

ISSN: 1979 - 6358

JURNAL KEDOKTERAN DAN KESEHATAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER UNIVERSITAS PATTIMURA

MOLLUCA MEDICA

Penanggung Jawab

Dr. Jacob Manuputty, MPH
(Ketua Program Pendidikan Dokter)

Ketua Redaksi

DR. Maria Nindatu, M.Kes

Dewan Editor

Prof. Lyle E. Craker, Ph.D	(University of Massachusetts, USA)
Prof. Johnson Stanslas, M.Sc, Ph.D	(University Putra Malaysia, Serdang)
Prof. Dr. Sultana M. Farazs, M.Sc, Ph.D	(Universitas Diponegoro, Semarang)
Prof. DR. Dr. Suharyo H, Sp.PD-KPTI	(Universitas Diponegoro, Semarang)
Prof. DR. Paul Tahalele, dr, Sp.BTKU	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. DR. N. M. Rehata, dr, Sp.An.Kic	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. Mulyahadi Ali	(Universitas Brawijaya, Malang)
Prof. DR. Th. Pentury, M.Si	(Universitas Pattimura, Ambon)
Prof. DR. Sri Subekti, drh, DEA	(Universitas Airlangga, Surabaya)
Prof. DR. T. G. Ratumanan, M.Pd	(Universitas Pattimura, Ambon)
DR. Subagyo Yotoprano, DAP&E	(Universitas Airlangga, Surabaya)
DR. F. Leiwakabessy, M.Pd	(Universitas Pattimura, Ambon)
Dr. Titi Savitri P, MA, M.Med.Ed, Ph.D	(Universitas Gajah Mada, Yogyakarta)
Dr. Budu, Ph.D	(Universitas Hasanudin, Makassar)
Dr. Bertha Jean Que, Sp.S, M.Kes	(Universitas Pattimura, Ambon)
Dr. Reffendi Hasanusi, Sp.THT	(Universitas Pattimura, Ambon)

Sekretaris Redaksi

Theopilus Wilhelmus W, M.Kes

Alamat Redaksi

Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Pattimura
Kampus Universitas Pattimura Jl. Dr. Tamaela Ambon 97112
Telp. 0911-344982, Fax. 0911-344982, HP. 085243082128; 085231048390
E-mail: molluca_medica@yahoo.co.id

AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK METANOL KULIT BATANG CEMPEDAK TERHADAP *PLASMODIUM FALCIPARUM* SENSITIF DAN RESISTEN-KLOROKUIN

Maximus M. Taek

Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Katholik Widya Mandira
e-mail: maxi_taek@yahoo.com

Diterima 10 Agustus 2011/Disetujui 01 September 2011

Abstract

Methanol extract of Cempedak (*Artocarpus champeden*) stem bark was screened for its antimalarial activity against chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* according to an in-vitro testing procedure. The test was done in-vitro with non-synchronized cultures of 3D7 (chloroquine-sensitive) and G-2300 (chloroquine-resistant) strains of *P. falciparum* for 48 hours. The IC₅₀ values found for the methanol extract were 4.230 µg/mL toward 3D7 strain, and 16.580 µg/mL toward G-2300 strain. At the same test condition, chloroquine has the IC₅₀ of 0.003 µg/mL toward 3D7 strain.

Key words: *A. champeden*, antimalarial activity, in-vitro, *P. falciparum*, chloroquine-sensitive and resistant.

Abstrak

Ekstrak metanol cempedak (*Artocarpus champeden*) kulit batang diputar untuk aktivitas antimalaria terhadap klorokuin sensitif dan chloroquine-resistant Plasmodium falciparum sesuai prosedur pengujian in-vitro. Pengujian dilakukan secara in-vitro dengan dengan non-disinkronisasi 3D7 (chloroquine-sensitif) dan G-2300 (chloroquine-resistant) strain *P. falciparum* selama 48 jam. Nilai IC₅₀ ditemukan ekstrak metanol adalah 4,230 mg / mL terhadap strain 3D7, dan 16,580 mg/mL terhadap strain G-2300. Pada kondisi pengujian yang sama, klorokuin memiliki IC₅₀ 0,003 mg/mL terhadap strain 3D7.

Kata kunci: *A. champeden*, aktivitas antimalaria, in-vitro, *P. falciparum*, chloroquine-sensitif dan resisten.

PENDAHULUAN

Malaria adalah salah satu contoh penyakit klasik yang sangat mempengaruhi produktivitas individu, keluarga dan masyarakat. Penyakit ini sangat umum di negara-negara miskin dan kurang berkembang. Negara-negara di Afrika adalah wilayah penyebaran malaria yang paling tinggi, diikuti oleh Asia Tenggara, Cina dan India (Saxena, *et al.*, 2003). Setiap tahun, penyakit malaria menjangkiti 300-

500 juta orang, dan menyebabkan kematian 1,5-2,7 juta orang di antaranya. Diperkirakan sekitar 40-50% penduduk dunia terpapar penyakit ini, dengan resiko kematian terbesar terjadi pada anak-anak yang berusia di bawah 5 tahun (Saxena, *et al.*, 2003; Murningsih, *et al.*, 2005).

Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit sel tunggal yang tergolong dalam protozoa dari marga *Plasmodium*, yang mempunyai habitat di

dalam sel darah merah dan sel hati. Parasit malaria ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* spp. betina. Ada empat spesies *Plasmodium* yang menyebabkan malaria pada manusia yaitu *P. malariae*, *P. vivax*, *P. falciparum* dan *P. ovale*. Di antara keempat spesies tersebut, *P. falciparum* yang paling berbahaya karena menyebabkan infeksi akut dan berat bahkan berakibat fatal (Sherman, 1998) karena kemampuannya menyerang eritrosit muda dan tua, dan menyebabkan resiko kematian yang tinggi pada individu non-imun (Schlesinger, 1988).

Saat ini, *P. falciparum* telah menjadi resisten terhadap klorokuin. Walaupun sebagai gantinya telah ditemukan artemisinin (dari *Artemisia annua*) dan turunan-turunan semi-sintesisnya, namun karena harganya mahal dan masalah resistensi ini masih belum dapat dituntaskan, maka usaha untuk mencari senyawa-senyawa obat antimalaria dari tumbuhan lain tetap gencar dilakukan. Banyak upaya pencarian ini menggunakan pendekatan etnofarmakologi dan isolasi yang dituntun *bioassay* (Schwikkard and van Heerden, 2002; Saxena, *et al.*, 2003).

Masyarakat tradisional Indonesia sejak dahulu telah mengenal dan memanfaatkan beberapa tumbuhan sebagai bahan obat antimalaria. Salah satunya adalah cempedak. Tumbuhan cempedak banyak ditemukan di Indonesia dan digunakan oleh sebagian masyarakat sebagai bahan pangan, bahan bangunan dan bahan ramuan obat tradisional. Dalam pengobatan tradisional, kulit batang cempedak antara lain digunakan sebagai obat antimalaria, disentri dan penyakit kulit (Heyne, 1987; Iwasaki and Ogata, 1995).

Penelitian terdahulu mengenai aktivitas antimalaria dari tumbuhan cempedak yang dilakukan oleh Utomo (2003) dan Hidayati (2004), menunjukkan bahwa ekstrak metanol total (serbuk simplisia langsung diekstraksi dengan metanol) dan fraksi kloroform dari kulit batang cempedak secara *in-vivo* dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria pada mencit yang terinfeksi

P. berghei. Ekstrak metanol total menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan parasit dengan ED₅₀ sebesar 6,95419 mg/kg berat badan mencit (Utomo, 2003), dan fraksi kloroform dengan ED₅₀ sebesar 0,36479 mg/kg berat badan mencit (Hidayati, 2004). Oleh karena itu diduga bahwa tumbuhan cempedak juga mengandung senyawa aktif antimalaria, yang diharapkan dapat dikembangkan menjadi obat antimalaria.

Dalam penelitian ini, telah dilakukan pengujian aktivitas antimalaria dari ekstrak metanol kulit batang cempedak yang diperoleh melalui teknik ekstraksi suksesif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak metanol dalam menghambat pertumbuhan parasit malaria baik yang masih sensitif maupun yang sudah resisten terhadap klorokuin sebagai obat antimalaria rujukan utama.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Simplisia: kulit batang cempedak diperoleh dari Desa Makbalim, Kecamatan Salawati, Kabupaten Sorong, Provinsi Irian Jaya Barat; dan diidentifikasi di Balai Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur.

Plasmodium: *P. falciparum* strain 3D7 (sensitif klorokuin) dan strain G-2300 (resisten klorokuin) diperoleh dari Lembaga Biomolekuler Eijkman, Jakarta, dan Tropical Diseases Research Center Universitas Airlangga Surabaya. *Plasmodium* dibiakkan di dalam *microplates* menurut metode yang dikembangkan oleh Trager dan Jensen (1976). Pemiakan dilakukan menggunakan sel darah merah manusia golongan O dengan hematokrit 5% yang disuspensikan ke dalam medium RPMI 1640, dan ditambahkan serum darah golongan O yang diinaktivasi. Biakan kemudian diinkubasi di dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37°C, dan setiap hari medium diganti, sampai biakan menunjukkan parasitemia mencapai 1-5%,

yang diperiksa melalui pembuatan hapusan darah tipis.

Bahan pembanding: sebagai kontrol positif digunakan klorokuin difosfat, dan kontrol negatif adalah dimetilsulfoksida (DMSO).

Ekstraksi kulit batang cempedak: serbuk kering kulit batang cempedak dimaserasi secara suksesif dengan n-heksan, diklorometana dan metanol, masing-masing selama 3 hari, di mana setiap hari disaring dan di-remaserasi menggunakan pelarut *fresh*. Ekstrak metanol lalu dikeringkan dalam penguap putar dengan penurunan tekanan sampai ekstrak menjadi kering. Ekstrak metanol selanjutnya diuji aktivitas antimalariannya secara *in-vitro* terhadap kedua strain *P. falciparum*.

Uji aktivitas antimalaria: ekstrak metanol dilarutkan dengan DMSO dan disaring secara steril dengan *membran filter* 0,22 µm. Larutan ini kemudian dimasukkan ke dalam *microwell* yang berisi suspensi *P. falciparum* dengan persen parasitemia 1%, kemudian diencerkan secara seri dengan medium sehingga diperoleh konsentrasi-konsentrasi akhir bahan uji di dalam *microwell* sebagai berikut: 100; 10; 1,0; 0,1

dan 0,01 µg/mL. Dalam masing-masing *microwell* ini mengandung hematokrit 4%. Sebagai kontrol negatif digunakan DMSO yang diencerkan dengan cara yang sama sehingga diperoleh konsentrasi DMSO akhir yang tidak lebih dari 0,5%. Kontrol positif klorokuin difosfat juga dipersiapkan dengan cara yang sama, dan dibuat dalam konsentrasi-konsentrasi 10; 1,0; 0,1; 0,01 dan 0,001 µg/mL. Campuran bahan uji dan suspensi parasit ini kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C selama 48 jam.

Setelah diinkubasi selama 48 jam, dibuat hapusan darah tipis di atas *object glass*. Hapusan darah ini kemudian dikeringkan, difiksasi dengan metanol, diwarnai dengan pewarna Giemsa, dan dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* per total eritrosit yang dihitung di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000 kali. Penghitungan dilakukan terhadap 5000-an eritrosit.

Dari data jumlah eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* ini selanjutnya dihitung persen parasitemia dan persen penghambatan zat uji terhadap pertumbuhan *P. falciparum*, dengan rumus-rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\text{Jumlah eritrosit yang terinfeksi}}{\text{Jumlah eritrosit}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan} = 100 - \left(\frac{Xp}{Xk} \times 100\% \right)$$

Dimana:

Xp = parasitemia perlakuan = % parasitemia perlakuan (48 jam – 0 jam),

Xk = parasitemia kontrol = % parasitemia kontrol (48 jam – 0 jam),

[(Xp/Xk) x 100 %] = persen pertumbuhan *Plasmodium*.

Berdasarkan data penghambatan dari setiap konsentrasi ekstrak, lalu dihitung harga IC₅₀ (konsentrasi ekstrak yang menghambat pertumbuhan *Plasmodium*

sebesar 50%) dengan Analisis Probit menggunakan program komputasi SPSS for Windows versi 15.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian aktivitas antimalaria dari ekstrak metanol dan klorokuin difosfat, dilakukan secara *in-vitro* terhadap kultur *P.*

falciparum strain 3D7 dan G-2300 yang tidak disinkronisasi terlebih dahulu. Pengujian dilakukan secara *duplo*, dengan lama inkubasi 48 jam. Setelah 48 jam, kultur

diambil, dibuat hapusan darah tipis di atas *object glass*, difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan Giemsa, lalu dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium*. Dari data yang diperoleh selanjutnya dihitung persen parasitemia

persen penghambatan bahan uji (ekstrak metanol berbagai konsentrasi).

Hasil perhitungan berupa persen penghambatan berbagai konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan *P. falciparum* strain 3D7 dan G-2300 seperti terlihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Persen Penghambatan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Metanol dan Klorokuin terhadap Pertumbuhan *P. falciparum* Selama Masa Inkubasi 48 jam.

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persen Penghambatan Rata-rata terhadap setiap strain <i>P. falciparum</i>		
	Ekstrak Metanol		Klorokuin
	3D7	G-2300	3D7
100,000	100	69	-
10,000	41	36	100
1,000	39	29	83
0,100	3	21	70
0,010	0	0	55
0,001	-	-	49

Keterangan: –(tidak dilakukan pengujian untuk konsentrasi tersebut)

Berdasarkan data persen penghambatan dalam Tabel 1, kemudian dihitung nilai IC_{50} dari ekstrak metanol terhadap masing-masing strain *Plasmodium* tersebut, dan hasilnya seperti tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Nilai IC_{50} Ekstrak Metanol dan Klorokuin terhadap *P. falciparum* selama Masa Inkubasi 48 jam.

Bahan Uji	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	3D7	G-2300
Ekstrak Metanol	4,230	16,580
Klorokuin	0,003	-

Menurut Rasanaivo, *et al.* (1992) dalam Ouattara, *et al.* (2006), ekstrak yang memiliki aktivitas antimalaria dengan nilai IC_{50} yang lebih kecil daripada $5 \mu\text{g/mL}$ dikatakan sangat aktif; $5\text{--}50 \mu\text{g/mL}$ termasuk aktif; $50\text{--}100 \mu\text{g/mL}$ termasuk kurang aktif (aktivitas lemah); dan IC_{50} lebih besar daripada $100 \mu\text{g/mL}$ dikatakan tidak aktif sebagai antimalaria. Merujuk pada batasan yang diberikan ini, tampak

bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas yang kuat (termasuk sangat aktif) sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum* sensitif klorokuin (strain 3D7), dan aktif terhadap *P. falciparum* yang sudah resisten terhadap klorokuin strain G-2300).

Dibandingkan dengan klorokuin, aktivitas ekstrak metanol ini masih jauh lebih rendah, kira-kira $1/1.410$ kali aktivitas klorokuin terhadap *P. falciparum* sensitif klorokuin. Namun, sebagaimana diketahui, klorokuin saat ini sudah tidak efektif lagi sebagai obat antimalaria, karena terjadinya resistensi *Plasmodium* terhadap obat tersebut. Oleh karena itu, sangatlah memungkinkan bahwa senyawa-senyawa lain yang aktif sebagai antimalaria lalu memiliki prospek untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria pengganti klorokuin. Senyawa-senyawa dengan kerangka struktur molekul dan gugus-gugus fungsional yang berbeda dari klorokuin, kemungkinan besar memiliki mekanisme aksi yang berbeda dengan mekanisme aksi klorokuin dalam hal membunuh atau menghambat pertumbuhan *Plasmodium*; dan dengan demikian diharapkan bahwa

senyawa-senyawa tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan *Plasmodium* yang sudah resisten terhadap klorokuin.

Maximus (2009) menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang cempedak ini mengandung senyawa-senyawa karbonil fenolik, antara lain flavonoid. Senyawa-senyawa fenolik diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis. Merujuk pada hasil-hasil penelitian yang dirangkum kembali oleh Rowe, *et al.* (1989), Schwikkard dan van Heerden (2002), dan Saxena, *et al.* (2003), terlihat bahwa banyak senyawa yang menunjukkan aktivitas sebagai antimalaria memiliki satu atau lebih gugus fenol di dalam struktur senyawanya.

Senyawa-senyawa fenolik tersebut dapat berupa tannin, flavonoid, xanton, lignan, stilben, kumarin, kuinon, dan sebagainya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak metanol kulit batang cempedak secara *in-vitro* menunjukkan daya hambat yang tergolong kuat (sangat aktif) sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum* sensitif klorokuin, dan aktif (moderat) terhadap *P. falciparum* resisten klorokuin. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji aktivitas antimalariannya pada sistem *in-vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Heyne, K., 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, jilid II. Yayasan Sarana Warna Jaya. Jakarta, hal. 669-670.
- Hidayati, A.R., 2003. Uji Aktivitas Antimalaria Fraksi Kloroform Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden*) terhadap *Plasmodium berghei in-vivo*. *Skripsi*, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.
- Iwasaki, T., and Ogata Y., 1995. Medicinal Herbs Index in Indonesia, 2nd edition. PT. Eisai Indonesia.
- Maximus, MT., 2009. Aktivitas Antimalaria Isolat Flavonoid dari Kulit Batang *Artocarpus champeden* terhadap *Plasmodium falciparum*. *J. Nat. Sains*, 1(1), Juli, hal. 1-4.
- Murningsih, T., *et al.*, 2005. Evaluation of the Inhibitory Activities of the Extracts of Indonesian Traditional Medicinal Plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *J. Vet. Med. Sci.* 67(8), pp. 829-831
- Ouattara, Y., S. Sanon, Y. Traore, V. Mahiou, N. Azas, and L. Sawadogo, 2006. Antimalarial Activity of *Swartzia madagascariensis* Desv. (Leguminosae), *Combretum glutinosum* Guill. & Perr. (Combretaceae) and *Tinospora bakis* Miers. (Menispermaceae), Burkina Faso Medicinal Plants. *Afr. J. Trad. CAM*, 3 (1), pp. 75-81.
- Rowe, J.W. (ed.), 1989. *Natural Products of Woody Plants*, vol.II. Berlin: Springer-Verlag, p. 1077.
- Saxena, S., Pant, N., Jain, D. C., and Bakhuni, R. S., 2003. Antimalarial Agents from Plant Sources. *Current Science*, vol. 85, no. 9, November, pp.1314-1329.
- Schlesinger, P.H., *et al.*, 1988. Antimalarial Agents: Mechanisms of Action. *J. Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. June, pp.793-798.
- Schwikkard, S., and F.van Heerden, 2002. Antimalarial Activity of Plant Metabolites. *Natural Products Report*, 19, September: pp. 675-692.
- Utomo, N.D.W., 2003. Aktivitas Antimalaria Ekstrak Methanol Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.) terhadap *Plasmodium berghei in-vivo*. *Skripsi*, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya.