

Senyawa Antimalaria dari Jamur Endofitik Tumbuhan Sambiloto (*Andographis paniculata* Nees)

Elfita^{1*)}, Muharni¹⁾, Munawar²⁾, Salni²⁾, dan Ade Oktasari¹⁾

¹⁾Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya,
Jalan Raya Palembang-Prabumulih Km. 32 Indralaya, Ogan Ilir, Sumatra Selatan 30662

²⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya,
Jalan Raya Palembang-Prabumulih Km. 32 Indralaya, Ogan Ilir, Sumatra Selatan 30662

Diterima 23-02-2010

Disetujui 25-11-2010

ABSTRACT

Plants have been the chief source of compounds of medicine for thousand of years. Plants are also the source of many medicines for the majority of the world's population. The role of biotechnology is very important for multiplying, conserving the spesies, and enhancing the production of secondary metabolites. Endophytic are microbes that inhabit plants are currently considered to be a wellspring of novel secondary metabolites offering the potential for medical and industrial exploitation. Plants with ethnobotanical history, for example sambiloto (*Andographis paniculata* Nees) are likely candidates for finding bioactive compounds. Isolation begin with cultivation of *Aspergillus flavus* fungi in 2 liter of Potato Dextrose Broth media for four weeks. Media is extracted into the solvent n-hexane and ethylacetate following by evaporation. Ethylacetate extracts were separated by chromatography techniques in order to get pure compound in the form of white crystal. Phytochemical tests showed that the isolated compound is alkaloid. The molecular structure of the isolated compound was determined based on spectroscopic data, including UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMQC, and HMBC spectrum. The compound was determined as 7-hydroxypiranopiridin-4-on with molecule formula C₈H₇NO₂ (Mr=149). The compound has antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* 3D7, with IC₅₀ values 0,201 μM.

Keywords: *Andographis paniculata* Nees, antimalaria, 7-hydroxypiranopiridin-4-on, endophytic fungi

PENDAHULUAN

Masalah resistensi parasit terhadap obat malaria merupakan tantangan besar yang dihadapi dalam upaya pemberantasan malaria. Implikasi dari resistensi obat antimalaria adalah penyebaran malaria ke daerah baru dan munculnya kembali malaria di daerah yang telah diberantas. Resistensi obat juga mempunyai peranan penting dalam terjadinya epidemi atau kejadian luar biasa (KLB) di Indonesia. Keadaan ini diperberat dengan adanya perpindahan atau mobilitas penduduk yang besar dengan membawa dan memperkenalkan parasit yang resisten (Gunawan, 2000).

Klorokuin adalah obat antimalaria yang paling luas pemakaiannya karena mudah diperoleh, murah, dan efek samping yang minimal. Selama ini klorokuin merupakan obat pilihan utama (*first line drug*) untuk pengobatan malaria *falciparum* tanpa komplikasi. Efek samping yang ditemukan adalah ringan seperti pusing, vertigo, diplopia, mual, muntah, dan sakit perut.

Namun pemberantasan malaria *falciparum* menghadapi kendala yang serius sejak ditemukan pertama kali kasus resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin di Kalimantan Timur pada tahun 1974. Resistensi ini terus meluas dan pada tahun 1996 kasus-kasus malaria yang resisten klorokuin sudah ditemukan diseluruh provinsi di Indonesia. Berdasarkan pedoman WHO, bila ditemukan resistensi plasmodium terhadap klorokuin di suatu daerah > 25%, maka dianjurkan untuk tidak lagi menggunakannya sebagai antimalaria, kecuali dikombinasi dengan antimalaria lain. Tujuan dari terapi kombinasi ini adalah untuk meningkatkan efikasi antimalaria maupun aktivitas sinergistik, dan memperlambat progresifitas resistensi parasit terhadap obat-obat yang baru. Oleh sebab itu pencarian obat antimalaria di Indonesia sangat penting untuk mengatasi resistensi *plasmodium* tersebut (Acang, 2002).

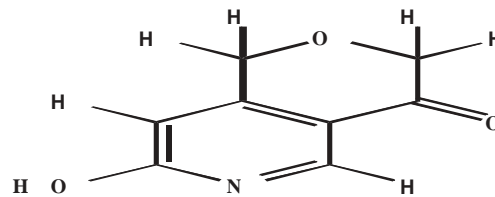
Mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tumbuhan pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofitik yang mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang diduga sebagai koevolusi atau transfer genetik dari tanaman inangnya ke mikroba endofitik (Tan & Zou, 2001)

Isolasi senyawa bioaktif dari tumbuh-tumbuhan yang berorientasi pada penyediaan bahan aktif obat-obatan, sering mengalami kendala yaitu rendemen yang sangat rendah. Selama ini beberapa upaya untuk memperbanyak senyawa aktif tersebut adalah dengan kultur jaringan, mencari enzim dalam tumbuhan tersebut yang berperan dalam pembentukan senyawa aktif, transplantasi gen ke dalam sel bakteri, dan sintesis kimia (Radji, 2005).

Selain itu ada cara lain untuk mendapatkan senyawa bioaktif yaitu dengan memanfaatkan mikroba endofitik yang spesifik pada setiap tumbuhan. Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan dengan tumbuhan inangnya dan dapat bersama-sama menghasilkan metabolit sekunder tertentu (Hung & Annapurna, 2004; Hundley, 2005). Dengan mengisolasi mikroba endofitik dari tumbuhan inangnya, maka mikroba ini dapat dikultivasi dalam waktu yang singkat sehingga menghasilkan metabolit sekunder dalam jumlah yang sesuai dengan kebutuhan. Cara ini perlu dikembangkan karena memiliki keunggulan dari segi waktu dan biaya.

Dikarenakan banyak jenis tumbuhan di dunia, maka perlu suatu pendekatan agar dapat mempermudah pencarian mikroba endofitik yang menunjukkan aktivitas biologis tertentu. Salah satunya adalah tumbuhan yang memiliki sejarah etnobotani yang terkait dengan beberapa penggunaannya dalam pengobatan atau aplikasi spesifik, sehingga peluang untuk mendapatkan senyawa aktif akan lebih besar (Strobel et al., 2004).

Tumbuhan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) selama ini telah digunakan secara tradisional untuk mengobati penyakit malaria (Heyne, 1987; Wijayakusuma et al., 1994). Beberapa penelitian telah dilakukan oleh para peneliti yang mengarah pada pembuktian kebenaran tumbuhan tersebut sebagai antimalaria. Penelitian di Surabaya menemukan bahwa



Gambar 1. 7-hidroksipiranopiridin-4-on

ekstrak dari herba sambiloto dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* secara *in-vitro* dan mempunyai efektifitas yang sama dengan klorokuin difosfat (Widyawaruyanti et al., 2000). Penelitian di Kuala Lumpur, membandingkan efek antimalaria dari sambiloto dengan dua jenis herbal lainnya yaitu daun sirih (*Piper sarmentosum*) dan brotowali (*Tinospora crisoa*) dan mendapatkan efek antimalaria sambiloto lebih besar secara *invivo* pada hewan coba (Najib et al., 1999). Suatu senyawa alkaloid yang memiliki aktivitas antimalaria potensial telah diisolasi dari jamur endofitik tumbuhan ini yaitu 7-hidroksipiranopiridin-4-on (Gambar 1). Dalam makalah ini akan dilaporkan isolasi dan penentuan struktur senyawa tersebut serta aktivitas antimalariannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian berupa tumbuhan sambiloto (*A. paniculata* Nees) yang diambil dari pekarangan rumah dan diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya, Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Broth* (PDB) untuk isolasi jamur endofitik, Juga serangkaian media yang umum digunakan untuk uji-uji fisiologis atau enzimasasi dalam identifikasi mikroba, Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk pemisahan dan pemurnian metabolit sekunder yang terdiri dari berbagai pelarut organik (diantaranya metanol, *n*-heksan, etil asetat, diklorometan, aseton, kloroform), kromatografi kolom grafitasi (KK) menggunakan Si-gel 60G (70-230 Mesh), dan analisis KLT menggunakan plat KLT Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm, 20 x 20 cm, serta media uji antimalaria.

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini antara lain *colony counter*, autoklaf, alat inkubator, *water bath*, *shaker incubator*, timbangan analitik, lemari es, mikroskop, hotplat magnetic, foto mikroskop, vakum evaporator, lampu UV, kolom kromatografi, dan alat-alat gelas lainnya yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Mikrobiologi.

Prosedur kerja. Penelitian ini diawali dengan isolasi jamur dari tanaman sambiloto dan seleksi isolat jamur yang menghasilkan metabolit sekunder potensial (Misaghi & Donndelinger, 1990; Lumyong *et al.*, 2001).

Bagian batang dan daun tanaman sambiloto dicuci dengan alkohol 70% dibilas dengan akuades steril, selanjutnya dicuci kembali dengan larutan HgCl_2 5%, dan dibilas dengan aquades steril. Masing-masing sampel (batang dan daun) dihomogenisasi menggunakan waring blender secara aseptik. Sampel diambil 10 gram dan dimasukkan ke dalam medium PCB dan diinkubasi pada shaker dikocok dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Selanjutnya masing-masing kultur (dari batang dan daun) diambil 0,1 ml distreak pada medium PDA lempeng dan ditambahkan antibakteri, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Setiap koloni yang tumbuh pada PDA dimurnikan dengan menggosokkan menggunakan jarum ose pada medium NB. Masing-masing koloni yang tumbuh terpisah sebagai single colony diinokulasikan pada medium PDA miring untuk jamur, yang selanjutnya digunakan sebagai kultur stok dan kultur kerja untuk tahapan kerja berikutnya.

Masing-masing isolat jamur yang diambil dari kultur kerja, ditumbuhkan pada medium cair PDB. Kultivasi dilakukan selama 4 minggu pada kondisi statis. Selanjutnya dilakukan pemisahan biomassa dari medium cair dengan cara disaring. Superatan masing-masing isolat dipartisi dengan etil asetat dan dievaporasi. Setiap ekstrak etilasetat diuji kandungan metabolit sekundernya dengan penampakan pola noda pada plat KLT. Isolat jamur yang terseleksi dilanjutkan ke tahap identifikasi dan isolasi metabolit sekunder yang bersifat antimalaria.

Setelah diperoleh isolat jamur potensial maka dilanjutkan pada tahap optimasi pertumbuhan setiap isolat mikroba endofitik terseleksi untuk mendapatkan kultur yang optimal (Chandrashekhara *et al.*, 2007). Isolat jamur potensial dikultivasi pada kondisi yang optimum sehingga mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang maksimum, dan dipanen berdasarkan fase pertumbuhan yang diperoleh. Tahap selanjutnya adalah isolasi senyawa metabolit sekunder dari mikroba endofitik terseleksi (Hundley, 2005).

Isolat yang berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder, dikultur kembali dalam 2 l medium cair PDB dan diinkubasi hingga kondisi optimum untuk

menghasilkan senyawa bioaktif. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan antara biomassa dan filtratnya. Filtrat yang mengandung metabolit sekunder aktif difraksinasi cair-cair (partisi) dengan *n*-heksan dan etil asetat. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak kental *n*-heksan dan etil asetat. Setiap fraksi dianalisa dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan pelarut dengan berbagai eluen, selanjutnya dikromatografi kolom gravitasi (KK) menggunakan fasa diam Si gel dengan perbandingan 1^o: 30. Sampel yang sudah disiapkan secara preabsorpsi, dimasukkan ke dalam kolom kromatografi secara merata dan dielusi menggunakan eluen dengan kepolaran meningkat. Eluat ditampung dalam botol, dan masing-masing dikromatografi lapis tipis untuk dikelompokkan ke dalam fraksi kolom. Masing-masing fraksi kolom diuapkan dan selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan dengan teknik kromatografi dan rekristalisasi hingga didapatkan senyawa murni. Penentuan struktur molekulnya dilakukan dengan metode spektroskopi yang meliputi UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMQC, dan HMBC.

Terhadap senyawa murni hasil isolasi diuji aktivitas antimalarianya yang dikerjakan di Laboratorium Parasitologi Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Uji aktivitas antimalaria dilakukan secara *in vitro* terhadap *plasmodium falciparum* 3D7. Uji aktivitas ini menggunakan metoda modifikasi dari teknik mikro yang disempurnakan oleh WHO (1985). Hambatan pertumbuhan 50% (IC_{50}) ditentukan menggunakan analisis probit dengan program SPSS 11,5 dengan membuat kurva hubungan antara persen penghambatan dengan log dosis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Batang dan daun sambiloto (masing-masing 10 g) telah diisolasi sembilan jamur yaitu SD1-SD9 (Gambar 2). Masing-masing isolat jamur yang diperoleh telah dikultivasi dalam 1,5 l medium cair PDB selama empat minggu dan kemudian disaring. Terhadap masing-masing ekstrak etil asetat telah dilihat pola nodanya pada plat KLT. Pola noda ini mengindikasikan adanya metabolit sekunder tertentu yang dihasilkan oleh mikroba, sebagai penampak noda adalah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Noda ungu pada isolat jamur SD2 menunjukkan bahwa jamur tersebut

berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang tergolong senyawa aromatik atau turunan fenolat (Gambar 3). Selanjutnya terhadap isolat jamur tersebut telah dilakukan tahap optimasi pertumbuhan untuk mendapatkan kultur yang optimal. Dari data yang dihasilkan dapat diketahui bahwa waktu yang tepat untuk mengisolasi metabolit sekunder yaitu pada hari ke-30 yang berada diakhir pertumbuhan yang terlihat pada kurva merupakan fase stasioner dimana pada fase tersebut pertumbuhan jamur akan terjadi keseimbangan antara pertumbuhan dan kematian sehingga pada fase tersebut juga akan dihasilkan metabolit sekunder yang maksimal. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa jamur SD2 adalah *Aspergillus flavus*.

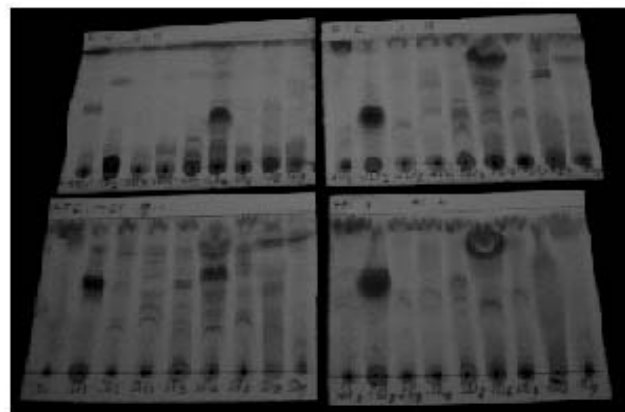
Jamur *Aspergillus flavus* kembali dikultivasi dalam 2 l medium PDB selama 30 hari, supernatannya diekstraksi dengan cara partisi masing-masing menggunakan pelarut *n*-heksan dan etilasetat, yang dilanjutkan dengan evaporasi. Dari hasil evaporasi diperoleh 1,3 g ekstrak *n*-heksan dan 2,7 g ekstrak etilasetat. Ekstrak heksan tidak mengindikasikan adanya metabolit sekunder yang potensial pada plat KLT, sedangkan ekstrak etilasetat menunjukkan adanya satu noda ungu yang dominan diantara tiga noda yang ada. Dengan demikian ekstrak etilasetat dilanjutkan ke tahap pemisahan.

Ekstrak etilasetat (2,7 g) dipreabsorpsi dan dikromatografi kolom gravitasi menggunakan eluen *n*-heksan-etilasetat secara bergradien dan ditampung dalam 75 vial masing-masing berisi 10 ml. Setelah di KLT maka dikelompokkan menjadi empat fraksi kolom (F1-F4). Fraksi F3 menunjukkan noda potensial

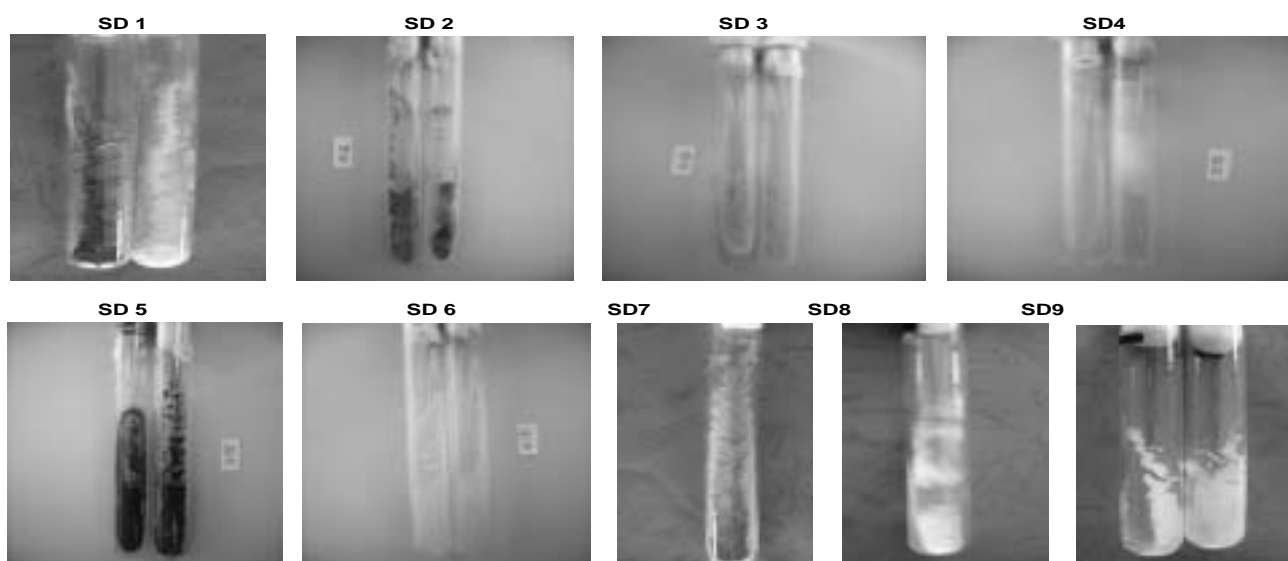
sehingga direkromatografi kolom menggunakan eluen *n*-heksan-etilasetat (4:6 dan 3:7) hingga diperoleh 23 vial dan di KLT. Hasilnya dapat dikelompokkan ke dalam empat fraksi kolom yaitu F3.1-F3.4. Fraksi F3.3 dengan noda potensial dimurnikan dengan rekromatografi kolom hingga diperoleh senyawa murni berupa kristal jarum berwarna putih sebanyak 7 mg. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi positif alkaloid.

Spektrum UV (1 mg/10 ml metanol) menunjukkan serapan maksimum pada λ_{maks} : 217 dan 269 nm. Penambahan pereaksi geser NaOH menyebabkan terjadinya geseran batokromik masing-masing ke 227 dan 312 nm yang mengindikasikan adanya gugus OH pada cincin aromatik.

Spektrum IR menunjukkan adanya regang untuk gugus O-H ($\nu = 3269,1 \text{ cm}^{-1}$), regang C-H aromatik ($\nu = 3097,5 - 3070,5 \text{ cm}^{-1}$), regang -C-H alifatik ($\nu = 2923,9 - 2853,5 \text{ cm}^{-1}$) regang C=O ($\nu = 1660,6 \text{ cm}^{-1}$), regang



Gambar 3. Pola noda senyawa metabolit sekunder pada plat KLT yang dihasilkan oleh jamur endofitik dari tanaman sambiloto (SD1-SD9)



Gambar 2. Foto sembilan jamur endofitik yang diisolasi dari tanaman sambiloto

C=C terkonyugasi ($\nu = 1629,7 - 1581,5 \text{ cm}^{-1}$), dan ulur C-N ($\nu = 1141,8 \text{ cm}^{-1}$).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Tabel 1) menunjukkan adanya empat sinyal singlet, yaitu dua sinyal untuk proton aromatik masing-masing pada δ_{H} 6,50 ppm (1H, s) dan 7,96 ppm (1H, s), dan dua sinyal untuk proton metilen masing-masing pada δ_{H} 2,56 ppm (2H, s) dan 4,41 ppm (2H, s). Spektrum $^{13}\text{C NMR}$ menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki 8 buah atom karbon. Atom karbon tersebut terdiri dari dua karbon metin aromatik masing-masing pada δ_{C} 110,8 dan 141,1 ppm, empat karbon aromatik kuarterner yaitu pada δ_{C} 147,5; 170,6; 176,3; 176,9 ppm, dan dua karbon metilen masing-masing pada δ_{C} 29,9 dan 61,2 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa struktur molekul senyawa hasil isolasi terdiri dari cincin piridin yang memiliki dua proton aromatik yang tidak saling membelah (posisi para), dan tersubstitusi satu gugus hidroksil, serta memiliki cincin kedua yang terikat pada dua atom karbon cincin piridin. Identifikasi sinyal-sinyal karbon dan proton lebih lanjut ditetapkan berdasarkan spektrum NMR 2D.

Spektrum HMBC menunjukkan bahwa proton aromatik pertama yaitu pada δ_{H} 7,96 ppm (H-5) berkorelasi dua ikatan dengan karbon pada δ_{C} 170,6 ppm (C-10) dan berkorelasi tiga ikatan dengan karbon pada δ_{C} 147,5 (C-9) dan 176,3 ppm (C-4). Korelasi ini mengindikasikan bahwa proton aromatik pertama yang terikat pada cincin piridin bertetangga melalui tiga ikatan dengan karbon karbonil milik cincin ke-dua. Juga proton ini bertetangga dua ikatan dan tiga ikatan dengan karbon kuarterner sp^2 tempat terikatnya cincin ke-dua.

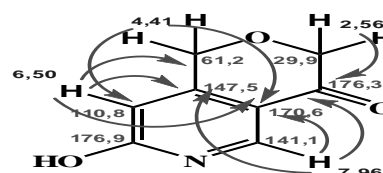
Selanjutnya, spektrum HMBC menunjukkan bahwa proton aromatik kedua yaitu pada δ_{H} 6,50 ppm (H-8) berkorelasi dua ikatan dengan karbon pada δ_{C} 147,5 ppm (C-9) dan berkorelasi tiga ikatan dengan karbon pada δ_{C} 61,2 (C-1) dan 170,6 ppm (C-10). Hal ini menunjukkan bahwa proton aromatik kedua berada pada posisi para dengan proton aromatik pertama karena masing-masing tidak saling mengkapling

(multiplisitas singlet) dan sama-sama berkorelasi dengan dua karbon yang diapitnya yaitu C-9 dan C-10. selain itu proton ini juga berkorelasi tiga ikatan dengan karbon metilen sp^3 milik cincin ke-2.

Dari spektrum HMBC tersebut terlihat pula bahwa cincin ke-dua memiliki dua jenis proton metilen sp^3 yang muncul singlet masing-masing pada δ_{H} 4,41 (H-1) dan 2,56 ppm (H-3). Sinyal proton metilen H-1 berkorelasi tiga ikatan dengan karbon pada δ_{C} 110,8 (C-8) dan 170,6 ppm (C-10). Demikian pula dengan proton metilen H-3 berkorelasi dua ikatan dengan karbon pada δ_{C} 176,3 ppm (C-4). Spektrum ini mengindikasikan bahwa cincin kedua memiliki dua gugus metilen yang tidak saling mengkapling, masing masing yaitu H-3 terletak dua ikatan dari gugus karbonil dan H-1 terletak tiga ikatan dengan karbon aromatik C-8 dan tiga ikatan pula dengan karbon aromatik C-10. dengan demikian diketahui bahwa cincin ke-dua adalah cincin piran. Cincin ini memiliki dua karbon metilen yang mengapit atom oksigen, satu karbon karbonil, dan dua karbon pada sisi piridin.

Berdasarkan data spektroskopi tersebut maka dapat diketahui bahwa senyawa hasil isolasi adalah alkaloid turunan piridin yaitu 7-hidroksipiranopiridin-4-on dengan rumus molekul $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_2$ (BM 149). Korelasi HMBC senyawa tersebut tertera pada Gambar 4. Berdasarkan penelusuran literatur belum ditemukan senyawa ini, baik dari tumbuh-tumbuhan maupun dari mikroorganisme.

Senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on diuji aktivitas antimalariannya secara in vitro terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7. Efektifitas hambatan senyawa antimalaria ditentukan dengan menghitung nilai IC_{50} . Nilai pertumbuhan parasit, persen penghambatan



Gambar 3. Korelasi HMBC senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on

Tabel 1. Data NMR senyawa hasil isolasi ($^1\text{H-500 MHz}$; $^{13}\text{C-125 MHz}$, CD_3OD)

Posisi C	δ_{C} ppm	δ_{H} ppm (ΣH , multiplisitas)	HMBC
1	61,2	4,41 (2H, s)	110,8 (C-8); 170,6 (C-10)
3	29,9	2,56 (2H, s)	176,3 (C-4)
4	176,3		
5	141,1	7,96 (1H, s)	147,5 (C-9); 170,6 (C-10); 176,3 (C-4)
7	176,9		
8	110,8	6,50 (1H, s)	61,2 (C-1); 147,5 (C-9); 170,6 (C-10)
9	147,5		
10	170,6		

senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7, dan nilai IC_{50} yang dihitung dengan analisis probit program SPSS 11,5 tertera pada Tabel 2.

Obat (senyawa murni) prospektif untuk antimalaria jika nilai $IC_{50} < 5 \mu\text{M}$ pada uji antimalaria *in vitro* (Fidock et al., 2004). Juga senyawa murni disebut aktif antimalaria jika nilai IC_{50} d" 7,71 μM (Elfita et al., 2009), sedangkan ekstrak dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$ dan fraksi dengan nilai $IC_{50} < 25 \mu\text{g/ml}$ efektif sebagai antimalaria (Kohler, 2002). Dengan demikian terlihat bahwa senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on sangat aktif sebagai antimalaria karena memiliki nilai IC_{50} 0,03 $\mu\text{g/ml}$ atau 0,201 μM . Namun jika dibandingkan dengan klorokuin sebagai kontrol positif yang memiliki nilai $IC_{50} = 0,0063 \mu\text{M}$ (Widyawaruyanti, 2007), maka senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on mempunyai aktivitas yang lebih rendah.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah bahwa senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas tertentu seperti antimalaria dapat dihasilkan oleh mikroba endofitik yang hidup pada tumbuhan inang yang secara etnobotani telah digunakan sebagai obat malaria. Dari jamur endofitik tumbuhan sambiloto yang diidentifikasi sebagai *Aspergillus flavus* telah diisolasi senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid turunan piridin yaitu 7-hidroksipiranopiridin-4-on. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antimalaria

yang tinggi terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7, dengan nilai IC_{50} 0,201 μM .

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana untuk penelitian ini melalui Hibah Strategis Nasional dari dana DIPA No. 0200.0/023-04.2/IV/2009 Tgl 31 Desember 2008 dan dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Panel Hibah Stranas Tahun Anggaran 2009 No. 078/H9.2.1/PL/2009. Selanjutnya ucapan terima kasih kepada staf Laboratorium Kimia LIPI Serpong yang telah membantu pengukuran spektrum NMR ini dan kepada Dr. Aty Widyawaruyanti, MSi., Apt dari Departemen Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Unair yang telah membantu uji aktivitas antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Acang, N. 2002. Kasus Malaria Resisten Klorokuin. *Majalah Kedokteran Indonesia* **52(11)**: 383-389.
- Chandrashekhara., Niranjanraj, S., Deepak, S.A., Amruthesh, K.N., Shetty, N.P. & Shetty, H.S. 2007. Endophytic Bacteria from Different Plant Origin Enhance Growth and Induce Downy Mildew Resistance in Pearl Millet. *Asian Journal of Plant Pathology* **1(1)**: 1-11.
- Elfita, E., Muharni, M., Madyawati, L., Darwati, D., Ari, W., Supriyatna, S., Bahti, H.H., Dachriyanus, D., Cos, P., Maes, L., Foubert, K., Apers, S. & Pieters, L. 2009. Antiplasmodial and Other Constituents from Four Indonesian *Garcinia* spp. *Phytochemistry* **70**: 907-912.
- Fidock, D.A., Rosenthal, P.J., Croft, S.L., Brun, R. & Nwaka, S. 2004. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. *Nature Reviews Drug Discovery* **3**: 509-520.

Tabel 2. Persen pertumbuhan parasit dan persen penghambatan senyawa 7-hidroksipiranopiridin-4-on terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7, serta nilai IC_{50} yang dihitung dengan analisis probit program SPSS 11,5

Konsentrasi uji ($\mu\text{g/ml}$)	R	% Parasitemia		% Pertumbuhan	% Hambatan	% Hambatan rata-rata	IC_{50}
		0 jam	48 jam				
Kontrol (-)	1	1,15	5,60	4,45	-		0,03 $\mu\text{g/ml}$ = 0,201 μM
	2	1,15	5,48	4,33	-		
10	1	1,15	0,31	0,00	100,00	100,00	
	2	1,15	0,15	0,00	100,00		
1	1	1,15	2,56	1,41	67,88	64,01	
	2	1,15	2,90	1,75	60,14		
0,1	1	1,15	2,90	1,75	60,14	56,38	
	2	1,15	3,23	2,08	52,62		
0,01	1	1,15	3,41	2,26	48,52	49,54	
	2	1,15	3,32	2,17	50,57		
0,001	1	1,15	4,31	3,16	28,02	32,69	
	2	1,15	3,90	2,75	37,36		

- Gunawan, S.** 2000. Epidemio Malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganan. *Penerbit Buku Kedokteran EGC*, Jakarta 1-15.
- Heyne, K.** 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. *Terjemahan Badan Litbang Kehutanan*, Jilid 3. Jakarta.
- Hundley, N.J.** 2005. Struktur Elucidation of Bioactive Compounds Isolated from Endophytes of *Alstonia Scholaris* and *Acmena Graveolens*. *Thesis* Department of Chemistry and Biochemistry, Brigham Young University.
- Hung, P.Q. & Annapurna, K.** 2004. Isolation and Characterization of Endophytic Bacterial in Soybean (*Glycine* sp.). *Omonrice* **12**: 92-101.
- Kohler, I.** 2002. In Vitro Antiplasmodial Investigation of Medicinal Plants from El Savador. *Z. Naturforsch* **57c**: 277-278.
- Lumyong, S., Norkaew, N., Ponpathachart, D., Lumyong, P. & Tomita, F.** 2001. Isolation, Optimisation, and Characterization of Xylanase from Endophytic Fungi. Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources. *The Tropic* **15**.
- Misaghi, I.J. & Donndelinger, C.R.** 1990. Endophytic Bacteria in Symptom-Free Cotton Plants. *The American Phytopathological Society* **80(9)**: 808-811.
- Najib, N.A.R., Furuta, T., Kojima, S., Takane, K. & Mustafa, A.M.** 1999. Antimalarial activity of extracts of Malaysian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology* **64(3)**: 249-54.
- Radji, M.** 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* **2(3)**: 113-126.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U. & Harper, J.** 2004. Natural Products from Endophytic Mikroorganisms. *Journal Nat. Prod* **67**: 257-268.
- Tan, R.X. & Zou, W.X.** 2001. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat Prod. Rep* **18**: 448-459.
- WHO.** 1985. Special programe for research and training in tropical disease research. TDR seventh program report malaria (2). WHO Spec. *Programe for Trop. Disease* 2-13.
- Widyawaruyanti, A., Subehan., Kalauni, S.K., Awale, S., Nindatu, M., Zaini, N.C., Sjafruddin, D., Asih, P.B.S, Tezuka, Y. & Kadota, S.** 2007. New prenylated flavones from *Artocarpus champeden* and their antimalarial activity in vitro. *Journal Nat Med.* **61**: 410-413.
- Widyawaruyanti, A., & Kusumawati, I.** 2000. Uji Anti Malaria Herba Sambilata Terhadap Plasmodium falciparum Secara In vitro. Di dalam: *Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia*. Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi. Jakarta.
- Wijayakusuma, H., Dalimartha, S., Wirian, A.S., Yaputra, T. & Wibowo, B.** 1994. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Jilid 2, Pustaka Kartini. Jakarta.