Wahyuningsih (2018) Vol. 6 No. 2: 65-73

Chimica et Natura Acta

p-ISSN: 2355-0864 e-ISSN: 2541-2574

Homepage: http://jurnal.unpad.ac.id/jcena

Aktivitas Antimalaria GB-1a Kayu Akar *Garcinia xanthochymus* Hook.f. ex T.Anderson

Sri Wahyuningsih

Prodi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas PGRI Madiun, Jl. Auri 14-16 Madiun 63118
*Penulis korespondensi: swahyu@unipma.ac.id

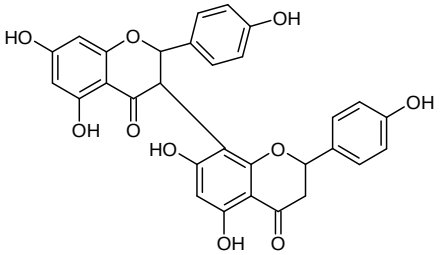
DOI: https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.18480

Abstrak: Pada penelitian ini dihasilkan senyawa biflavonoid, GB-1a **(1)** dari kayu akar Garcinia xanthochymus Hook.f.ex.T.Anderson, Kebun Raya Bogor, Jawa Barat.Senyawa ini dipisahkan dari ekstrak metanol dengan metode ekstraksi maserasi, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan kromatogrfi cair vakum (KCV), Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) dan pemurnian dilakukan dengan kromatografi radial. Elusidasi struktur molekul senyawa dilakukan berdasarkan data spektroskopi UV, IR, ^{1}H dan ^{13}C-NMR. Selanjutnya hasil uji aktivitas antimalaria menggunakan parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7 menunjukkan aktivitas yang moderat dengan harga IC_{50} 0,34µg/mL **(1)**.

Kata kunci: *Garcinia xanthochymus*, antimalaria, GB-1a, *Plasmodium falciparum*

Abstract*:** *In this study biflavonoid compounds, GB-1a **(1)** were produced from the root wood of Garcinia xanthochymus Hook.f.ex.T.Anderson, Botanical Garden Bogor, West Java. This compound was separated from methanol extract by maceration extraction method, then continued with fractionation using vacuum liquid chromatography (KCV), Gravity Column Chromatography (KKG) and purification was carried out by radial chromatography. Elucidation of the molecular structure of the compounds was carried out based on UV, IR, ^{1}H and ^{13}C-NMR spectroscopic data. Furthermore, the results of antimalarial activity tests using the Plasmodium falciparum strain 3D7 parasite showed moderate activity at a price of IC_{50} 0.34 µg / mL **(1)

Keywords: *Garcinia xanthochymus, antimalarial, GB-1a, Plasmodium falciparum*



(1)

PENDAHULUAN

Penyakit malaria merupakan permasalahan kesehatan di seluruh dunia yang menyebabkan kematian hingga mencapai jutaan penduduk setiap tahunnya.Dari sekian banyak spesies Plasmodium penyebab malaria, *P. falciparum* merupakan spesies yang paling berbahaya terhadap manusia karena kemampuannya menyerang eritrosit tua dan muda serta menyebabkan resiko kematian yang tinggi pada individu non-imun (Pusarawati 1997).

Selama ini usaha pemberantasan nyamuk Anopheles penyebab malaria dilakukan dengan cara penyemprotan, namun hal ini justru berdampak menimbulkan masalah baru yakni pencemaran lingkungan. Berdasarkan fakta tersebut maka suatu usaha yang sesuai dan efektif untuk mencari dan mengidentifikasi afinitas kimiawi tumbuhan tropis yang potensial sebagai bahan kimiawi antimalaria baru merupakan peluang yang harus digali lebih dalam. Salah satu cara yang dapat ditempuh adalah dengan melakukan pendekatan filogenetik, yakni melakukan pencarian alternatif obat malaria baru berdasarkan hubungan kekerabatan dari spesies tumbuhan yang diketahui aktivitas bahan kimiawi dan bioaktivitasnya. Berdasarkan studi literatur, dilaporkan bahwa senyawa flavonoid banyak

ditemukan pada beberapa genus tumbuhan tropis dan sebagian besar memiliki aktivitas antimalaria (Lim *et al*. 2007). Tumbuhan genus Garcinia merupakan tumbuhan tropis telah dikenal sebagai sumber senyawa santon dan biflavonoid (Ampofo & Waterman 1986) dengan berbagai macam bioaktivitas seperti antimalaria (Saxena *et al*. 2003), antijamur, antikanker, dan antibakteri (Peres & Nagem 1996).

G. xanthochymus merupakan salah satu spesies dari genus Garcinia yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Secara etnobotani buah yang dihasilkan tanaman ini telah dipakai bertahun-tahun oleh masyarakat Thailand dan Myanmar untuk mengobati diare dan disentri (Han *et al*. 2007). Secara kemotaksonomi senyawa golongan flavonoid yang ditemukan pada *G. xanthochymus* memiliki hubungan kekerabatan terhadap senyawa flavonoid yang ditemukan pada spesies berbeda dalam satu genus yang sama.

G. xanthochymus Hook.F.ex.T.Anderson merupakan tanaman koleksi Kebun Raya Bogor.*G. xanthochymus* dilaporkan menghasilkan senyawa santon, biflavon dan benzofenon yang memiliki bioaktivitas yang beragam.Namun belum pernah dilaporkan senyawa bioaktiv antimalaria yang diisolasi dari *G. xanthochymus*.

Dari ekstrak metanol kayu akar *G. xanthochymus* telah ditemukan senyawa biflavonoid yaitu GB-1a **(1)** yang sudah pernah ditemukan sebelumnya dalam tumbuhan *Garcinia kola*, *Garcinia multiflora* dan pada kayu batang *G. xanthochymus* (Fa-Ching *et al*. 1974). Hal ini memperkuat hipotesa bahwa afinitas kimiawi satu spesies dengan spesies lain dalam satu genus atau famili pada prinsipnya secara kualitatif adalah sama, tetapi dapat berbeda secara kuantitatif. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh pengaruh ekosistem, geografi dan bagian dari tumbuhan tersebut. Hasil uji aktivitas antimalaria secara in vitro menunjukkan bahwa senyawa **(1)** aktif sebagai antimalaria dengan nilai IC_{50} sebesar 0,34 µg/mL.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Kolom KCV, maserator, lampu UV λ 254 dan 366 nm, rotari evaporator BUCHI Rotavapor R-114, alat pengukur titik leleh Fisher Johns, alat pembuat plat sampel IR CARVER, spektrofotometer UV Shimadzu UV-PharmaSpec 1700, spektrofotometer IR BUCK Scientific Model 500, spektrometri ^{1}H-^{13}C-NMR Hitachi FT-NMR R-1900 dan spektrofotometer UV-Vis Hitachi. C6H12 (Hx) teknis dan pa, CH_2Cl_2 (MC) teknis dan pa, $CHCl_3$ (Klo) pa, EtOAc (EA) teknis dan pa, $CO(CH_3)_2$ (Ac) teknis, CH_3OH (Me) teknis dan pa, aquades, silika gel 60 G untuk kromatografi kolom, silika gel 60 G untuk KLT, silika gel 60 GF untuk KLTp, plat silika gel Merck 60 F_{254} 0,25 mm ukuran 20×20 cm, 1,5% serium sulfat, alumunium foil, kertas saring Whatmann 40, Aseton-D6 dan TMS (standart dalam NMR), reagen geser NaOH, $AlCl_3$ dan HCl, parasit beku *P. falciparum* strain 3D7, RPMI-1640, HEPES, natrium klorida, natrium bikarbonat, gentamisin, hipoxantine, air steril, eritrosit 100% , serum/plasma, DMSO, pewarna Giemsa, etanol dan minyak imersi.

Bahan Tumbuhan

Kayu akar G. xanthochymus diambil dari tumbuhan yang dikoleksi di Kebun Raya Bogor, Jawa Barat.

Persiapan Bahan

Kayu akar *G. xanthocymus* dikeringkan lalu digiling hingga menjadi serbuk yang siap untuk dimaserasi.

Prosedur Isolasi dan Identifikasi

Ekstrak metanol pekat (30 g) difraksinasi dengan KCV, menggunakan pelarut MC:EA (10%, 15%, 25%, 45%) dan aseton 100%. Hasil fraksinasi dimonitoring KLT, fraksi-fraksi dengan Rf noda yang relatif sama digabung kemudian dievaporasi, didapatkan 4 fraksi (A, B, C, dan D). Selanjutnya fraksi C difraksinasi lebih lanjut menggunakan metode KCV dengan eluen CH_2Cl_2/EtOAc yang ditingkatkan kepolarannya (5%, 10%, 15%, 25%, 35%, 45%, EtOAc 100%, Aseton 100% hingga MeOH 100%) dan diperoleh fraksi 4 fraksi yakni C1, C2, C3, dan C4. Selanjutnya C1 (103,5 mg) dipisahkan dengan metode KLTp menggunakan eluen $CHCl_3$/MeOH 15%. KLTp dilakukan sebanyak empat kali, fraksi yang diperoleh disebut C1'. Hasil KLTp berupa serbuk berwarna kuning pucat sebanyak 17 mg, selanjutnya C1' disebut senyawa **(1)**. Kemudian untukmenguji kemurniannya senyawa (1) dimonitoring dengan KLT tiga eluen yang berbeda. Pada KLT dengan eluen *n*-heksana/EtOAc 50%, CH_2Cl_2/aseton 60%, dan $CHCl_3$/MeOH 10%, dihasilkan noda tunggal dengan harga Rf yang berbeda-beda. Selain itu juga dilakukan KLT dua dimensi dengan eluen CH_2Cl_2/MeOH 10% (eluen pertama) dan *n*-heksan/EtOAc 80% (eluen kedua) dihasilkan noda tunggal. Selanjutnya dilakukan uji titik leleh terhadap senyawa yang diperoleh yaitu 230-231°C. Berdasarkan uji titik leleh dan KLT, padatan yang diperoleh mengindikasikan bahwa senyawa **(1)** tersebut cukup murni. Senyawa **(1)** larut dalam aseton dan metanol serta tidak larut dalam heksana, diklorometana, kloroform, dan etilasetat. Selanjutnya ditentukan strukturnya dengan analisis data spektrum UV, IR, ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR.

Aktivitas Antimalaria Secara *In Vitro*

Prosedur biakan dibuat berdasarkan metode Trager & Jensen (1976). Biakan dilakukan dalam cawan petri dan dikerjakan secara aseptik. Setelah diinkubasi selama 48 jam, kultur dipanen dan dibuat sediaan lapisan darah tipis. Masing-masing hapusan difiksasi dengan MeOH kemudian diwarnai dengan pewarna Giemsa 10%. Kemudian dibiarkan selama

15 menit , dicuci dengan air dan dikeringkan. Hitung % parasitemia dan % hambatan pertumbuhan parasit dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 5000 eritrosit di bawah mikroskop. Persen parasitemia dihitung dengan persamaan (1).

$$\%\text{Parasitemia}=\frac{\text{Jumlah eritrosit terinfeksi}}{5000}\times 100\% \quad \ldots (1)$$

Sedangkan persen hambatan pertumbuhan parasit dapat dihitung dengan persamaan (2).

$$\%\text{hambatan}=100\%-\left(\frac{X_p}{X_k}\right)100\% \quad \ldots (2)$$

dimana X_p adalah parasitemia uji dan X_k adalah parasitemia kontrol negatif.

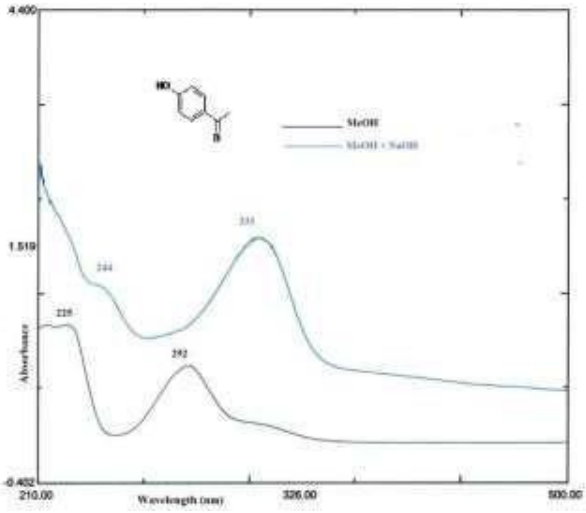
Analisa data hasil uji antimalaria seluruhnya dari tiap-tiap perlakuan diolah menggunakan analisis IC_{50} dan ditentukan dengan mengekstrapolasi % hambatan rata-rata dengan log dosis menggunakan analisa probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

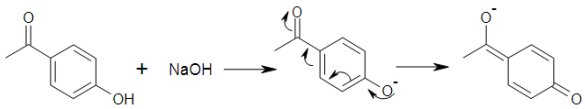
Struktur molekul senyawa **(1)** ditentukan berdasarkan analisa data spektrum ultraviolet (UV), inframerah (IR) dan ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR. Pengukuran menggunakan spektroskopi UV senyawa **(1)** menghasilkan spektrum dengan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) sebagai berikut: λ_{maks} (MeOH) (nm) 225 dan 292 ; λ_{maks} (MeOH + NaOH) (nm) 244 dan 331; λ_{maks} (MeOH + $AlCl_3$)(nm) 224 , 255 , dan 310; λ_{maks} (MeOH + $AlCl_3$ + HCl) (nm) 223, 256,dan 311.Serapan pada λ_{maks} (MeOH) 225 nm merupakan eksitasi elektron dari orbital π-π* yang khas untuk sistem ikatan rangkap terkonjugasi atau terdapat cincin aromatis sedangkan serapan pada λ 292nm adalah eksitasi elektron dari orbital n-π* yang khas untuk suatu heteroatom yang terkonjugasi dengan ikatan π. Dengan demikian dapat disarankan senyawa **(1)** mengandung sistem terkonjugasi yang tersubstitusi oleh suatu heteroatom, dalam hal ini disarankan adalah gugus karbonil.

Penambahan pereaksi NaOH dalam larutan metanol memperlihatkan beberapa puncak serapan pada spektrum UV yaitu pada λ_{maks} 244 nm dan 331 nm yang dapat dilihat pada Gambar 1, dimana terjadi pergeseran pada pita II dari λ_{maks} 225 ke 244 dan pita I dari λ_{maks} 292 ke 331. Hal ini menunjukkan adanya gugus penarik elektron (C=O) yang berkonjugasi dengan gugus hidroksil yang tersubstitusi pada sistem aromatis di posisi *para*- atau *orto*- dari karbonil sehingga mengakibatkan terjadinya kesetimbangan keto-enol (Ito *et al*. 1997) (Gambar 2).

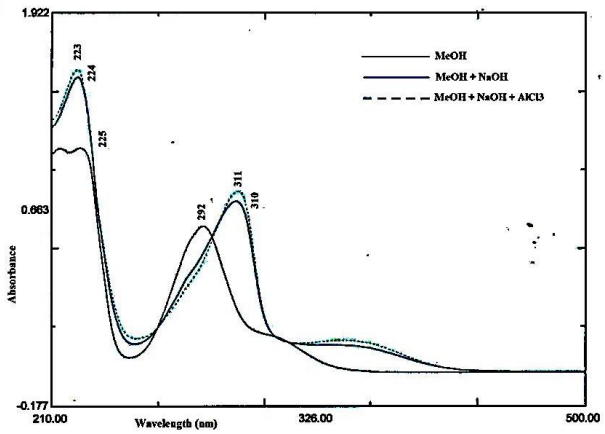
Selanjutnya $AlCl_3$ ditambahkan dalam larutan metanol senyawa (1) menghasilkan spektrum UV dengan λ_{maks} 223 nm dan 310 nm, kemudian diikuti penambahan HCl memperlihatkan λ_{maks} 224 nm dan 311 nm (Gambar 3).



Gambar 1. Spektrum UV senyawa **(1)** pada pelarut MeOH (hitam) dan MeOH+NaOH (biru)

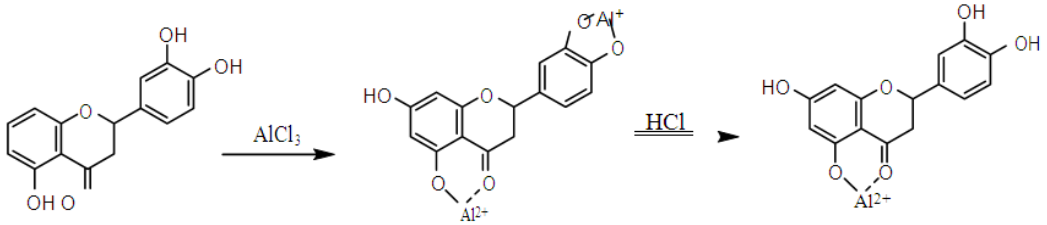


Gambar 2. Kesetimbangan keto enol

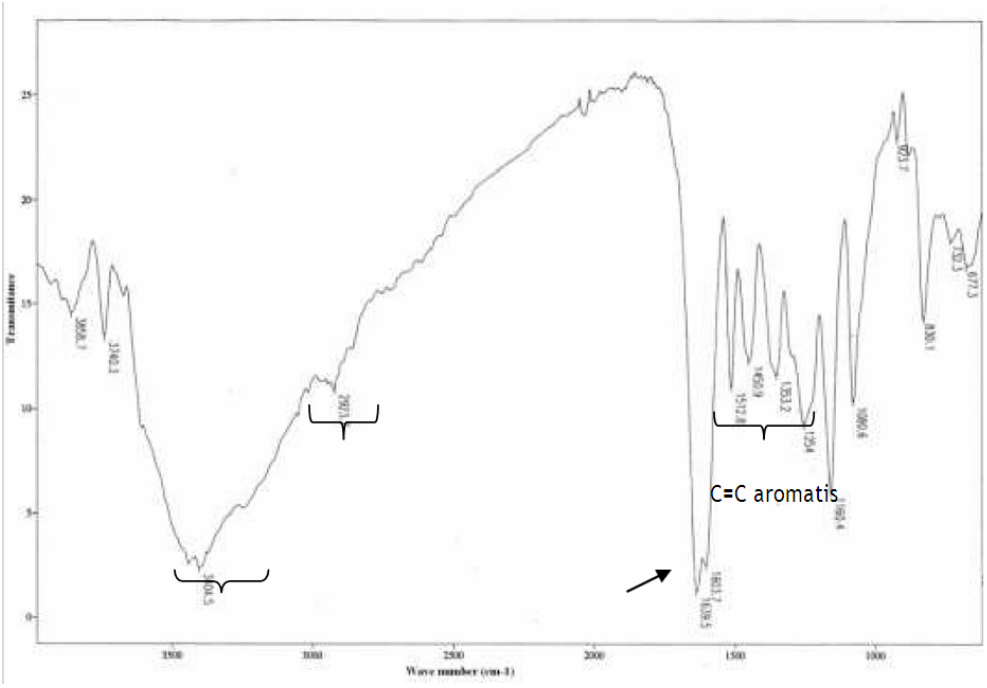


Gambar 3. Spektrum UV senyawa **(1)** dalam MeOH, MeOH+AlCl3, dan MeOH+$AlCl_3$+HCl

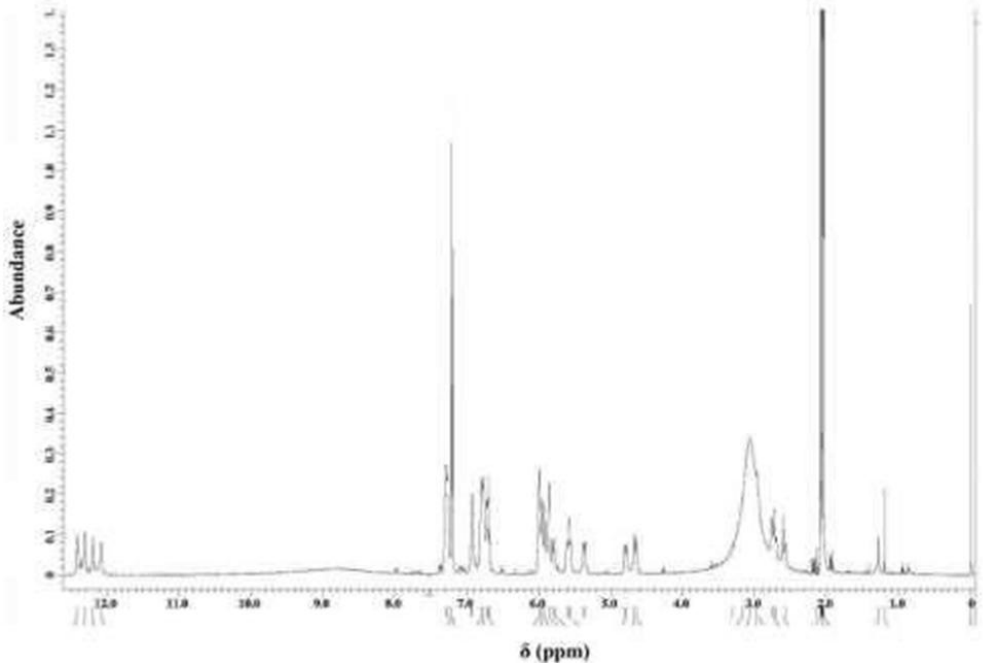
Penambahan $AlCl_3$ dalam larutan metanol menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik pita I dari λ_{maks} 292 nm ke λ_{maks} 310 nm yang menunjukkan adanya peluang terdapat hidroksil karbonil posisi *orto* atau dihidroksil *orto*. Larutan $AlCl_3$/HCl dapat membentuk kompleks tahan asam antara gugus hidroksil dan karbonil yang bertetangga dan membentuk kompleks tidak tahan asam dengan gugus *orto*-dihidroksi (Gambar 4). Ketika ditambahkan HCl, ternyata menghasilkan spektrum UV dengan nilai pergeseran pita I yang relatif sama atau berimpit dengan spektrum UV (MeOH+$AlCl_3$),



Gambar 4. Reaksi flavonoid terhadap pereaksi $AlCl_3$ dan HCl



Gambar 5. Spektrum IR Senyawa **(1)** dalam KBr



Gambar 6. Spektrum ^{1}H-NMR senyawa **(1)** dalam aseton-d_6, d_6 (400 MHz, $CDCl_3$)

artinya pada senyawa **(1)** hanya terdapat gugus hidroksi-karbonil posisi orto (karbonil kelat) dan tidak terdapat orto dihidroksil (Parveen *et al*. 2004).

Hasil dan Analisa Spektroskopi *Infra Red*

Spektrum IR senyawa **(1)** memperlihatkan beberapa serapan pada υ_{maks} (cm^{-1}) 3403, 2924, 1638, 1603, 1513, 1450, 1353, 1253, 1159, 1079, 922, 880 (Gambar 5). Data spektrum IR memberikan serapan-serapan yang khas untuk beberapa gugus fungsi. Serapan pada bilangan gelombang 1638 cm^{-1} adalah khas untuk gugus karbonil terkhelat dengan OH yang didukung pula oleh serapan pada υ_{maks} 3403 cm^{-1} melebar yang menunjukkan vibrasi OH berikatan hidrogen; serapan pada υ_{maks} 1603, 1513, 1450 cm^{-1} merupakan serapan khas untuk ikatan rangkap pada cincin aromatik, dimana data-data ini menguatkan data dari spektrum UV, sedangkan serapan pada υmaks 2924 cm^{-1} menunjukkan adanya C-H alifatik (Wang *et al*. 2008).

Dari analisa data spektrum UV dan IR maka dapat disarankan bahwa senyawa **(1)** merupakan flavanon atau flavanonol yang memiliki gugus hidroksil pada posisi *orto* dan *para* dari gugus karbonil (Mabry *et al*. 1970; Wang *et al*. 2008). Hal ini diperkuat oleh spektrum UV senyawa ini dalam metanol yang memperlihatkan serapan pita I dan pita II yang khas untuk senyawa flavonoid, dimana kekuatan serapan dapat memberikan informasi tentang jenis flavonoid. Kekuatan serapan pita I yang lebih rendah daripada pita II adalah sesuai untuk flavonoid dengan kerangka flavanon dan flavanonol (Mabry *et al*. 1970; Wang *et al*. 2008).

Hasil dan Analisa Nuclear Magnetic Resonance

Selanjutnya penentuan struktur senyawa **(1)** diteruskan dengan analisa data spektrum 1H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) yang memperlihatkan adanya beberapa kelompok sinyal yang terdiri dari 20 proton (Gambar 6). Sinyal-sinyal tersebut muncul pada δH (ppm): 2,73 (2H,d,J=15 Hz); 5,38 (1H,d,J=12 Hz); 5,58 (1H,t); 5,78 (1H,d,J=12 Hz); 5,92 (1H,s); 5,95 (1H,s); 5,99 (1H,s); 6,70 (2H,d,J=9 Hz); 6,70 (2H,d,J=9 Hz); 6,79(2H,d,J=9 Hz); 7,19 (2H,d,J=9 Hz); 7,28 (2H, d, J=9 Hz); 12,08 (1H,s,OH); 12,30 (1H,s,OH).

Spektrum Gambar 6 memperlihatkan adanya beberapa kelompok proton, yaitu δH (ppm) 2,73 (2H,t); 5,78; 5,38 dan 5,58 untuk dua kelompok proton alifatik tipe AB pada posisi trans yang ditandai dengan tetapan kopling sebesar 12 Hz (Tih et al. 2005), khas untuk H-2 dan H-3 senyawa flavanon yang mengalami substitusi dengan gugus lain pada C-3 (Ampofo & Waterman 1986). Pergeseran kimia pada 6,70; 6,79; 7,19; 7,28 ppm, masing-masing memiliki multiplisitas d, 2H dengan tetapan kopling 9 Hz, yang sesuai untuk dua kelompok proton aromatik tipe AA'BB', dimana proton- proton tersebut terbagi atas dua lingkungan akibat adanya *p*-disubstitusi. δH (ppm) 5,92 (1H); 5,95 (1H) dan 5,99 (1H) adalah kelompok proton aromatik terisolasi. Sedangkan pada pergeseran 12,08; 12,30 ppm merupakan kelompok proton hidroksi yang terkhelat dengan karbonil, khas untuk gugus OH yang tersubstitusi pada atom C-5 pada senyawa flavonoid (Ampofo & Waterman 1986). Keberadaan sinyal hidroksi khelat ini mendukung data serapan karbonil khelat pada spektrum IR.

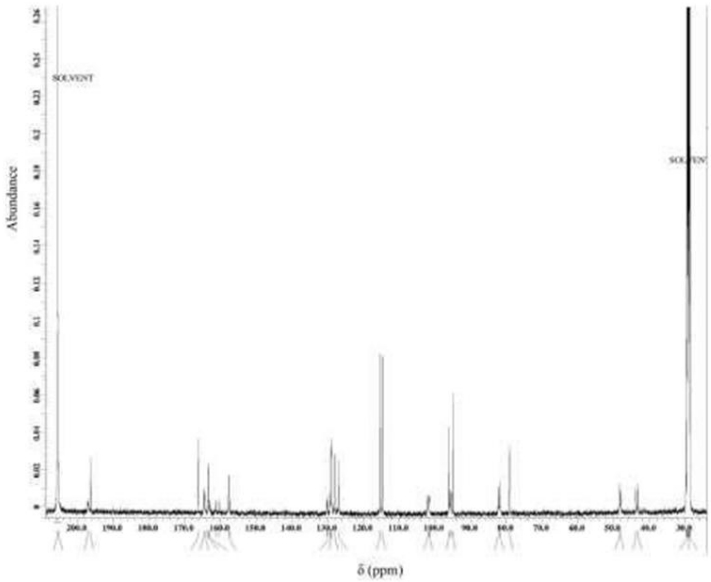
Kelaziman dalam satu molekul flavonoid terdiri atas sedikitnya 12 proton, sedangkan dalam spektrum terdapat sedikitnya 20 proton, diduga senyawa **(1)** merupakan senyawa biflavonoid. Hal ini diperkuat pula dengan adanya dua kelompok proton tipe AA'BB'. Berdasarkan uraian tersebut semakin memperkuat dugaan bahwa struktur senyawa **(1)** memiliki kemiripan dengan struktur senyawa **(1)**. Dugaan ini diperkuat pula dengan jumlah karbon hasil pengukuran spektroskopi ^{13}C-NMR sebanyak 30 karbon, sedangkan kelaziman satu molekul flavanon terdiri dari 15 karbon.

Pengukuran menggunakan spektroskopi ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$) menghasilkan spektrum (Gambar 7) pada δC (ppm): 43,2; 48,3; 79,1; 81,8; 94,9; 95,8; 96,2; 101,5; 101,6; 102,0; 114,7(2×); 115,3(2×); 126,9(2×); 127,9; 128,9; 129,1; 157,4; 157,7; 163,4; 163,5; 164,4; 164,6(2×); 166,2; 166,2; 196,3(2×).

Berdasarkan spektrum ^{13}C-NMR pada Gambar 7, senyawa **(1)** memiliki sedikitnya 30 atom karbon yang terbagi dalam lima kelompok karbon. Sinyal pada δC 196,3 dan 196,3 menunjukkan adanya gugus karbonil. Sinyal pada δC 157,4; 157,7; 163,4; 163,5; 164,4; 164,7; 166,2 dan166,2 menunjukkan karbon-karbon aromatik teroksigenasi. Sinyal pada δC 94,9; 95,8; 96,2; 101,5; 101,6; 102,0; 114,7;115,3; 127,0; 128,0; 129,0 dan 129,1 menunjukkan karbon-karbon aromatik. Sinyal pada δC 79,1 (C-2) dan 81,9 (C-2') menunjukkan karbon metin benzilik. Sinyal pada δC 43,2 (C-3') dan 48,3 (C-3) menunjukkan karbon metilen. Munculnya 2C karbonil, 2C metilen, 2C metin benzilik dan 2-OH khelat merupakan ciri dari senyawa biflavanon. Pada senyawa flavanon δC-3 adalah 43,3 ppm jika ada kopling karbon maka δC adalah 48,0 ppm (Parveen *et al*. 2004). Berdasarkan uraian ini maka kemungkinan struktur yang mendekati untuk senyawa **(1)** adalah senyawa GB-1a.

Pergeseran kimia proton pada 12,08 (1H,s,OH); 12,30 (1H,s,OH) adalah khas untuk proton OH yang terkhelat dengan gugus karbonil (Han *et al*. 2005), data ini makin menguatkan data yang diperoleh dari spektrum UV dan IR bahwa terdapat cincin aromatik yang tersubstitusi gugus karbonil dan hidroksil pada posisi *orto*.

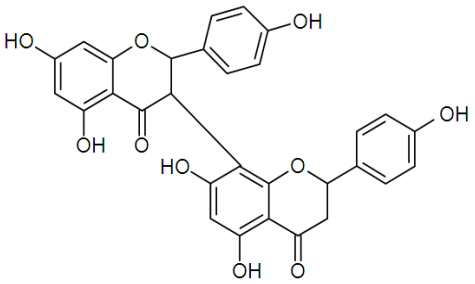
Berdasarkan Tabel 1. spektrum senyawa **(1)** menunjukkan kemiripan dengan spektrum GB-1a **(1)**. Sedangkan tidak adanya proton pada posisi C-3 dan C-8' diduga telah terjadi kopling karbon-karbon pada posisi tersebut.



Gambar 7. Spektrum ^{13}C-NMR senyawa **(1)** dalam aseton-d_6 (101 MHz, $CDCl_3$)

Tabel 1. Data Spektroskopi 1H- NMR dan 13C-NMR senyawa (1)

Posisi C	δC (ppm)	δH (ppm)	Posisi C	δC (ppm)	δH (ppm)
I 2	81,8	5,78 (1H,d,*J*=12Hz)	II 2	79,1	5,58 (1H,t)
3	48,3	5,38 (1H,d,*J*=12Hz)	3	43,2	2,73 (2H,d,*J*=15Hz)
4	196,3	-	4	196,3	-
5	163,4	12,08 (1H,s,OH)	5	163,5	12,30 (1H,s,OH)
6	95,8	5,92 (1H,s)	6	96,2	5,95 (1H,s)
7	164,4	-	7	164,6	-
8	94,9	5,99 (1H,s)	8	101,5	-
9	166,2	-	9	166,2	-
10	101,6	-	10	102	-
1'	129,1	-	1'	128,9	-
2'	127,9	7,19 (2H,d,*J*=9Hz)	2'	126,9	7,28 (2H,d,*J*=9Hz)
3'	114,7	6,79 (2H,d,*J*=9Hz)	3'	115,3	6,70 (2H,d,*J*=9Hz)
4'	157,7	-	4'	157,4	-
5'	114,7	7,19 (2H,d,*J*=9Hz)	5'	115,3	6,70 (2H,d,*J*=9Hz)
6'	127,9	6,79 (2H,d,*J*=9Hz)	6'	126,9	7,28 (2H,d,*J*=9Hz)



(1)

Tabel. 2. Data Prosen pertumbuhan parasetemia dan prosen penghambatan senyawa **(1)** terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7

Dosis Uji (µg/mL)	R	% Parasetemia		% Pertumbuhan	% Hambatan	% Hambatan rata-rata
		0 jam	48 jam			
Kontrol(-)	1	1,36	3,20	1,84	-	
	2	1,36	3,08	1,72	-	
10	1	1,36	1,77	0,41	76,97	78,93
	2	1,36	1,70	0,34	80,90	
1	1	1,36	2,17	0,81	54,49	58,99
	2	1,36	2,01	0,65	63,48	
0,1	1	1,36	2,60	1,24	30,34	38,76
	2	1,36	2,30	0,94	47,19	
0,01	1	1,36	2,85	1,49	16,29	21,91
	2	1,36	2,65	1,29	27,53	
0,001	1	1,36	3,23	1,87	0,00	6,74
	2	1,36	2,90	1,54	13,48	

Berdasarkan data-data dan hasil analisa di atas, dapat diambil kesimpulan bahwa senyawa **(1)** merupakan senyawa GB-1a, yang sudah pernah ditemukan sebelumnya dalam tumbuhan *G. kola*, *G. multiflora* dan pada kayu batang *G. xanthochymus* (Fa-Ching *et al*. 1974). Hal ini memperkuat hipotesa bahwa afinitas kimiawi satu spesies dengan spesies lain dalam satu genus atau famili pada prinsipnya secara kualitatif adalah sama, tetapi dapat berbeda secara kuantitatif. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh pengaruh ekosistem, geografi dan bagian dari tumbuhan tersebut.

Uji Bioaktivitas Antimalaria

Strain *P. falciparum* yang digunakan dalam uji aktivitas atimalaria pada penelitian ini adalah strain 3D7 yang merupakan strain sensitif-klorokuin. Uji antimalaria ini dilakukan pada tahap siklus aseksual nyamuk dengan sel inang eritrosit manusia. Dalam uji ini parasit diinkubasi selama 48 jam agar tumbuh hingga fasa skizon, sehingga dapat dikatakan pengujian ini bersifat schizontocidal, yakni menghitung besarnya daya hambat senyawa isolat pada fasa intraeritrositik, tepatnya saat parasit Plasmodium mencapai fasa skizon dalam siklus hidupnya. Parasit malaria intraeritrositik mampu mengubah molekul heme menjadi suatu molekul hemozoin yang tidak berbahaya bagi parasit tersebut. Suatu molekul yang identik dengan hemozoin adalah β-hematin yang merupakan dimer molekul heme, proses ini berlangsung dalam vakuola makanan pada suasana asam (Suwandi dkk. 2008).

Parasit malaria memiliki kapasitas terbatas untuk melakukan sintesis asam amino, dan hanya mampu bertahan hidup dengan bergantung pada proses proteolisis hemoglobin. Asam amino yang didapat dari hidrolisis globin bersatu dengan protein parasit menjadi sumber energi metabolisme parasit. Proses pencernaan hemoglobin ini menghasilkan molekul heme, yang dioksidasi menjadi hematin, (ferriprotoporphyrin IX). Molekul hematin bebas yang dihasilkan dapat mengancam metabolisme selular, yakni dengan penghambatan enzim, peroksidasi membran, dan pembentukan radikal bebas pada lingkungan asam di dalam vakuola makanan. Suatu kondisi kekurangan heme oksidase yang seharusnya digunakan vertebrata untuk dalam katabolisme heme, dimanfaatkan spesies plasmodium untuk memproduksi kristal hemozoin (pigmen malaria), yakni suatu agregat unit-unit dimerik hematin yang terhubung oleh ikatan koordinasi antara karboksilat-Fe^{3+} dan karboksilat-karboksilat. Mekanisme pembentukan agregat hemozoin belum diketahui secara pasti. Proses agregasi ini merupakan proses detoksifikasi yang dapat dimanfaatkan sebagai target pada terapi antimalaria. Oleh karena itulah itu sebagian besar antimalaria disarankan bekerja dengan cara pembentukan kompleks, sehingga terjadi proses penstabilan metabolisme pembentukan turunan hematin. Dengan demikian agregasi pembentukan molekul hemozoin yang bermanfaat sebagai nutrisi parasit dapat dicegah dan kematian parasit semakin meningkat sebagai konsekuensi meningkatnya

produksi hematin bebas yang beracun bagi parasit (Kumar et al. 2006).

Data prosen pertumbuhan parasetemia dan prosen penghambatan senyawa **(1)** terhadap Plasmodium falciparum 3D7 disajikan pada Tabel 2. Dari Tabel 2 ditunjukkan bahwa senyawa **(1)** memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *P. falciparum*. Hasil uji bioaktivitas antimalaria *in vitro* senyawa **(1)** pada Tabel 2 tersebut menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi berbanding lurus dengan besarnya nilai % hambatan rata-rata senyawa uji. Selanjutnya data pada Tabel 2 dianalisa probit dengan menggunakan software SPSS15 sehingga diperoleh nilai IC_{50} atau kematian 50% plasmodium oleh zat uji senyawa **(1)** sebesar 0,34 µg/mL.

Molekul β-hematin merupakan dimer dari monomer heme yang terhubung melalui ikatan koordinasi antara Fe^{3+} heme satu dengan gugus hidroksil heme berikutnya, selanjutnya gugus-gugus karboksilat pada masing-masing molekul β-hematin saling berikatan satu sama lain melalui ikatan hidrogen membentuk agregat lebih besar yang dikenal dengan hemozoin. Keberadaan molekul santon antimalaria yang memiliki gugus karbonil akan mengganggu pembentukan ikatan hidrogen antar molekul β-hematin pada saat pembentukan hemozoin (Portela *et al*. 2003). Hal ini disebabkan karena gugus karbonil dari senyawa santon, akan berikatan dengan gugus hidroksil dari molekul β-hematin melalui ikatan hidrogen. Dengan demikian ikatan koordinasi antara ion Fe^{3+} pada heme tidak dapat terjadi. Bila hal ini terjadi secara terus menerus, maka hemozoin yang merupakan nutrisi parasit tidak dapat terbentuk dan mengakibatkan kematian parasit.

Berdasarkan analogi kerangka utama senyawa biflavonoid yang sama dengan kerangka santon, maka dapat disarankan proses penghambatan pertumbuhan parasit *P. falciparum* oleh senyawa biflavonoid memiliki kemiripan dengan proses penghambatan pertumbuhan parasit tersebut oleh molekul santon. Keberadaan gugus *orto* dihidroksil pada molekul aktif antimalaria, memungkinkan terjadinya pembentukan kompleks antara Fe^{3+} dengan gugus *orto* dihidroksil, sehingga molekul 2,3,4-trihidroksisanton memiliki kemampuan menghambat agregasi hemozoin yang lebih baik daripada molekul 4,5-dihidroksisanton (Portela et al. 2003). Sehingga senyawa **(1)** memiliki potensi yang moderat (Tjahjani 2017)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak metanol kayu akar *G.xanthochymu*s didapatkan senyawa biflavonoid, yaitu GB-1a **(1)** berupa padatan berwarna kuning pucat dengan titik leleh 230-231°C. Hasil uji *in vitro* antimalaria senyawa **(1)** menunjukkan bahwa senyawa tersebut sedikit aktif (moderat) sebagai antimalaria dengan nilai IC_{50} sebesar 0,34g/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat-Nya sehingga kami bisa menyelesaikan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Bapak Prof. Taslim Ersam atas bimbingannya sehingga kami bisa menyelesaikan penelitian ini dengan baik dan juga kepada tim Laboratorium Kimia Organik ITS atas kerjasamanya yang baik selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ampofo, S.A. & Waterman, P.G. (1986). Xanthones from three *Garcinia* species. *Phytochemistry*, 25(10): 2351-2355.

Fa-Ching, C., Yuh-Meei, L. & Jeng-Ching, H. (1975). Phenolic compounds from the heartwood of *Garcinia multiflora*. *Phytochemistry*. 14(1): 300-303.

Han, Q.B., Lee, S.F., Qiao, C.F., He, Z.D., Song, J.Z., Sun, H.D. & Xu, H.X. (2005). Complete NMR assignments of the antibacterial biflavonoid GB1 from *Garcinia kola*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 53(8): 1034-1036.

Han, Q.B., Qiao, C.F., Song, J.Z., Yang, N.Y., Cao, X.W., Peng, Y., Yang, D.J., Chen, S.L. & Xu, H.X. (2007). Cytotoxic prenylated phenolic compounds from the twig bark of *Garcinia xanthochymus*. *Chemistry & Biodiversity*. 4(5): 940-946.

Ito, C., Miyamoto, Y., Nakayama, M., Kawai, Y., Rao, K.S. & Furukawa, H. (1997). A novel depsidone and some new xanthones from *Garcinia* species. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 45(9): 1403-1413.

Kumar, S., Guha, M., Choubey, V., Maity, P. & Bandyopadhyay, U. (2007). Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β-hematin) formation: a mechanistic update. *Life Sciences.* 80(9): 813-828.

Lim, S.S., Kim, H. & Lee, D. (2007). *In vitro* antimalarial activity of flavonoids and chalcones. *Bulletin-Korean Chemical Society*. 28(12): 2495-2497.

Mabry, T.J., Markham, K.R. & Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag. Berlin.

Parveen, M., Ilyas, M., Mushfiq, M., Busudan, O.A. & Muhaisen, H.M. (2004). A new biflavonoid from leaves of *Garcinia nervosa*. *Natural Product Research*. 18(3): 269-275.

Peres, V. & Nagem, T.J. (1997). Trioxygenated naturally occurring xanthones. *Phytochemistry*. 44(2): 191-214.

Portela, C., Afonso, C.M., Pinto, M.M. & Ramos, M.J. (2003). Receptor–drug association studies in the inhibition of the hematin aggregation process of malaria. *FEBS Letters.* 547(1-3): 217-222.

Pusarawati, S. (1997). Daya skizontosida ekstrak daun *Cassia alata* pada biakan *in vitro Plasmodium falciparum*. Laporan penelitian.

Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Surabaya.

Saxena, S., Pant, N., Jain, D.C. & Bhakuni, R.S. (2003). Antimalarial agents from plant sources. *Current Science*. 85(9): 1314-1329.

Suwandi, J., Wijayanti, M., & Mustofa. (2008) Aktivitas penghambatan polimerisasi hem antiplasmodium ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens*). Prosiding Seminar Sains dan Teknologi-II 2008, Universitas Lampung, Lampung.

Tjahjani, S. (2017). Antimalarial activity of *Garcinia mangostana* L rind and its synergistic effect with artemisinin *in vitro*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 17(1): 131.

Trager, W. & Jensen, J.B. (1976). Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 193(4254): 673-675.

Wang, K., Yang, J.Z., Zuo, L. & Zhang, D.M. (2008). Two new flavanonol glycosides from *Gordonia chrysandra*. *Chinese Chemical Letters.* 19(1): 61-64.