

Aktivitas Antiplasmodium dan Sitotoksisitas Isolat Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) secara *In Vitro*

In Vitro Antiplasmodial Activity and Cytotoxicity of Isolates of Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Root

Eti Nurwening Sholikhah^{1*}, Mahardika Agus Wijayanti², Laela Hayu Nurani³, Mustofa¹

1. Departemen Farmakologi & Terapi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM, Yogyakarta

2. Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM, Yogyakarta

3. Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

Corresponding author: Eti Nurwening Sholikhah: Email: etinurweningsholikhah@ugm.ac.id

ABSTRAK

Telah diketahui bahwa fraksi metanol akar pasak bumi mempunyai aktivitas antiplasmodium *in vitro* yang kuat. Namun belum diketahui isolat yang manakah yang aktif sebagai antiplasmodium. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antiplasmodium dan sitotoksisitas 5 isolat yang diisolasi dari fraksi metanol akar pasak bumi. Uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* dilakukan pada kultur *P. falciparum* strain FCR-3 dan D10, sedangkan uji sitotoksisitas *in vitro* dilakukan pada kultur sel normal Vero. Aktivitas antiplasmodium dan sitotoksisitas *in vitro* dinyatakan sebagai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50%*) yaitu konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium* atau sel Vero sebesar 50%. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan analisis probit. Selektivitas isolat uji dinyatakan sebagai indeks selektivitas yang merupakan rasio sitotoksisitas (IC₅₀ pada sel normal Vero) dengan aktivitas antiplasmodium *in vitro* (IC₅₀ pada *Plasmodium*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat 4 dan 5 menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang kuat dengan nilai IC₅₀ berturut turut 2,21-19,02 dan 13,54-64,73 µg/mL Rasio sitotoksisitas/aktivitas antiplasmodium menunjukkan bahwa isolat 4 dan 5 juga menunjukkan nilai selektivitas yang tinggi yaitu 11.74-68.75 untuk isolat 4, dan 66.01-316.51 untuk isolat 5. Kesimpulannya, isolat 4 dan 5 mempunyai aktivitas antiplasmodium yang tinggi dengan selektivitas yang tinggi pula.

Kata kunci: *Eurycoma longifolia*, aktivitas antiplasmodium, sitotoksisitas, *in vitro*

ABSTRACT

Previous study showed that methanol soluble fractions of *Eurycoma longifolia* Jack showed a high *in vitro* antiplasmodial activity, however there is no explanation which isolate is active as antiplasmodial. This study was conducted to evaluate the *in vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity of 5 isolates of *E. longifolia* root isolated from methanol soluble fractions. The *in vitro* antiplasmodial activity was tested on two strains of *P. falciparum*, FCR-3 and D10 while their cytotoxicity was tested on normal Vero cell line. The antiplasmodial activity and the cytotoxicity were presented as the Inhibitory Concentration 50% (IC₅₀) which showed the concentration of isolate which inhibit the *Plasmodium* or Vero cell line growth 50%. The IC₅₀ value was determined by probit analysis. The selectivity of isolate was determined by calculating the ratio of the cytotoxicity (IC₅₀ on Vero cell line) with the antiplasmodial activity (IC₅₀ on *Plasmodium*). The results showed that isolate 4 and 5 showed high antiplasmodial activity with IC₅₀ value 2.21-19.02, 13.54-

64.73 µg/mL respectively. The cytotoxic/antiplasmodial ratio indicates that isolate 4 and 5 have also high selectivity with value 11.74-68.75 for isolate 4, and 66.01-316.51 for isolate 5. For conclusion, the isolate 4 and 4 showed the high antiplasmodial activity with the high selectivity.

Keyword: *Eurycoma longifolia*, antiplasmodial activity, cytotoxicity, *in vitro*

PENDAHULUAN

Akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai antimalaria di Indonesia (Mardiswojo & Radjasmangunsudarso, 1975; Syamsuhidayat, 1997). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air pasak bumi mempunyai aktivitas antiplasmodium yang kuat secara *in vitro* pada kultur *Plasmodium falciparum* strain FCR-3 dan D10 (Mustofa & Qomariah, 2004). Penelitian *in vivo* pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* juga menunjukkan bahwa akar pasak bumi mempunyai aktivitas antiplasmodium (Mustofa & Sholikhah, 2007).

Penelitian mengenai aktivitas antimalaria akar pasak bumi juga dilakukan di negara lain. Ang *et al.*, (1995) berhasil mengisolasi kuasinoid dari akar pasak bumi yang tumbuh di Malaysia, yaitu 13 β ,18-dihidroeurikumanol, eurikumanol-2-O- β -D-glucopyranoside, eurikumanol dan eurikomanon. Jiwajinda *et al.*, (2001) telah berhasil mengisolasi kandungan aktif akar pasak bumi yang berasal dari Thailand dan membuktikan aktivitas antiplasmodiumnya. Kandungan aktif dari akar pasak bumi tersebut adalah beberapa kuasinoid yaitu longilakton, dehydrolongilakton, 11-dehidroklaineanon, 15 β hidroksiklaineanon, 14, 15 β -dihidroksiklaineanon dan 15 β -O-asetil-14-hidroksiklaineanon. Penelitian Ridzuan *et al.*, (2007) di Malaysia juga menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak terstandar akar pasak bumi dengan artemisinin merupakan kandidat antimalaria yang poten baik yang diberikan secara oral maupun sub kutan.

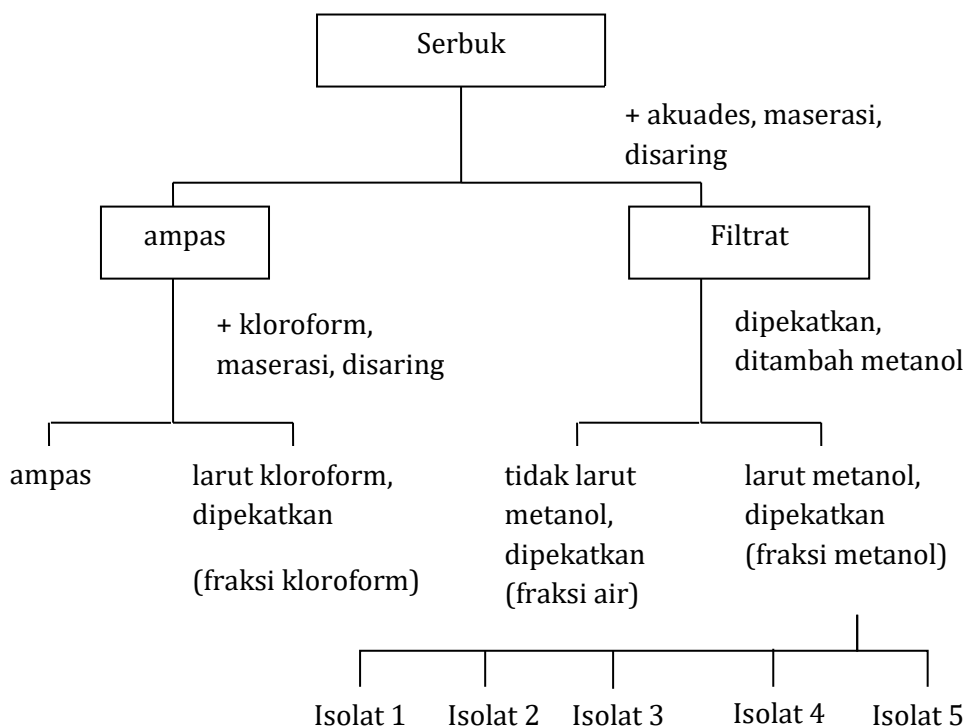
Meskipun pasak bumi (*E. longifolia*) telah diketahui terbukti mempunyai aktivitas antiplasmodium baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada hewan coba, belum diketahui isolat manakah yang aktif sebagai antiplasmodium. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antiplasmodium dan sitotoksitas 5 isolat yang diisolasi dari fraksi metanol akar pasak bumi.

METODOLOGI

Bahan

Bahan uji akar pasak bumi diperoleh dari Kalimantan Selatan. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* adalah *P. falciparum* strain FCR-3 dan strain D-10 yang diperoleh dari laboratorium *Eijkman Institute for Molecular Biology*, Jakarta. Media tumbuh RPMI 1640, NaHCO₃, dan D-sorbitol dari Sigma-Aldrich Inc., USA. Serum dan eritrosit manusia (Gol O) diambil dari sukarelawan sehat setelah menandatangani *informed consent*. HEPES (N-[2-hidroksietil] piperazin-N-[2-asam etansulfonat], dan kertas saring 0,2µm (Whatman) berasal dari Sigma Chem. Co. st. Lois USA. Dimetilsulfoksida (DMSO), Giemsa, minyak imersi berasal dari Merck (Germany). Gentamisin dari Indofarma (Indonesia).

Bahan yang digunakan untuk uji sitotoksitas pada sel Vero adalah sel Vero yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Media tumbuh M199, *Phospat Buffer Saline*, *Fetal Bovine Serum*, penisilin-streptomisin, dan fungizon berasal dari Gibco (Auckland). HEPES berasal dari Chem. Co. st. Lois



Gambar 1. Skema fraksinasi dan isolasi akar pasak bumi

USA. NaHCO_3 berasal dari Sigma Chem. Co. st. Lois USA. Sodium Dodesil Sulfat (SDS), 3-[4,5-dimetiltiazol-2il]-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT), dan HCl berasal dari Merck, Germany.

Alat

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* adalah *laminar air flow* (ESCO), *tissue culture flask* 50mL (Nunclon™), *microplate* 96 sumuran (Nunclon™), tabung berheparin (Vacuette), *disposable conical tubes* (Nunc™), inkubator CO_2 (Newbrunswick Scientific Innova), sentrifus (Eppendorf), *microscope slides*, mikroskop (Zeiss), *filter* 0,22 μm (Achrodisc), pipet mikro (Gilson), pipet Pasteur, pipet ukur, *candle jar*, dan *waterbath* (Radnoti).

Alat-alat yang digunakan untuk uji sitotoksitas pada sel Vero adalah *laminar air flow* (ESCO), *tissue culture flask* 50 mL (Nunclon™), *microplate* 96 sumuran (Nunclon™), *disposable conical tubes* (Nunc™), inkubator CO_2 (Newbrunswick

Scientific Innova), sentrifus (Eppendorf), *haemocytometer*, *inverted microscope* (Zeiss), *filter* 0,22 μm (Achrodisc), pipet mikro (Gilson), pipet Pasteur, pipet ukur, *waterbath* (Tecam®), *cell harvester* (Skatron), *Liquid Scintillation Analyzer* (di BATAN, Babarsari, Yogyakarta), dan ELISA Reader.

Cara Penelitian

Isolasi Akar Pasak Bumi

Isolasi akar pasak bumi dilakukan menurut Bedir *et al.*, (2003). Akar Pasak bumi diserut dan dikeringkan, selanjutnya dibuat serbuk. Serbuk ditambahkan akuades, dimaserasi dan disaring sehingga didapatkan ampas dan filtrat. Ampas ditambahkan kloroform, dimaserasi, disaring, dan dipekatkan sehingga diperoleh fraksi kloroform. Filtrat dipekatkan, kemudian ditambahkan metanol, sehingga didapatkan fraksi larut metanol (dipekatkan, disebut sebagai fraksi metanol) dan fraksi tidak larut metanol. Isolat 1-5 diperoleh dari fraksi metanol.

Uji aktivitas antiplasmodium pada kultur *Plasmodium falciparum in vitro*

Uji aktivitas antiplasmodium *in vitro* dilakukan pada kultur *P. falciparum* strain FCR-3 dan strain D10 menggunakan metode mikroskopis. Sebanyak 100 μ L medium RPMI yang mengandung *P. falciparum* pada stadium cincin dengan parasitemia 0,5-1% (hematokrit 1%) dimasukkan ke dalam plat 96 sumuran. Selanjutnya sebanyak 100 μ L medium yang mengandung fraksi atau isolat akar pasak bumi pada berbagai peringkat konsentrasi ditambahkan pada kultur. Kemudian diinkubasikan selama 24 dan 72 jam. Pertumbuhan *Plasmodium* ditentukan berdasarkan nilai parasitemia yang dihitung dengan membuat sediaan apus tipis yang diwarnai dengan Giemsa 5%. Sebagai kontrol digunakan kultur *Plasmodium* tanpa bahan uji dan dianggap mempunyai pertumbuhan 100%. Aktivitas antiplasmodium dinyatakan sebagai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50%*) yang menyatakan konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan *Plasmodium* sebesar 50%, dihitung dengan analisis probit.

Uji sitotoksitas pada sel Vero *in vitro*

Uji sitotoksitas *in vitro* dilakukan menurut metode *MTT assay* menurut Hughes & Mehmet (2003). Kultur sel Vero sebanyak 100 μ L didistribusikan ke dalam plat 96 sumuran (2×10^4 sel untuk setiap sumuran), dan diinkubasikan selama 24 jam. Selanjutnya ditambahkan 100 μ L fraksi atau isolat pada berbagai konsentrasi secara triplikat. Kultur sel yang mengandung fraksi atau isolat selanjutnya diinkubasikan selama 24 dan 72 jam. Kemudian media dibuang, diganti media baru sebanyak 100 μ L dan 10 μ L MTT. Selanjutnya diinkubasikan selama 4 jam, dan reaksi dihentikan dengan SDS 10% dalam 0,01N HCl. Sel diinkubasikan lagi selama 24 jam dan dibaca dengan *ELISA Reader*. Pertumbuhan sel dihitung berdasarkan jumlah sel yang hidup, yang

dihitung dengan kurva standar. Sebagai kontrol digunakan kultur sel tanpa bahan uji dan dianggap memiliki pertumbuhan 100%. Sitotoksitas dinyatakan sebagai IC₅₀ (konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan sel sebesar 50%) yang dihitung dengan analisis probit. Tingkat selektivitas isolat uji dinyatakan sebagai indeks selektivitas yang merupakan rasio sitotoksitas (nilai IC₅₀ pada sel normal) dengan aktivitas antiplasmodium *in vitro* (IC₅₀ pada *Plasmodium*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Uji aktivitas antiplasmodium *in vitro*, sitotoksitas *in vitro*, dan indeks selektivitas fraksi air, metanol, dan kloroform akar pasak bumi

Telah berhasil difraksinasi 3 macam fraksi akar pasak bumi, yaitu fraksi air, fraksi metanol, dan fraksi kloroform. Pada inkubasi 24 jam, kultur *Plasmodium falciparum* yang diberi fraksi air, metanol, dan kloroform akar pasak bumi, semakin besar konsentrasi semakin besar persentase penghambatannya. Terlihat bahwa fraksi metanol mempunyai aktivitas penghambatan yang paling besar. Pada inkubasi 72 jam, kultur *Plasmodium falciparum* yang diberi fraksi air, metanol, dan kloroform akar pasak bumi, semakin besar konsentrasi semakin besar persentase penghambatannya. Pada inkubasi 72 jam ini terlihat bahwa fraksi metanol juga mempunyai aktivitas penghambatan yang paling besar (Tabel I).

Hasil uji sitotoksitas pada sel Vero dengan waktu inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa fraksi metanol dan kloroform akar pasak bumi menunjukkan sitotoksitas. Kultur sel Vero yang diberi fraksi air, sampai konsentrasi terbesar yang diberikan (2000 μ g/mL) tidak menunjukkan sitotoksitas. Hal yang sama terjadi pada uji sitotoksitas pada sel Vero dengan waktu inkubasi 72 jam (Tabel I).

Hasil perhitungan indeks selektivitas yang merupakan rasio antara sitotoksitas

Tabel I. Aktivitas antiplasmodium (nilai IC₅₀) pada *Plasmodium falciparum* strain FCR-3, sitotoksisitas *in vitro* (nilai IC₅₀) pada sel Vero dan indeks selektivitas fraksi air, metanol, dan kloroform akar pasak bumi pada inkubasi 24 dan 72 jam.

Bahan uji	Aktivitas antiplasmodium (nilai IC ₅₀ , µg/mL)		Sitotoksisitas (nilai IC ₅₀ , µg/mL)		Indeks selektivitas ^a	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
Fraksi air	469,52 ± 56,21	656,29 ± 140,32	>2000	>2000	>4,3	>3,15
Fraksi metanol	7,37 ± 0,20	1,36 ± 0,03	562,34 ± 172,49	3636,78 ± 298,92	76,30 ± 2,15	2658,80 ± 62,53
Fraksi kloroform	2,64 ± 0,17	24,63 ± 1,57	199,61 ± 25,94	317,26 ± 39,34	75,69 ± 4,87	12,91 ± 0,84

^aRasio antara nilai IC₅₀ pada sel Vero: nilai IC₅₀ pada *Plasmodium falciparum*

(nilai IC₅₀ pada sel Vero) dengan aktivitas antiplasmodium *in vitro* (nilai IC₅₀ pada *Plasmodium*) menunjukkan bahwa di antara ketiga fraksi yang diuji, fraksi metanol menunjukkan indeks selektivitas yang paling besar pada kedua macam waktu inkubasi. Indeks selektivitas fraksi air tidak dapat diketahui dengan pasti, karena pada uji sitotoksisitas hanya dapat diketahui bahwa sitotoksisitas (nilai IC₅₀) fraksi air lebih dari 2000 µg/mL. Nilai 2000 µg/mL merupakan kadar tertinggi yang diujikan yang pada penelitian ini, yang secara teknis masih dapat diberikan (Tabel I).

Aktivitas antiplasmodium *in vitro*, sitotoksisitas *in vitro*, dan indeks selektivitas isolat akar pasak bumi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa di antara ketiga macam fraksi yaitu fraksi air, metanol, dan kloroform, fraksi metanol mempunyai aktivitas antiplasmodium yang paling besar dengan indeks selektivitas yang paling tinggi. Oleh karena itu, isolasi senyawa aktif dilanjutkan dari fraksi metanol.

Isolasi dari fraksi metanol akar pasak bumi didapatkan 5 isolat yang selanjutnya disebut sebagai isolat 1, 2, 3, 4, dan 5. Kelima isolat diuji aktivitasnya sebagai

antiplasmodium secara *in vitro*, tidak hanya pada *P. falciparum* strain FCR-3, namun juga diujikan pada strain D-10. Aktivitas antiplasmodium pada *P. falciparum* strain FCR-3 (IC₅₀), sitotoksisitas (IC₅₀) *in vitro* pada sel Vero, dan indeks sitotoksisitas kelima macam isolat akar pasak bumi setelah inkubasi 24 jam dan 72 jam (Tabel II). Di antara kelima isolat, isolat 4 menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang paling tinggi yang yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ rendah, baik pada waktu inkubasi 24 jam maupun 72 jam. Namun di antara kelima isolat, isolat 5 menunjukkan indeks selektivitas paling tinggi baik pada waktu inkubasi 24 jam maupun 72 jam, meskipun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan isolat 4.

Aktivitas antiplasmodium pada *P. falciparum* strain D10 (IC₅₀), sitotoksisitas (IC₅₀) *in vitro* pada sel Vero, dan indeks sitotoksisitas kelima macam isolat akar pasak bumi setelah inkubasi 24 jam dan 72 jam (Tabel III). Seperti halnya uji pada *P. falciparum* strain FCR-3, di antara kelima isolat, isolat 4 menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang paling tinggi yang yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ rendah, baik pada waktu inkubasi 24 jam maupun 72 jam. Namun di antara kelima isolat, isolat 5 menunjukkan indeks selektivitas paling

Tabel II. Aktivitas antiplasmodium (nilai IC₅₀) pada *Plasmodium falciparum* strain FCR-3, sitotoksitas *in vitro* (nilai IC₅₀) pada sel Vero dan indeks selektivitas isolate 1,2,3,4 dan 5 akar pasak bumi pada inkubasi 24 dan 72 jam.

Isolat	Aktivitas antiplasmodium (nilai IC ₅₀ , µg/mL)		Sitotoksitas (nilai IC ₅₀ , µg/mL)		Indeks selektivitas ^a	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
	1	178,88 ± 14,26	24,27 ± 1,45	695,68 ± 34,55	191,86 ± 116,07	3,88
2	64,13 ± 7,86	13,31 ± 1,10	141,33 ± 55,6	107,37 ± 4,79	2,20	8,06
3	117,87 ± 9,51	808,82 ± 26,80	223,68 ± 53,82	55,99 ± 28,17	1,89	0,06
4	3,52 ± 0,02	2,10 ± 0,07	223,67 ± 81,23	94,01 ± 8,30	63,54	44,76
5	13,54 ± 1,73	17,39 ± 0,19	4273,46 ± 351,07	1151,08 ± 122,67	315,61	66,19

^aRasio antara nilai IC₅₀ pada sel Vero: nilai IC₅₀ pada *Plasmodium falciparum*

Tabel III. Aktivitas antiplasmodium pada *P. falciparum* strain D10 (IC₅₀), sitotoksitas (IC₅₀) *in vitro*, dan indeks sitotoksitas isolat 1,2,3,4, dan 5 akar pasak bumi pada inkubasi 24 dan 72 jam.

Isolat	Aktivitas antiplasmodium (nilai IC ₅₀ , µg/mL)		Sitotoksitas (nilai IC ₅₀ , µg/mL)		Indeks Selektivitas ^a	
	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam	24 jam	72 jam
	1	36,54 ± 4,22	62,15 ± 2,35	695,68 ± 34,55	191,86 ± 116,07	19,03
2	41,23 ± 3,12	26,54 ± 2,43	141,33 ± 55,6	107,37 ± 4,79	3,42	4,04
3	721,24 ± 43,74	657,44 ± 34,21	223,68 ± 53,82	55,99 ± 28,17	0,31	0,08
4	19,02 ± 0,20	1,031 ± 0,08	223,67 ± 81,23	94,01 ± 8,30	11,76	91,18
5	63,73 ± 4,73	16,68 ± 0,11	4273,46 ± 351,07	1151,08 ± 122,67	66,01	69,00

^aRasio antara nilai IC₅₀ pada *P. falciparum*: IC₅₀ pada sel Vero

tinggi baik pada waktu inkubasi 24 jam maupun 72 jam, meskipun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan isolat 4.

Pembahasan

Aktivitas antiplasmodium *in vitro*, sitotoksitas *in vitro*, dan indeks selektivitas fraksi air, metanol, dan kloroform akar pasak bumi

Menurut Gessler *et al.*, (1994), ekstrak tanaman yang mempunyai nilai IC₅₀

(*Inhibitory Concentration 50%*), yaitu konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium* sebesar 50% < 10 µg/mL menunjukkan aktivitas antiplasmodium *in vitro* yang sangat kuat, nilai IC₅₀ 10-49 µg/mL menunjukkan aktivitas antiplasmodium *in vitro* sedang, sedangkan nilai IC₅₀ > 50 µg/mL menunjukkan aktivitas antiplasmodial *in vitro* lemah. Pada penelitian ini, nilai IC₅₀ fraksi metanol lebih rendah dari 10 µg/mL

baik pada inkubasi 24 jam maupun 72 jam yang menunjukkan aktivitas sangat kuat. Fraksi kloroform mempunyai nilai IC_{50} lebih rendah dari 10 $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi 24 jam, tetapi pada inkubasi 72 jam menunjukkan nilai $24,63 \pm 1,57$ yang menunjukkan aktivitas sedang. Fraksi air mempunyai nilai IC_{50} yang besar ($469,52 \pm 56,21$ $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi 24 jam, dan $656,29 \pm 140,32$ $\mu\text{g/mL}$ pada inkubasi 72 jam yang menunjukkan bahwa fraksi air akar pasak bumi tidak mempunyai aktivitas antiplasmodium.

Hasil uji sitotoksisitas menunjukkan bahwa nilai IC_{50} terbesar adalah fraksi air (>2000 $\mu\text{g/mL}$) karena sampai konsentrasi tertinggi yang diberikan (2000 $\mu\text{g/mL}$) tidak menunjukkan sitotoksisitas pada sel Vero yang merupakan sel normal yang digunakan pada penelitian ini. Meskipun tidak toksik, fraksi air tidak mempunyai aktivitas antiplasmodium, sehingga fraksi air tidak digunakan untuk penelitian lebih lanjut. Fraksi metanol yang mempunyai aktivitas antiplasmodium sangat kuat ternyata juga menunjukkan sitotoksisitas pada sel Vero. Namun, indeks selektivitas menunjukkan bahwa diantara 3 fraksi yang diuji, fraksi metanol mempunyai nilai indeks sitotoksisitas yang paling besar ($76,30 \pm 2,15$ pada inkubasi 24 jam, dan $2658,80 \pm 62,53$ pada inkubasi 72 jam) yang menunjukkan bahwa fraksi metanol akar pasak bumi bersifat tidak toksik.

Hasil penelitian mengenai aktivitas antiplasmodium *in vitro* yang ditunjukkan oleh fraksi metanol akar pasak bumi yang berasal dari Kalimantan ini sesuai dengan hasil penelitian yang menyebutkan bahwa kuasinoid *eurycomanone* dan *eurycomanol* yang diisolasi dari *E. longifolia* mempunyai aktivitas antiplasmodium *in vitro* (Chan *et al.*, 1986). *Eurycomanol*, *eurycomanol 2-O- β -D-glucopiranoside*, dan *13 β , 18-dihydroeurycomanol* yang diisolasi dari *E. longifolia* yang berasal dari Malaysia mempunyai aktivitas antiplasmodium terhadap isolat *P. falciparum* dari penderita

resisten klorokuin (Ang *et al.*, 1995). Senyawa dari *E. longifolia* yang bersifat sitotoksik dan mempunyai aktivitas antimalaria adalah 4 alkaloida yaitu: *9-methoxyxantine-6-1*, *9-methoxyxantine-6-1-N-Oxide*, *9-hydroxyxantine-6-1*, *9-hydroxyxantine-6-1-N-Oxide*, dan 1 kuasinoid yaitu *eurycomanone* (Kardono *et al.*, 1998). Kuasinoid yang berhasil diisolasi dari *E. longifolia* yang berasal dari Thailand (*longigactone*, *11-dehidroklaineaneone*, *15 β -hydroxyklaineaneone*, *14*, *15 β -dihydroxyklaineaneone*, dan *15 β -O-acetyl-14-hydroxyklaineaneone*) mempunyai aktivitas antiplasmodium *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain resisten klorokuin W2 (Jiwajinda *et al.*, 2002).

Aktivitas antiplasmodium *in vitro*, sitotoksisitas *in vitro*, dan indeks selektivitas isolat akar pasak bumi

Isolasi yang dilakukan terhadap fraksi metanol akar pasak bumi yang mempunyai aktivitas antiplasmodium terbesar dan tidak toksik, didapatkan 5 isolat, yaitu isolat 1,2,3,4 dan 5. Kelima isolat diujikan pada 2 macam strain *P. falciparum* yaitu strain FCR-3 dan strain D10.

Di antara kelima isolat akar pasak bumi, ternyata isolat 4 dengan menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang kuat dengan nilai $IC_{50} < 10$ $\mu\text{g/mL}$ terhadap *P. falciparum* strain FCR-3 *in vitro* baik pada waktu inkubasi 24 jam maupun 72 jam. Isolat 5 menunjukkan aktivitas antiplasmodium sedang dengan nilai IC_{50} di antara 10–49 $\mu\text{g/mL}$ baik pada waktu inkubasi 24 jam maupun 72 jam. Isolat 4 dan 5 menunjukkan indeks selektivitas yang tinggi yang menunjukkan selektivitasnya sebagai antiplasmodium terhadap *P. falciparum* strain FCR-3. Isolat 1 menunjukkan aktivitas antiplasmodium sedang hanya pada inkubasi 72 jam, isolat 2 menunjukkan aktivitas sedang pada inkubasi 72 jam, dan isolat 3 tidak menunjukkan adanya aktivitas sebagai antiplasmodium.

Uji aktivitas antiplasmodium pada *P. falciparum* strain D10 menunjukkan bahwa di antara kelima isolat akar pasak bumi, isolat 4 pada inkubasi 24 jam menunjukkan aktivitas anti plasmodium yang sedang, dan pada inkubasi 72 jam menunjukkan aktivitas anti plasmodium yang kuat. Isolat 5 pada inkubasi 24 jam menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang lemah, dan pada inkubasi 72 jam menunjukkan aktivitas anti plasmodium yang sedang. Isolat 4 dan 5 menunjukkan indeks selektivitas yang tinggi yang menunjukkan bahwa isolat 4 dan 5 menunjukkan selektivitasnya sebagai antiplasmodium terhadap *P. falciparum* strain D10. Isolat 1 mempunyai aktivitas lemah pada inkubasi 24 jam, dan menunjukkan aktivitas sedang pada inkubasi 72 jam. Isolat 2 menunjukkan aktivitas sedang baik pada inkubasi 24 jam maupun 72 jam. Isolat 3 tidak menunjukkan aktivitas sebagai antiplasmodium pada *P. falciparum* strain D10.

KESIMPULAN

Di antara kelima isolat yang diisolasi dari fraksi metanol akar pasak bumi, isolat 4 dan 5 mempunyai aktivitas antiplasmodium yang kuat baik pada *P. falciparum* strain FCR-3 maupun strain D10, dengan indeks selektivitas yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Badan Litbangkes Republik Indonesia yang telah memberikan dana untuk penelitian ini dan kepada Lembaga Eijkman Indonesia yang telah mengorganisasi dan membimbing jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ang, H. H., Chan, K. L., & Mak, J. W. 1995. *In vitro* antimalarial activity of quassinoids from *Eurycoma longifolia* against Malaysian chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* isolates. *Planta Med.* 61: 177-178.

- Bedir, E., Abou-Gazar, H., Ngwendson, J. N., & Khan, I. A. 2003. Eurycomaside: A new quassinoid from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Chem. Pharm. Bull.* 51(11): 1301-1303.
- Chan, K.L., O'Neill, M.J., Philippson, J.D., Warhurst, D.C., 1986. Plants as sources of antimalarial drugs. Part 3 *Eurycoma longifolia*. *Planta Medica* 52: 105-107.
- Gessler, M.C., Nkunya, M.H.N., Mwasumbi, L.B., Heinrich, M., Tonner, M. 1994. Screening Tanzanian Medical Plants for Antimalarial Activity. *Acta-Trop.* 55:65-67.
- Hughes, D., & Mehmet, H. 2003. *Cell Proliferation & Apoptosis*, BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, 19-20.
- Jiwadinda, S., Santisopasri, V., Murakami, A., Hirai, N., & Ohigashi, H. 2001. Quassinoids from *Eurycoma longifolia* as plant growth inhibitors. *Phytochemistry* 58:956-962.
- Jiwadinda, S., Santisopasri, V., Murakami, A., Kawanaka, M., Kawanaka, H., Gasquet, M., Eilas, R., Balansard, G., & Ohigashi, H. 2002. *In vitro* anti-tumor promoting and anti-parasitic activities of the quassinoids from *Eurycoma longifolia*, a medicinal plant in Southeast Asia. *J. Ethnopharmacol.* 82: 55-58.
- Mardiswojo, S. & Radjakmangunsudarso. 1975. *Cabe puyang warisan nenek moyang*. Karya Wreda, Jakarta.
- Mustofa & Sholikhah, E.N. 2007. Aktivitas antiplasmodium in vitro dan in vivo fraksi yang diperoleh dari ekstrak metanol pasak bumi (*Eurycoma Longifolia* Jack) yang secara tradisional digunakan mengobati malaria di Kalimantan Selatan. *Majalah Obat Tradisional.*, 11: 25-30.
- Mustofa & Qamariah, N. 2004. *In vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity of aqueous, methanol and chloroform extracts akar pasak bumi

- (*Eurycoma longifolia* Jack) traditionally used to treat malaria in South Kalimantan. *Medika*, 3: 147-152.
- Ridzuan, M.A.M., Sow, A, Rain A., N., Ilham A., M., Zakiah, I. 2007. *Eurycoma longifolia* extract-artemisinin combination: parasitemia suppression of *Plasmodium yoelii*-infected mice. *Trop Biomed*, 24(1):111-8.
- Syamsuhidayat, S. S. 1997. *Inventarisasi tanaman obat Indonesia IV*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.