalam menghambat polimerisasi hem.

Kata Kunci : Polimerisasi hem, *Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K.Heyne, ekstrak etanol *C. tomentosa*, skrining fitokimia, KLT, IC50

PENDAHULUAN

Upaya pemberantasan malaria telah dilakukan sejak tahun 1950 dan memberikan hasil yang baik di hampir seluruh benua Eropa, Amerika Tengah dan Selatan. Meskipun infeksi *Plasmodium* hampir dimusnahkan di Amerika Serikat, namun adanya emigrasi dan imigrasi dari dan ke daerah endemik seperti Asia, dan Afrika menimbulkan masalah kesehatan yang berkelanjutan di seluruh dunia (Willcox *et al.*, 2004). Malaria merupakan salah satu masalah kesehatan yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi yaitu bayi, anak balita dan ibu hamil (Direktorat PPBB, 2011). Di wilayah Asia Tenggara, Indonesia menempati peringkat ketiga tertinggi jumlah kasus malaria, dengan

angka kematian akibat malaria sebesar 432 jiwa (WHO, 2012). Faktor penyebab sulitnya penanggulangan penyakit malaria salah satunya adalah belum ditemukannya antimalaria yang ideal (Purwanto, 2011).

Salah satu usaha menemukan antimalaria baru adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati malaria (Raharjo *et al.*, 2014). Banyak senyawa alam berhasil diisolasi dan dibuktikan aktivitas anti *Plasmodium*nya baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Senyawa-senyawa tersebut umumnya metabolit sekunder golongan alkaloid, terpen, flavanoid dan beberapa obat antimalaria bahan alam lainnya (Mustofa, 2009). Senyawa golongan flavonoid,

saponin (Handayani, 2010) terpenoid dan tanin (Ahyari, 2009) mengandung gugus hidroksil yang mampu menghambat *Plasmodium* melakukan polimerisasi membentuk pigmen malaria yaitu hemozoin (Purwanto, 2011). Hemozoin akan dilepaskan dalam darah pada saat *Plasmodium* pecah menjadi merozoit dan skizon. Penghambatan polimerisasi hem menjadi hemozoin ini dapat digunakan sebagai skrining awal uji aktivitas antimalaria (Basilico *et al.*, 1998).

Manuran (*Coptosapelta tomentosa*) merupakan tumbuhan asli Indonesia yang hidup dan banyak ditemukan di Kotabaru Kalimantan Selatan. Pada dasarnya kebanyakan dari tumbuhan golongan Rubiaceae ini mengandung senyawa flavonoid, terpenoid dan steroid (Fitriana, 2010). Sampai saat ini belum ditemukan sumber pustaka yang menyatakan tentang kandungan senyawa dan uji aktivitas antimalaria dari batang tanaman *C. tomentosa*. Berdasarkan informasi tersebut menjadi dasar penelitian untuk melakukan uji aktivitas penghambatan polimerisasi hem dari ekstrak etanol batang *C. tomentosa* asal Kotabaru Kalimantan Selatan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserator, mikrotube, pipet tetes,

pipet volume (Pyrex), pisau, rak tabung, tabung reaksi (Pyrex), *rotary evaporator* (Heidolph), mikroplate 96 sumuran (Matrix®), mikropipet, UV 254, UV 366, pH meter, timbangan analitik, sentrifuge, inkubator (Memmert), vortex mixer (Maxi Mix II®), *waterbath* (Memmert) dan *ELISA reader* (EON™).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang *C. tomentosa*, ammonia (pa.), akuades, asam asetat anhidrat (teknis), asam asetat glasial (pa.), asam sulfat pekat (teknis), DMSO 100 % (pa.), FeCl₃ 1%, HCl 2 N (teknis), kalium hidroksida etanolik, kertas saring, kloroform (teknis), klorokuin difosfat, kristal hematin, metanol (pa.), NaOH, etanol 96%, pereaksi Mayer, dan silika GF254.

Pembuatan Ekstrak Etanol Batang *C. tomentosa*

Tumbuhan *C. tomentosa* diambil dari desa Sungai Buah kecamatan Pulau Laut Timur Kabupaten Kotabaru Provinsi Kalimantan Selatan. Sebanyak 400 gram serbuk kasar batang *C. tomentosa* direndam menggunakan pelarut etanol dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:3 yaitu sebanyak 1,2 L pelarut. Maserasi dilakukan 1x24 jam sambil sesekali diaduk. Larutan selanjutnya disaring dan residu dilakukan remaserasi kembali sebanyak 2 kali. Ekstrak cair selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary*

evaporator dan dikentalkan dengan *waterbath*.

Uji aktivitas penghambatan polimerisasi hem

Larutan sampel dan kontrol positif (klorokuin difosfat) sebanyak 100 μL dengan seri konsentrasi masing-masing 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; dan 0,3125 mg/mL Larutan hematin 1 mM dalam NaOH 0,2 M sebanyak 200 μL dan asam asetat glasial 100 % (pH 2,6) ditambahkan sebanyak 100 μL ke dalam microtube. Kontrol negatif adalah larutan DMSO 10% dan aquades kemudian ditambahkan hematin sebanyak 200 μL kemudian divortex. Semua sampel diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Setelah 24 jam disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit, kemudian supernatannya dibuang. Endapan dicuci sebanyak 3 kali dengan DMSO 100% sebanyak 200 μL . Endapan yang didapat ditambah NaOH 0,1 M sebanyak 200 μL , kemudian diambil sebanyak 100 μL dan dimasukkan ke dalam mikropate 96 sumuran. Nilai absorbansinya dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm (Purwanto, 2011).

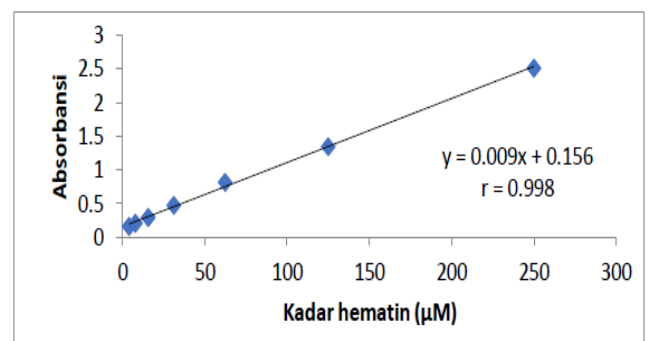
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstrak yang sudah diuapkan di *waterbath* sampai bobot tetap diperoleh ekstrak kental sebanyak 42,78 gram. Rendemen yang didapat adalah 10,695%.

Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Ekstrak Etanol Batang *C. tomentosa*

Pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi hem diawali dengan menentukan kadar β -hematin yang terbentuk dengan kurva baku hematin yang selanjutnya dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva baku hematin

Persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu $y = 0,009x + 0,156$ dengan nilai koefisien relasi (r) yang dihasilkan yaitu 0,998. Absorbansi yang diperoleh yang memenuhi syarat yaitu $> 0,997$ (Gandjar & Rohman, 2013). Kadar β -hematin ditentukan dengan cara memasukkan absorbansi yang diperoleh sebagai nilai y pada persamaan linear kurva baku hematin sehingga diperoleh nilai x sebagai β -hematin. Kadar β -hematin yang diperoleh berbanding terbalik dengan konsentrasi ekstrak etanol batang *C. tomentosa*. Semakin rendah konsentrasi maka semakin tinggi kadar β -hematinnya. Kadar β -hematin yang

diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan persentase penghambatan polimerisasi hem (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol batang *C. tomentosa* terhadap aktivitas penghambatan polimerisasi hem

Bahan Uji	Konsentrasi (mg/mL)	Rerata Kadar Hemozoin(μ M) \pm SD	Rerata % Penghambatan \pm SD	IC ₅₀ (mg/mL)
Ekstrak	10	-14,02 \pm 0,54	108,83 \pm 0,34	1,51 \pm 0,07
	5	8,54 \pm 1,24	94,61 \pm 0,78	
	2,5	77,98 \pm 1,74	50,86 \pm 1,09	
	1,25	100,24 \pm 3,94	36,84 \pm 2,48	
	0,625	114,33 \pm 2,46	27,96 \pm 1,55	
	0,3125	135,68 \pm 5,92	14,51 \pm 3,73	
Klorokuin	10	-11,70 \pm 0,84	109,50 \pm 0,68	1,82 \pm 0,10
	5	25,51 \pm 6,65	79,28 \pm 5,40	
	2,5	55,70 \pm 1,05	54,77 \pm 0,85	
	1,25	57,92 \pm 1,83	52,97 \pm 1,48	
	0,625	109,81 \pm 2,85	10,84 \pm 2,31	
	0,3125	129,92 \pm 3,72	-5,48 \pm 3,02	

Analisis lanjutan untuk mengetahui aktivitas penghambatan polimerisasi hem yaitu dengan analisis probit pada nilai IC₅₀. Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem jika mempunyai nilai IC₅₀ sampel uji lebih kecil dari nilai IC₅₀ klorokuin sulfat, yaitu 37,5 mM (12 mg/mL) (Baelsman *et. al*, 2000). Nilai IC₅₀ ekstrak etanol batang *C. tomentosa* sebesar 1,51 mg/mL lebih kecil dibandingkan nilai IC₅₀ klorokuin sulfat sebesar 12 mg/mL. Maka dari nilai tersebut ekstrak etanol batang *C. tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem.

Nilai IC₅₀ penghambatan polimerisasi hem dari sampel ekstrak etanol batang *C. tomentosa* dan kontrol

positif (klorokuin difosfat) dilakukan pengujian statistik menggunakan uji *Independent Sample t-test* dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji ini diperoleh nilai signifikan 0,395 yang memiliki arti bahwa Ho diterima sehingga tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) pada IC₅₀ ekstrak etanol batang *C. tomentosa* dan klorokuin difosfat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang *C. tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem yang sebanding karena tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan klorokuin difosfat.

KESIMPULAN

Persentase penghambatan polimerisasi hem ekstrak etanol batang

C. tomentosa pada konsentrasi 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL secara berturut-turut yaitu 108,83; 94,61; 50,86; 36,84; 27,96; 14,51 %. Ekstrak etanol batang *C. tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan IC₅₀ sebesar 1,56 ± 0,07 mg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas segala bantuan dan dukungan kepada semua pihak. Kepada DRPM Kemenristekdikti atas bantuan pembiayaan melalui hibah penelitian Penelitian Produk Terapan.

DAFTAR PUSTAKA

Ahyari, J. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi ekstrak Buah Tumbuhan Manuran (*Captosapelta tomentosa* Valetan ex K.Heyne) Asal Kabupaten Kotabaru Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Baelsmans, R., E. Deharo, V. Munoz, M. Sauvain & H. Ginsburg. 2000. Experimental Conditions for Testing the Inhibitory Activity of Chloroquine on the Formation of β -Hematin, *Experimental Parasitology*.42: 55-60.

Basilico, N., E. Pagani, D. Monti, P. Olliaro, & D. Taramelli. 1998. A Microtitre-Based Method for Measuring the Haem Polymerization Inhibitory Activity (HPIA) of Antimalarial

Drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 42: 55–60.

Direktorat Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang. 2011. *Epidemiologi Malaria di Indonesia, dalam Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan, Triwulan I*. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.

Fitriana, M. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Petroleum Eter Akar Tumbuhan Manuran Asal Kabupaten Kotabaru Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Handayani, R. 2010. Uji Identifikasi Farmakognostik Tumbuhan Manuran (*Captosapelta tomentosa* Valetan ex K.Heyne) Asal Kabupaten Kotabaru Kalimantan Selatan. *Skripsi*. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi ke-2. Penerbit ITB, Bandung.

Jones, W.P. & A.D. Kinghorn. 2006. *Extraction of Plant Secondary Metabolites*. In: Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., eds. *Natural Products Isolation*. 2nd Ed. Humana Press, New Jersey.

Kristanti, A.V., N.S. Aminah, M. Tanjung & B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga. Airlangga University Press, Surabaya.

Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spstholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang berfungsi

- Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA Universitas Mulawarman, Kalimantan Timur.*
- Mustofa. 2009. *Obat Antimalaria Baru: Antara Harapan dan Kenyataan.* Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Kedokteran. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Purwanto. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penghambat Polimerisasi Hemdari Fungi Endofit Tanaman *Artemisia annua L.* Tesis. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Raharjo, A., W. Ekasari & A.F. Hafid. 2006. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. I(1):6-9.*
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.* IKIP Semarang Press, Semarang.
- Saifudin, A., V. Rahayu, & H.Y. Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam.* Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Setyawaty, R., A. Ismunandar, & N.Q. Ngaeni. 2014. Identifikasi Senyawa Antrakuinon Pada *Malaria*, CRC Press, Boca Raton, 30, 260.
- Batang Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Prosiding Seminar Nasional Hasil - Hasil Penelitian dan Pengabdian LPPM UMP, Purwokerto.*
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, & H. Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia. I* : 98-106.
- Wagner, H. & S. Bland. 1996. *Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas.* 2nd Edition. Springer. Berlin Heidelberg
- WHO. 2012. Disease Burden in SEA Region. http://www.searo.who.int/LinkFiles/Malaria_in_the_SEAR_Map_SEAR_Endemicity_10.pdf. Diakses tanggal 21 Maret 2012.
- Willcox, M., Bodeker, G., Rasoanaivo, P., 2004, *Traditional Medicinal Plants And*