

Uji Fitokimia dan Penapisan Senyawa Anti Malaria Asal Tumbuhan Benta (*Wikstroemia* sp.) terhadap *Plasmodium falciparum*

HELMY H., SUSANTI I., DAN FAKHRURROZI Y.

Abstract: *Wikstroemia* sp. is used in traditional medicine for medical purposes including malaria in Bangka and Belitung island. However, its use is largely based on the empirical experience rather than scientific investigation. The aim of this study is to identify the plant, to investigate the present of some kind of biochemical compound, and to evaluate *in vitro* antiplasmodial activity of ethanol extracts of *Wikstroemia* sp. leaves and fruits to *Plasmodium falciparum*. A visual method was allowed to evaluate the *in vitro* antiplasmodial activity of the extracts against *P. falciparum*. The number of parasites per 5,000 erythrocytes on thin Giemsa stained smears was calculated microscopically. IC50 values were determined by probit analysis of SPSS 13 program.

The study showed, the plant was identified as *Wikstroemia lanceolata*. Some biochemical compound which have been investigated were phenol, saponin, and steroid. The antiplasmodial activity of ethanol extracts of *Wikstroemia lanceolata* fruits and leaves on *P. falciparum* were not effective as $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$. The highest inhibition of $100 \mu\text{g/mL}$ of *Wikstroemia lanceolata* fruits and leaves were 5.95% and 16.99% respectively.

Keywords: benta, *Wikstroemia lanceolata*, antiplasmodia, *Plasmodium falciparum*

1 PENDAHULUAN

Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit yang sampai saat ini masih menjadi masalah utama kesehatan penduduk dunia. Selama 100 tahun, dunia belum dapat memberikan kontribusi yang jelas terhadap pengobatan penyakit ini (Riley 2000). Saat ini malaria masih merupakan penyakit endemik pada lebih dari 90 negara terutama pada negara yang sedang berkembang (Sanchez *et al.*, 2004). Bangka Belitung tergolong area yang endemik malaria. 48% malaria di Bangka Belitung disebabkan *Plasmodium falciparum* dari seluruh total infeksi. Infeksi yang lainnya disebabkan oleh *P. vivax* (Jakarta Post 2012).

Kematian akibat malaria banyak disebabkan oleh lingkungan yang sesuai untuk penyebaran parasit, dan sudah resistennya *Plasmodium falciparum* terhadap obat anti-malaria yang sering digunakan (Najera 1996). Penderita yang terinfeksi malaria pada dua dekade terakhir meningkat dua kali terutama disebabkan oleh munculnya strain *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap obat malaria yang tersedia terutama klorokuin dan turunannya (Trape *et al.* 2002). Kematian akibat malaria juga dapat disebabkan oleh rendahnya imunitas penderita. Lemahnya imunitas merupakan salah satu penyebab kematian penderita malaria pada usia anak (Kuby 1997).

Pada beberapa daerah endemik malaria, obat-obatan malaria sering tidak tersedia atau harganya tidak terjangkau oleh masyarakat dan juga meningkatnya kasus resistensi parasit malaria terhadap obat yang tersedia (Koch *et al.* 2005). Perez *et al.* (1997) menyatakan bahwa penyebaran secara global parasit malaria yang resisten terhadap beberapa obat yang tersedia merupakan masalah kesehatan utama sehingga dibutuhkan usaha untuk mendapatkan sumber bahan obat antimalaria yang baru (Koch, *et al.*, 2005).

Beberapa penelitian menunjukkan senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan mampu mengatasi penyakit malaria. Beberapa jenis tumbuhan tersebut diantaranya berasal dari famili *Thymalaceae*, seperti jenis *Wikstroemia*.

Pengobatan tradisional terutama di Cina menunjukkan potensi *Wikstroemia* mampu diaplikasikan sebagai antioksidan, antimikroba, anti-inflamasi, antivirus, antitumor, antikanker, dan anti-pencoklatan (Huang *et al.* 2010; Lu *et al.* 2011; Li *et al.* 2012; Lu *et al.* 2012; Ko *et al.* 2013).

Beberapa eksplorasi dan penelitian etnobotani yang dilakukan di Bangka dan Belitung menunjukkan bahwa tumbuhan benta (*Wikstroemia* sp.) sering digunakan masyarakat di Pulau Bangka dan Pulau Belitung untuk mengatasi penyakit malaria (Adelia 2010; Haryani 2001; Maysaroh 2010; Nuraini 2010; Sitompul 2010). Tumbuhan ini digunakan untuk ke-

pentingan yang berbeda pada bagian tanaman yang berbeda. Penggunaan buah benta lebih ditujukan untuk langkah preventif, yaitu mencegah orang yang mengkonsumsinya menderita malaria, sementara daunnya digunakan untuk kepentingan kuratif untuk menyembuhkan penderita malaria.

Tumbuhan benta memiliki nilai kegunaan lebih tinggi berdasarkan penilaian masyarakat dan pengobatan tradisional untuk mengatasi malaria. Sampai saat ini distribusi dan populasinya yang sangat terbatas di alam membutuhkan langkah-langkah konservasi. Dalam kajian ilmiah di Indonesia, tumbuhan ini juga masih sedikit diteliti, padahal tumbuhan ini memiliki banyak manfaat pengobatan untuk terapi penyakit selain malaria. Informasi mengenai sifat biologi dan fitokimia, serta proses pengujiannya aktivitasnya secara *in vitro* maupun *in vivo* tumbuhan ini perlu dilakukan. Oleh karena itu dirasa penting dilakukan penelitian ini.

Tujuan Penelitian

1. Melakukan identifikasi tumbuhan benta asal Kabupaten Bangka dan Kabupaten Belitung.
2. Melakukan uji kualitatif fitokimia ekstrak senyawa antimalaria asal buah dan daun benta (*Wikstroemia* sp.).
3. Melakukan penapisan ekstrak yang memiliki senyawa aktif antimalaria asal tumbuhan benta (*Wikstroemia* sp.) secara *in vitro*.

Manfaat Penelitian

Membuka peluang baru dalam pengobatan penyakit malaria.

2 BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 3 bulan, dari bulan April - Juni 2013. Buah benta diambil dari kawasan hutan di Kabupaten Bangka dan Kabupaten Belitung. Ekstraksi dan pengujian kualitatif fitokimia dilakukan di Laboratorium MIPA FPPB UBB, sedangkan pengujian antiparasit dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi UN-AIR.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tabung *ependorf*, *laminar air flow*, lemari pendingin, timbangan digital, vorteks, *candle jar*, *sentrifuge*, soklet, *vacuum rotary evaporator*, botol

scott, Erlenmeyer steril, kaca preparat, incubator O₂, autoklaf, *hotplate*, inkubator.

Bahan yang diperlukan antara lain buah dan daun benta (*Wikstroemia* sp.), parasit *P. falcifarum* (strain 3D7, HEPES, RPMI 1640 (Rosewell Parla Memorial Institute), natrium bikarbonat (NaHCO₃), hipoxantin, gentamisin, aqua DM, serum darah manusia (PMI), natrium klorida (NaCl), dimetilsulfoksida (DMSO), minyak imersi, dan pewarna Giemsa 20%, alkohol, akuades steril, asam sulfat, CH₃COOH glacial, dietil eter, Dragendorff (campuran Bi(NO₃)₂·5H₂O dalam asam nitrat dan larutan KI), etanol, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ dan HCL, kloroform, dan amoniak.

Metode Penelitian

Ekstraksi Buah dan Daun Benta.

Ekstraksi dilakukan dengan metode soxlet. Sebanyak 100 gr buah dan daun benta dihaluskan, selanjutnya direndam dalam alkohol 96% dan dipanaskan sampai senyawa terekstrak sempurna dan pelarut menjadi jernih. Pelarut kemudian dikeringkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Total persentase ekstraksi kemudian ditimbang dan dihitung.

Uji Fitokimia Buah dan Daun Benta.

Analisis fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini hanya dilakukan secara kualitatif. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam buah dan daun benta. Analisis meliputi uji alkanoid, saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid dan fenol.

Pembuatan Medium Tidak Lengkap

Medium tidak lengkap dibuat dengan cara mencampurkan 10.4 gram RPMI-1640, 5.96 gram HEPES, 2.1 gram natrium bikarbonat, 0.05 gram hipoxanthin, dan 0.5 ml gentamisin, lalu ditambahkan aqua DM sampai volume 1000 mL. Larutan disaring dengan kertas saring berukuran pori 0.22 µm, dimasukkan ke dalam botol scott, disimpan pada suhu 4° C, medium ini diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37° C dan pH 7.3 – 7.4 sebelum digunakan.

Ekstraksi Bahan Uji

Ekstrak kasar etanol asal buah dan daun benta (*Wikstroemia* sp.) yang telah dihaluskan masing-masing 100 gr diekstraksi dengan menggunakan soklet sampai senyawa terekstrak dengan sempurna dan cairan berwarna bening. Filtrat yang diperoleh ditampung, dilakukan berulang-ulang sampai filtrat yang tertampung tidak berwarna. Filtrat dipekatkan dengan *vac-*

cum rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak etanol pekat.

Uji Antimalaria Benta

1. Pembuatan Medium Tidak Lengkap

Medium tidak lengkap dibuat dengan cara mencampurkan 10.4 gram RPMI-1640, 5.96 gram HEPES, 2.1 gram natrium bikarbonat, 0.05 gram hipoxanthin, dan 0.5 ml gentamisin, lalu ditambahkan aqua DM sampai volume 1000 mL. Larutan disaring dengan kertas saring berukuran pori 0.22 μm , dimasukkan ke dalam botol scott, disimpan pada suhu 4° C, medium ini diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37° C dan pH 7.3 – 7.4 sebelum digunakan.

2. Pembuatan Medium Lengkap

Medium lengkap dibuat dengan mencampur medium tidak lengkap sebanyak 90 mL dengan serum manusia 10 mL.

3. Pembiakan Kultur parasit *P. falcifarum*

Prosedur biakan dibuat berdasarkan metode Trager dan Jansen (1976). Proses pembiakan kultur dilakukan dengan cara: tabung yang berisi parasit beku dicairkan pada suhu 37° C dan ditambahkan natrium klorida 3.5% kemudian dipindahkan ke dalam tabung *sentrifuge*. Kultur *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang. Endapan disuspensikan dengan 5 mL medium tidak lengkap, kemudian *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang. Langkah ini diulang sebanyak 3 kali. Endapan ditambahkan 4.5 mL medium lengkap dan 0.5 mL eritrosit 50% dicampur secara perlahan. Kultur dipindahkan ke cawan petri dan dimasukkan ke dalam *candle jar* dan disimpan dalam inkubator CO₂ pada suhu 37° C

4. Pembuatan Bahan Uji

1 mg ekstrak kasar akar dan daun benta masing-masing dilarutkan dalam 100 μL DMSO (sebagai stok). Larutan stok diambil 10 μL ditambahkan 490 ml medium lengkap, maka diperoleh larutan dengan konsentrasi 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Buat variasi konsentrasi larutan stok tersebut menjadi 10, 1 dan 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pembuatan larutan uji dilakukan secara aseptik dan duplo.

Kontrol negatif

Kontrol negatif dibuat dari parasit pada media tanpa bahan uji dan pelarut DMSO dengan konsentrasi 0,5% sebanyak 500 μL dalam pelarut aqua DM dan dibuat duplo.

5. Prosedur Pengujian

Sumuran diisi dengan medium lengkap 1000 μL pada baris 1 dan 3, 80 μL medium lengkap ditambahkan (kecuali K-), 120 μL zat uji ditambahkan pada sumuran 1, campur sampai homogen, 120 μL dari sumuran 1, masukkan ke sumuran 2 (lanjut sampai ke sumuran 5), 120 μL dari sumuran 5 dibuang, 80 μL dari tiap sumuran dibuang (kecuali K-), 500 μL dari tiap sumuran dimasukkan ke sumuran di sampingnya, lalu 500 μL parasit ditambahkan ke tiap sumuran.

6. Analisis Data

Setelah diinkubasi 72 jam, kultur dipanen dan dibuat hapusan darah tipis pada kaca preparat lalu difiksasi dengan metanol. Setelah kering diberi pewarna Giemsa 20%. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Persentase parasitemia dan penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan cara menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 5000 eritrosit dibawah mikroskop sebagai berikut:

- % parasitemia = (jumlah eritrosit yang terinfeksi/5000 eritrosit) x 100%;
- % pertumbuhan = % parasitemia parasit (48 jam - 0 jam);
- % Penghambatan = 100% - (Xp/Xk) x 100%,
dimana: Xp = parasitemia uji dan Xk = parasitemia kontrol (-).

Analisis data hasil uji antimalaria masing-masing perlakuan diolah menggunakan analisis statistika.

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan yang diperoleh di lapang menunjukkan adanya variasi dalam hal morfologi dan fisiologi. Perbedaan fisiologi antar tumbuhan benta disebabkan karena ada perbedaan habitat tumbuh dari tumbuhan benta.

Identifikasi dan determinasi tumbuhan benta menunjukkan bahwa tumbuhan ini termasuk ke dalam species *Wikstroemia lanceolata* menurut kunci determinasi tumbuhan tingkat tinggikan genus *Wikstroemia* (Wang & Gilbert 2007). Perawakan berupa semak, tinggi tumbuhan dapat mencapai 4m. daun menyirip berhadapan, tangkai daun 1-2,5mm, dengan karakteristik permukaan kedua sisi halus, bentuk lanset, ukuran helai daun 4-6(-8,5) x 0,8-1,2(-2.5) cm, tipis, ujung meruncing; jumlah *vena lateralis* 8-10(-16) pasang dengan bagian *abaxial* sedikit menonjol. Perbungaan maje-

muk dengan susunan *umbella* atau *racemos*, pola bunga (1-)3-6(-20), *peduncle* 0.2-0.3(-1.5) cm, *pedicel* 1-1,5mm, *calyx* berwarna hijau atau kuning-hijau, panjang tabung bunga 5-14mm, dan eksterior *puberulous*, *glabrescent*, *lobus* 4. Jumlah benang sari 8 memutar di bagian basal atau ditengah kelopak tabung. Ovarium berbentuk bulat telur, bentuk pendek, dan stigma agak bulat. Buah berupa *drupe* bulat telur sekitar 8×5mm, biasanya halus, hanya kadang-kadang pada bagian ujung terdapat bulu.



Gambar tumbuhan benta. a. Perawakan; b. Buah; c. Bunga (Dokumentasi Primer)

Ekstraksi dan Uji Fitokimia Benta

Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa pelarut menghasilkan massa ekstraksi yang berbeda. Ekstraksi buah benta menghasilkan rendemen sebesar 11,21% dan daun benta 4,4%. Hasil uji fitokimia disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Data uji kualitatif benta

Senyawa Uji Kualitatif	Buah Benta	Daun Benta
Alkaloid.	-	-
Saponin.	+	-
Steroid.	+	+
Triterpenoid	-	-
Flavonoid.	-	-
Fenol	+	+
Tanin	-	-

Hasil uji fitokimia agak berbeda dengan penelitian sebelumnya. Tumbuhan benta diketahui mengandung banyak senyawa aktif di seluruh bagian tumbuhan dalam tingkat efektifitas cukup tinggi, sehingga bisa beracun apabila tidak mengetahui cara konsumsi yang benar. Sifat racun ini terutama terdapat pada bagian buah (biji) benta. *Wikstroemia* dilaporkan mengandung beberapa tipe flavonoid,

biflavanoid, kumarin, minyak atsiri, lignan, polisakarida, dan beberapa senyawa penting lainnya (Huang *et al.* 2010; Liet *et al.* 2010; Li *et al.* 2012; Ko *et al.* 2013; Lu *et al.* 2011; Lu *et al.* 2012).

Uji Antimalaria In Vitro

Uji antimalaria secara *in vitro* dilakukan untuk mengetahui sampai sejauh mana ekstrak dari buah dan daun benta mampu menghambat pertumbuhan parasitemia. Parasit yang digunakan adalah *Plasmodium falcifarum* strain 3D7. Hasil pengujian terhadap buah benta menunjukkan hasil yang kurang baik. Hasil pengujian menunjukkan bahwa IC₅₀ (konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat 50% jumlah parasit) buah benta adalah >100 µg/mL. Hal ini terjadi karena penghambatan parasitemia baru terjadi pada konsentrasi yang tinggi, yaitu 100 µg/mL dengan penghambatan sangat kecil yaitu 5,95%, sehingga diperkirakan ekstrak baru mampu menghambat parasitemia lebih dari 50% jauh di atas konsentrasi 100 µg/mL.

Berdasarkan hasil pada tersebut, ekstrak buah benta dapat dianggap kurang baik untuk digunakan untuk mengobati penyakit malaria, karena tidak mampu membunuh parasitemia secara *in vitro*. Dosis yang dibutuhkan untuk menghambat terbaik belum dapat diperoleh. Hasil pengujian senyawa anti malaria terhadap 5000 eritrosit darah disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian senyawa antimalaria asal ekstrak buah benta terhadap *Plasmodium falcifarum* 3D7

Konsentrasi (µg/mL)	R	% Parasitemia		% Pertumbuhan	% Hambatan	% Hambatan rata-rata	IC ₅₀ (µg/mL)
		0 jam	48 jam				
Kontrol (-)	1	0,77	3,63	2,86	-	0	> 100
	2	0,77	3,13	2,36	-	0	
0,01	1	0,77	3,65	2,88	0	0	
	2	0,77	3,90	3,13	0	0	
0,1	1	0,77	3,75	2,98	0	0	
	2	0,77	3,41	2,64	0	0	
1	1	0,77	3,86	3,09	0	0	
	2	0,77	3,19	2,42	0	0	
10	1	0,77	3,72	2,95	0	0	
	2	0,77	3,24	2,47	0	0	
100	1	0,77	3,29	2,52	11,89	5,95	
	2	0,77	3,52	2,75	0	0	

Hasil pengujian terhadap daun benta menunjukkan bahwa IC₅₀ daun benta tidak dapat dihitung. Hal ini terjadi karena semua data menunjukkan bahwa hambatan parasitemia oleh ekstrak daun benta berada di bawah 20%, sementara data baru bisa dihitung apabila data yang diperoleh memiliki kisaran 20-80%. Namun data yang diperoleh sangat unik karena makin tinggi konsentrasi daun benta yang diaplikasikan, makin rendah persentase hambatan parasitemia. Hal ini dimungkinkan konsentrasi ekstrak yang terlalu tinggi justru menegasikan se-

nyawa aktif yang memiliki peran menghambat parasitemia. Hasil pengujian daun benta secara *in vitro* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian senyawa antimalaria asal ekstrak daun benta terhadap *Plasmodium falcifarum* 3D7

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	R	% Parasitemia		% Pertumbuhan	% Hambatan	% Hambatan rata-rata	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
		0 jam	48 jam				
Kontrol (-)	1	0,77	3,79	3,02		0	> 100
	2	0,77	3,97	3,20			
0,01	1	0,77	3,13	2,36	21,85	16,99	
	2	0,77	3,55	2,78	13,12		
0,1	1	0,77	3,30	2,53	16,23	12,49	
	2	0,77	3,69	2,92	8,75		
1	1	0,77	3,37	2,6	13,91	11,48	
	2	0,77	3,68	2,91	9,06		
10	1	0,77	3,77	3,00	0,66	0,33	
	2	0,77	3,98	3,21	0		
100	1	0,77	3,87	3,10	0	0	
	2	0,77	3,97	3,20	0		

Menurut Fidock *et al.* (2004) suatu senyawa dianggap efektif sebagai antimalaria jika memiliki IC₅₀ 1-5 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC₅₀ > 100 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa senyawa antimalaria terhadap *Plasmodium falcifarum* asal buah benta (*Wikstroemia* sp.) asal Pulau Bangka dan Pulau Belitung pada penelitian ini kurang baik untuk digunakan sebagai terapi penyembuhan penyakit malaria. Kegunaan tumbuhan ini sebagai malaria diduga lebih ditujukan untuk kepentingan preventif. Hal ini disebabkan karena secara tradisional tumbuhan ini lebih sering digunakan untuk mencegah infeksi malaria pada orang yang belum pernah maupun sudah pernah terkena malaria. Aplikasi yang dilakukan adalah dengan menelan langsung 2 buah benta tanpa dikunyah. Hal ini diyakini akan menghindarkan orang yang mengkonsumsinya dari infeksi malaria selama setahun (Fakhrur-rozi Maret 2013, komunikasi pribadi).

Pengaruh aplikasi tumbuhan yang ditujukan untuk kepentingan preventif umumnya berkaitan erat dengan pengaruh tumbuhan tersebut yang bersifat sistemik. Umumnya pengaruh sistemik ini terjadi terhadap sistem imunitas. Menurut Arifin (2013), imunitas terhadap malaria bersifat kompleks karena melibatkan hampir seluruh komponen sistem imun baik imunitas spesifik maupun imunitas non spesifik, imunitas humoral maupun imunitas seluler yang timbul secara alamiah maupun didapat sebagai infeksi. Kekebalan alamiah terhadap malaria sebagian besar merupakan mekanisme non imunologis berupa kelainan genetik pada eritrosit atau hemoglobin. Hal ini disebabkan oleh minimnya kadar O₂ yang terdapat pada sel darah, sehingga tidak disukai parasit.

Umumnya parasit menginvasi imunitas protektif dengan mengurangi imunogenisitas dan menghambat respon imun inang. Parasit penyebab malaria mampu mengubah permukaan antigen selama siklus

hidup dalam inang. Dua bentuk variasi antigenik protozoa *Plasmodium* sp. berupa perubahan *Stage-specific* dalam ekspresi antigen, dimana antigen stadium sporosit pada malaria berbeda dengan stadium merozoit. Perubahan menyebabkan tubuh menjadi lambat dalam beradaptasi terhadap perubahan ini, sehingga sistem imun terbentuk lebih lambat dibandingkan perkembangan parasit (Arifin 2013).

Menurut Middleton *et al.* (2000), sistem imunitas merupakan sistem yang sangat kompleks. Sistem imun tidak hanya berinteraksi dengan sel-sel tubuh, namun juga dengan berbagai jenis senyawa tubuh. Aktivitas dan mekanisme kerja sistem imun dapat dipegaruhi oleh diet, senyawa kimia, polusi lingkungan dan terutama makanan, contohnya vitamin dan flavonoid. Salah satu senyawa aktif asal *Wikstroemia* yang paling banyak ditemukan adalah flavonoid. Flavonoid dapat mempengaruhi sel-sel imun seperti sel T, sel B, makropag, sel NK, basofil, neutrofil, dan eosinofil.

Beberapa jenis flavonoid mempengaruhi secara spesifik sistem enzim yang berperan dalam proses inflamasi, terutama tyrosin (Hunter 1995) dan protein kinase serin-treonin (Middleton *et al.* 2000). Weber *et al.* (1997) melaporkan regulasi sinyal transduksi akibat pengaruh konsumsi obat. Menurut Packer *et al.* (1998) flavonoid mempengaruhi beberapa komponen yang mengontrol jalur sinyal transduksi.

Hasil penelitian mengindikasikan bahwa *Wikstroemia* mengandung banyak jenis flavonoid/ biflavonoid, yaitu Naringin, 5,6,7-Trihydroxy-4'-methoxydihydroflavonol, kaempferol-3-O-b-D-glucopyranoside, kaempferol-3-robinoside-7-rhamnoside, wikstrol A, wikstrol B, chamaejasmin, neochamaejasmin, isochamaejasmin, chamaechromone, genkwainin, quercetin, quercitrin, sikokianin B, sikokianin C, sikokianin D, stelleranol, genkwanol C, genkwanol B, tricetin, dan 4'-methoxydaphnodorin (Li *et al.* 2005; Huang *et al.* 2010; Chen *et al.* 2012; Li *et al.* 2012; Wei *et al.* 2012; Yongqin *et al.* 2012; Koet *et al.* 2013).

Senyawa lain yaitu diterpenoid pernah diisolasi dari bagian akar *Wikstroemia* oleh Khong *et al.* (2012). Beberapa jenis senyawa lain yang juga pernah diisolasi adalah asam organik seperti 4-hydroxybenzoic acid, dibutyl phthalate, dan asam benzoat (Yongqin *et al.* 2012), kumarin (umbdheforne, daphnogitin, aphnogitin, daphnoretin, daphnoretin-7-O- β -D-glucoside, wikstrosin, umbelliferone, 6'-hydroxy, 7-O-7'-dicoumarin) (Geng^b*et al.* 2006; Yongqin *et al.* 2012; Luet *et al.* 2011), steroid (Daucosterol dan β -sitosterol) (Geng^a*et al.* 2006; Koet *et al.* 2013), lignan (lirioresinol B, bis-5,5-nortrache-

logenin, dan bis-5,5'-nortrachelogenin) (Wang *et al.* 2005), dan minyak atsiri (Li & Li 2010; Liet *al.* 2012), fenol (chrysophanol) (Luet *al.* 2012), glikosida (rutin; daucosterol; beta-sitosterol) (Geng^a*et al.* 2006; Lu *et al.* 2012), lignan (tricin) (Geng^a*et al.* 2006).

Menurut Wang (Tanpa tahun), *Wikstroemia indica* di Philipina diketahui mengandung saponin, minyak atsiri, resin, dan glikosida. Senyawa yang tidak teridentifikasi adalah alkaloid.

Penelitian pada *Wikstroemia indica* untuk uji antimalaria pernah dilakukan dengan menggunakan bagian akar dan menggunakan pelarut BuOH. Larutan yang diperoleh kemudian difraksinasi kembali untuk isolasi senyawa flavonoid jenis sikokianin B dan sikokianin C. Hasil uji kedua flavonoid mengindikasikan bahwa senyawa yang tersari mampu menghasilkan penghambatan pertumbuhan parasitemia (*P. falcifarum*) dengan nilai IC₅₀ sangat baik, yaitu 0.54 µg/mL (sikokianin B) and 0.56 µg/mL (sikokianin C) (Nonome *et al.* 2004). Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan ini masih memiliki potensi antimalaria yang baik apabila ekstraksi tidak menghilangkan senyawa flavonoid dari tumbuhan. Pada penelitian ini, nampaknya pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yang dilakukan kurang tepat, sehingga menghilangkan flavonoid. Tidak hanya flavonoid, ekstraksi juga menghilangkan terpenoid yang sangat umum ditemukan pada tumbuhan dari marga *Thymelaceae*. Untuk itu optimasi ekstraksi perlu dilakukan untuk penelitian uji antimalaria.

Senyawa aktif yang terdapat pada benta dimungkinkan berpengaruh secara sistemik. Peran yang sistemik inilah yang kemungkinan menyebabkan ekstrak asal benta yang kaya akan jumlah dan jenis flavonoid tidak memberikan pengaruh langsung terhadap parasitemia, namun mempengaruhi secara sistemik terhadap kontrol sistem imun, sehingga aplikasi sebaiknya untuk kepentingan jangka panjang seperti untuk langkah preventif.

4 KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tumbuhan benta yang diidentifikasi adalah *Wikstroemia lanceolata*.
2. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak buah dan daun benta mengandung steroid dan fenol, sedangkan saponin hanya ditemukan pada bagian buah.
3. Hasil uji senyawa anti malaria menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ buah dan daun benta adalah sebesar > 100 µg/mL. Penghambatan tertinggi

terjadi pada ekstrak daun benta dengan nilai penghambatan 16,99% pada perlakuan ekstrak 0,01 µg/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Dirjen DIKTI yang telah memberikan dana penelitian melalui Hibah Dosen Pemula tahun anggaran 2013, sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Dr. Eddy Nurtjahya yang telah membantu mengedit naskah jurnal ini.

REFERENSI

- [1] Adelia N. 2010. Pengetahuan Tradisional Tentang Pemanfaatan Tumbuhan Obat oleh Masyarakat Suku Lom di Dusun Air Abik desa Gunung Muda Kecamatan Belinyu Bangka [skripsi]. Balunijuk: Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Perikanan, dan Biologi Universitas Anonim. 2012. Reaksi Imun Tubuh Terhadap Infeksi Parasit Malaria. <http://www.malariahunter.blogspot.com> [13 Juli 2013].
- [2] Arifin M. 2013. Faktor Host yang Mempengaruhi Terjadinya Penyakit Malaria. <http://helpingpeopleideas.com/publichealth/index.php/2013/01/host-factor-malaria-disease/> [13 Juli 2013].
- [3] Chen LY, Chen IS, Peng CF. 2012. Structural Elucidation and Bioactivity of Biflavonoids from the Stems of *Wikstroemia taiwanensis*. *Asian Nat Prod Res.* 14 (4):401-6
- [4] Fidock DA Rosenthal PJ Croft SL, Brun R Nwaka S. 2004. Antimalarial Drug Discovery: Efficacy Antimalarial Drug Discovery: Efficacy Models for Compound Screening, Review, *Nature* 3(Juni): 509-520.
- [5] Genga LD, Zhang C, Xiao YQ. 2006. A new dicoumarin from stem bark of *Wikstroemia indica* [abstract]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 31(1): 43-5.
- [6] Geng LD, Zhang C, Xiao YQ. 2006. Studies on the chemical constituents in stem rind of *Wikstroemia indica* [abstract]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 31(10): 817-9.
- [7] Haryani D. 2010. Inventarisasi Tumbuhan Obat di Kecamatan Toboali, Kecamatan Tukak sadai dan Kecamatan Pulau Besar Kabupaten Bangka Selatan [skripsi]. Balunijuk: Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Perikanan, dan Biologi Universitas Bangka Belitung.
- [8] Huang W, Zhang X, Wang Y, Ye W, Ooi V, Chung H, Li Y. 2010. Antiviral biflavonoid from radix *Wikstroemia* (Liaogewanggen). *Chinese Medicine* 5(1):23.
- [9] Hunter T (1995) Protein kinases and phosphatases: The yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell* 80:225-236
- [10] Jakarta Post. 2012. Bangka Belitung in fight against malaria. 29 Oktober 2012.
- [11] Khong A, Forestieri R, Williams DE, Patrick BO, Olmstead A, Svinti V, Schaeffer E, Jean F, Roberge M,

- Andersen RJ, Mail EJ. 2012. A Daphnane Diterpenoid Isolated from *Wikstroemia polyantha* Induces an Inflammatory Response and Modulates miRNA Activity [abstract].
<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0039621> [17 Mei 2013].
- [12] Ko YC, Feng HT, Lee RJ, Lee MR. 2013. The determination of flavonoids in *Wikstroemia indica* with photo-diode array detection and negative electrospray ionization tandem spectrometry [abstract]. *Mass Spectrom* 27:59-67.
- [13] Koch A, Tamez P, Pezzuto J and Soejarto D. 2005. Evaluation of plants used for antimalarial treatment by the Maasai of Kenya [abstract]. *J. of Ethnopharmacology* 101 :95-99.
- [14] Kuby J. 1997. *Immunology*. 3rd edition. New York: W.H. Freeman and Company.
- [15] Li J, Lu LY, Zeng LH, Zhang C, Hu JL, Li XR. 2005. Sikokianin D, A New C-3/C-3"-Biflavanone from the Roots of *Wikstroemia indica* [abstract].
www.mdpi.com/journal/molecules [14 Juli 2013].
- [16] Li YM, Zhu L, Jiang JG, Yang L, Wang DY. 2012. Bioactive component and pharmacological action of *Wikstroemia indica* (L.) C.A. Mey and its clinical application [abstract]. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 10(8): 1389-2010.
- [17] Li JJ, Li C. 2010. Ultrasonic-microwave Synergistic Extraction and Antioxidant Activity of Total Flavonoids from *Wikstroemia indica* (Linn.) C.A. Mey [abstract]. *Food Science*: 16
- [18] Lu CL, Li YM, Fu GQ, Yang L, Jiang JG, Zhu L, Lin FL, Chen J, Lin QS. 2011. Ekstraksi dan optimisasi od daphnoretin from root bark of *Wikstroemia indica* (L.) C.A. and its anti-tumor activity test [abstract]. *Food Chemistry* 124(4):1500-1506.
- [19] Lu CL, Zhu L, Piao JH, Jiang JG. 2012. Chemical compositions extracted from *Wikstroemia indica* and their multiple activities [abstract]. *Pharm. Biol.* 50(2):225-231.
- [20] Maisyaroh. 2010. Inventarisasi Tumbuhan Obat di Kecamatan Koba, Kecamatan Rubuk Besar, dan Kecamatan Pangkalan Baru Kabupaten Bangka Tengah [skripsi]. Balunijuk: Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Perikanan, dan Biologi Universitas Bangka Belitung.
- [21] Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer [abstract]. *Pharmacol Rev* 52:673-751.
- [22] Najera, J.A. 1996. Malaria Control Among refugees and displaced populations. *World Health Organization*.
- [23] Nunome S, Ishiyama A, Kobayashi M, Otoguro K, Kiyohara H, Yamada H, Omura S. 2004. In vitro antimalarial activity of biflavonoids from *Wikstroemia indica* [abstract]. *Planta Med.*70(1):76-8.
- [24] Packer L, Saliou C, Droy-Lejaix MT and Christen Y. 1998. Ginkgo biloba extract synthase, in *Flavonoids in Health and Disease* (Rice-Evans CA and Packer L eds) pp 303-341, Marcel Dekker, Inc., New York.
- [25] Perez H, Diaz F, Medina JD. 1997. Chemical investigation and in vitro antimalarial activity of *Taebuina ochracea* ssp. *neochrysantha*. *International Journal of Pharmacognosy* 35(4) : 227-231.
- [26] Riley EM. 2000. *The London School of Hygiene and Tropical Medicine: a New Century of Malaria Research*. *Memio Instituto Oswaldo Cruz* 95: 25-32.
- [27] Sanchez BAM, Mota MM, Sultan AA and Carvalho LH. 2004. *Plasmodium berghei* parasite transformed with green fluorescent protein for screening blood schizonticidal agents. *Int.J.of Parasitology* 34: 485-490
- [28] Sitompul S. 2010. Inventarisasi Tumbuhan Obat di Kecamatan Namang, Kecamatan Simpang Katis, dan Kecamatan Sungai Selan, Kabupaten Bangka Tengah [skripsi]. Balunijuk: Program Studi Biologi Fakultas Pertanian, Perikanan, dan Biologi Universitas Bangka Belitung.
- [29] Trape JF, Pison G, Speigel A, Enel C, Rogier C. 2002. Combating malaria in Africa. *Trends in Parasitology* 18 : 224-230.
- [30] Wang LG. Tanpa tahun. Salago (Philippine Medicinal Plants). <http://www.stuartxchange.com/Salago.html> [23 Juni 2013].
- [31] Wang Y, Gilbert MG. 2007. "*Wikstroemia*". *Flora of China* 13: 213, 215, 230.
- [32] Weber G, Shen F, Prajda N, Yang H, Li W, Yeh A, Csokay B, Olah E, Look KY. 1997. Regulation of the signal transduction program by drugs [abstract]. *Adv Enzyme Regul.*37:35-55.
- [33] Yongqin Y, Xin Z, Feng H, Zhibin S. 2012. Chemical Constituents of *Wikstroemia Indica* [abstract]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy* 29 (8): 697-699.