

ISSN 2338-7130

VOL. 2 NO. 1. APRIL 2014

Planta **H**usada

JURNAL PENELITIAN TANAMAN OBAT INDONESIA



Transipora eropa (U) Adnan & H. J. & Thoms
MENTIPERSI ACEH
Rendawati

PENERBIT :
DEPARTEMEN FARMAKOGNOSI DAN FITOKIMIA
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

PLANTA HUSADA

Planta Husada merupakan sebuah jurnal online yang mempublikasikan hasil penelitian di bidang tumbuhan obat mencakup aspek Farmakognosi, Etnobotani, Etnofarmakologi, Fitokimia, dan Fitoterapi. Planta Husada terbit dua kali setahun secara berkala. Artikel yang dipublikasikan adalah artikel yang telah diseleksi dan telah direview oleh Dewan Redaksi Planta Husada.

Dewan Redaksi

Ketua: Prof. Dr. Sukardiman, Apt., MS.
Anggota: Dr. Aty Widyawaruyanti, Apt., MSi.
Dr. Idha Kusumawati, Apt. MSi.
Drs. Herra Studiawan, MS., Apt.

Redaksi Pelaksana: Drs. Abdul Rahman, Apt., MSi
Lusiana Arifianti, S. Farm, M. Farm., Apt
Suparto

Alamat Redaksi: Departemen Farmakognosi dan Fitokimia
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Jl. Dharmawangsa Dalam, Telp. (031)5033710 Fax. (031)5020514
Surabaya-60286
e-mail: rahman.ffunair@gmail.com

DAFTAR ISI

Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth. (Lusiana Arifianti, Rice Disi Oktarina, Idha Kusumawati).....	1
Ethyl Acetate Fraction of <i>Andrographis paniculata</i> Nees Increases Cytotoxic Effect of Vincristine on Human Cancer Cell Lines (Sukardiman, Mulja Hadi Santosa, Lusiana Arifianti Frinka Martha R)	5
Antiangiogenesis from Pericarp of Mangosteen on T47D Breast Cancer (Lusiana Arifianti , Siti Rofida, Sukardiman, Noor Cholies Zaini)	12
Aktivitas Antimalaria Fraksi Etil Asetat Daun Johar (<i>Cassia siamea</i> Lamk) Terhadap Pertumbuhan <i>Plasmodium Falciparum</i> Strain G2300 (Resisten Klorokuin) <i>In Vitro</i> (Wiwied Ekasari, Indah ST, Tutik Sri W, Aty W, Afraz)	16
Pinostrobin isolated from <i>Kaempferia pandurata</i> Roxb induced apoptosis in T47D human breast cancer cell line (Sukardiman , Aty Widyawaruyanti , Retno Widyowati , Sismindari) ...	20

Aktivitas Antimalaria Fraksi Etil Asetat Daun Johar (*Cassia siamea* Lamk) Terhadap Pertumbuhan *Plasmodium Falciparum* Strain G2300 (Resisten Klorokuin) *In Vitro*

Wiwied Ekasari*, Indah ST **, Tutik Sri W*, Aty W *, Afraz *

* Dep. Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Univ. Airlangga. Surabaya

* Dep. Parasitologi, Fakultas Kedokteran Univ. Airlangga. Surabaya

Email: wiwiedeka@hotmail.com

Abstrak

The aimed of this study was to determinate antimalarial activity of ethyl acetate fraction of Johar leaves (*Cassia siamea* Lamk). In vitro test of the ethyl acetate fraction performed using G2300 strain of *Plasmodium falciparum* (chloroquine-resistant) which has been synchronized and incubated for 48 hours. The concentration of the test solution of ethyl acetate fraction were used at 100 ug / ml, 10 ug / ml, 1 ug / ml, 0.1 mg / ml, 0.01 ug / ml. The results showed that the ethyl acetate fraction of *C. siamea* Lamk leaves have antimalarial activity against *P. falciparum* G 2300 strains chloroquine resistance with IC50 values was 4.46 ug/ml.

Key words: *C. siamea*, *P. falciparum* G2300, antimalaria

PENDAHULUAN

Klorokuin menjadi obat antimalaria pilihan utama untuk pengobatan pasien malaria selama 50 tahun ini, tetapi berkembangnya *P. falciparum* yang resisten terhadap obat ini telah menjadi masalah yang sangat besar. Depkes RI (2004) melaporkan kasus *P. falciparum* resisten klorokuin di Indonesia telah ditemukan di 12 propinsi pada 14 kabupaten yaitu Propinsi Nangro Aceh Darusalam, Lampung, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta, Kalimantan Timur, Sulawesi Utara, Kalimantan Barat, Nusa Tenggara Timur, Papua, Maluku, Maluku Utara dan DKI Jakarta. Kemudian resistensi ini terus menyebar dan selanjutnya kasus-kasus malaria yang resisten klorokuin sudah ditemukan di seluruh propinsi Indonesia.

Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian obat antimalaria baru baik itu dari bahan alam ataupun dari hasil sintesis. Sampai saat ini telah diketahui beberapa senyawa baru hasil isolasi tanaman obat dari golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, kumarin, lignan, kalkon dan santon yang memiliki aktivitas antimalaria secara *in vitro* dan *in vivo* (Saxena *et al.*, 2003; Wright, 2005).

Salah satu tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai obat antimalaria adalah *Cassia siamea* (Johar) yang memiliki bentuk pohon dan cepat tumbuhnya. Purwanto (1997) telah mengekstraksi daun *C. siamea* dengan menggunakan tiga macam pelarut yang berbeda yaitu n-heksana, kloroform dan metanol. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki daya hambat yang terbesar pada uji aktivitas secara *In vitro*. Penelitian lain juga dilakukan oleh Ekasari (2001) dengan melakukan ekstraksi daun johar (*C. siamea* Lamk) memakai pelarut etanol yang menghasilkan ekstrak etanol dengan IC₅₀ sebesar 7,06 µg/ml. Hasil ekstraksi kembali diteliti dengan menggunakan pelarut kloroform yang memberikan hasil harga IC₅₀ sebesar 2,41 µg/ml. Pada penelitian kali ini digunakan pelarut etil asetat untuk menarik alkaloid yang terdapat di dalam daun *C. siamea* Lamk. Alasan digunakan etil asetat karena selain etil asetat juga merupakan pelarut organik semipolar, etil asetat tidak bersifat karsinogenik seperti pada kloroform. Selain itu,

selama ini belum pernah dilakukan penelitian dengan menggunakan *Plasmodium* yang sudah resisten terhadap klorokuin. Untuk itu pada penelitian ini digunakan isolat *P. falciparum* strain G 2300 yang berasal dari Papua, Indonesia yang sudah resisten terhadap klorokuin. Hasil yang diharapkan akan didapat aktivitas antimalaria dari fraksi etil asetat daun Johar terutama terhadap *Plasmodium* yang resisten terhadap klorokuin.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tanaman. Daun johar (*C. siamea* Lamk) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dan dideterminasi di Kebun Raya Purwodadi, Jawa Timur.

Pembuatan Fraksi. Serbuk daun Johar dimaserasi dengan pelarut n-heksana, dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etanol 90% yang mengandung 1% asam tartrat, selanjutnya filtrat yang didapat dibasakan dengan menggunakan NH₄OH 25 % sampai diperoleh suasana basa pada pH 8, Ekstrak etanol yang kental ini kemudian dilakukan penarikan dengan pelarut etil asetat (cair-cair), sehingga diperoleh hasil akhir berupa fraksi etil asetat.

Parasit uji. *P. falciparum* yang digunakan adalah biakan *P. falciparum* strain 2300 *laboratory strain* yang berasal dari Papua, Indonesia dan dikembangkan di laboratorium malaria *Tropical Disease Centre* (TDC) Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur. Dibiakkan dengan metode Trager and Jensen (1976).

Uji Antimalaria In Vitro. Dibuat larutan induk dalam DMSO dan dibuat serial konsentrasi dengan medium komplet (RPMI 1640 yang diperkaya dengan 10 % plasma, 25mM HEPES dan 25 mM NaHCO₃) sampai konsentrasi dalam sumuran menjadi 100;10; 1; 0,1 dan 0,01 µg/ml. Kultur dibuat dengan hematokrit 5% dan parasitemia sebesar 1%. Setelah diinkubasi selama 48 jam, kultur dipanen dan dibuat hapusan tipis dengan pewarnaan larutan Giemsa. Selanjutnya dihitung persen parasitemia dan dianalisis menggunakan analisis probit sehingga didapatkan harga IC₅₀ (Fidock *et al.*, 2004)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Antimalaria. Hasil Uji Aktivitas Antimalaria Fraksi Etil Asetat Daun *C. siamea* Lamk dapat dilihat pada tabel 1. Perhitungan persen parasitemia rata-rata diperlukan untuk menghitung berapa besar persen penghambatan parasit terhadap kontrol negatif, dengan menggunakan program statistika berupa analisis probit akan dihitung pula nilai IC₅₀ yang merupakan parameter untuk menentukan aktivitas antimalaria. Pada penelitian ini, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 0,01; 0,1; 1; 10 dan 100 µg/ml, memiliki persen penghambatan terhadap pertumbuhan parasit sebesar 9,25 %; 19,60 %; 37,0 %;

53,96 % dan 77,97 %. Pengamatan bentuk –bentuk stadium parasit dari D₀ hingga D_{48 jam} dari K(-) menunjukkan kalau *P. falciparum* dalam biakan menunjukkan keseragaman stadium parasit, hal ini didasarkan pada pengamatan stadium parasit D₀ yang memperlihatkan stadium cincin (R) sebanyak 86.36 % dari seluruh total stadium parasit, sedangkan D_{48 jam} K(-) menunjukkan stadium cincin (R) yang teramati sebesar 78,41 % dari seluruh total stadium parasit, hal ini menunjukkan bahwa proses sinkronisasi dapat menjaga keseragaman stadium parasit yang terbentuk dalam selang waktu tertentu.

Tabel 1. Pengamatan stadium parasit, persen parasitemia, dan persen penghambatan dari fraksi etil asetat daun Johar selama 48 jam.

Kons.	Rep	Persen parasitemia eritrosit terinfeksi stadium parasit (IRBC)			Persen perasetemia rata-rata			(% parasitemia total)	Rata-rata	(% penghambatan)
		R	S	T	R	S	T			
D ₀	1	0.76	0.02	0.1	0.76	0.02	0.1	0.88	0.88	-
K(-)	1	3.6	0.26	0.6	3.56	0.27	0.71	4.46	4.54	-
	2	3.52	0.28	0.82				4.62		
0.01 µg/ml	1	3.02	0.22	0.96	3.0	0.2	0.92	4.20	4.12	9.25
	2	2.98	0.18	0.88				4.04		
0.1 µg/ml	1	2.58	0.16	0.82	2.59	0.2	0.86	3.56	3.65	19.60
	2	2.6	0.24	0.9				3.74		
1 µg/ml	1	2.32	0.16	0.48	2.19	0.16	0.51	2.96	2.86	37.00
	2	2.06	0.16	0.54				2.76		
10 µg/ml	1	1.54	0.12	0.48	1.48	0.09	0.52	2.14	2.09	53.96
	2	1.42	0.06	0.56				2.04		
100 µg/ml	1	0.48	0.32	0.16	0.56	0.28	0.16	0.96	1.00	77.97
	2	0.64	0.24	0.16				1.04		

Keterangan: D₀ : hari ke-0
 Kons. : Konsentrasi
 K(-) : Kontrol negatif
 Rep : Replikasi
 R : Ring
 S : Skizon
 T : Trofozoit

Tabel 2. Pengamatan persen parasitemia, dan persen penghambatan dari pengujian kontrol positif klorokuin difosfat selama 48 jam.

Kons.	Rep.	(% parasitemia)	Rata-rata	(% penghambatan)
K(-)	1	3.84	3.93	
	2	4.01		-
0.001 µg/ml	1	3.50	3.55	9.67
	2	3.65		
0.01 µg/ml	1	2.42	2.39	39.19
	2	2.36		
0.1 µg/ml	1	1.64	1.56	60.31
	2	1.48		
1 µg/ml	1	1.01	0.97	75.32
	2	0.92		
10 µg/ml	1	0.42	0.45	88.55
	2	0.47		

Keterangan: Kons. : Konsentrasi
K(-) : Kontrol negatif
Rep : Replikasi

Tabel 3. Nilai IC₅₀ uji aktifitas anti malaria

Nama Bahan	Inkubasi	IC ₅₀ (µg/ml)
Fraksi Etil Asetat daun <i>C. Siamea</i> Lamk	48 jam	4,46
Kontrol Positif Klorokuin Difosfat	48 jam	0,056

Analisis Data Fraksi Etil Asetat Daun *C. siamea* Lamk dengan menggunakan Data persen penghambatan dan data konsentrasi dari uji aktivitas anti malaria dari fraksi etil asetat daun *C. siamea* Lamk terhadap *P. falciparum* strain 2300 dianalisis menggunakan analisis probit diperoleh harga IC₅₀ sebesar 4,46 µg/ml.

Sebagai pembandingan dalam uji aktivitas anti malaria digunakan klorokuin difosfat karena *P. falciparum* strain 2300 resisten terhadap klorokuin difosfat, juga karena sampai saat ini di Indonesia klorokuin difosfat masih merupakan obat standar untuk mengobati malaria. Adapun konsentrasi yang dipilih sebesar 10 µg/ml, 1 µg/ml, 0,1 µg/ml, 0,01 µg/ml, 0,001 µg/ml. Besarnya persen penghambatan terhadap pertumbuhan parasit pada kontrol positif pada masing-masing konsentrasi seperti diatas adalah 88.55%, 75.32%, 60.31%, 39.19%, dan 9.67%. Data persen penghambatan dan data konsentrasi dari uji aktivitas anti malaria dari kontrol positif klorokuin difosfat terhadap *P. falciparum* strain 2300 dianalisis

menggunakan analisis probit diperoleh harga IC₅₀ sebesar 0,056 µg/ml.

Dari hasil analisis probit tersebut diperoleh informasi mengenai konsentrasi penghambatan 50% (IC₅₀) dari fraksi etil asetat daun *C. siamea* Lamk dan kontrol positif klorokuin difosfat terhadap pertumbuhan *P. falciparum* G230 yang diinkubasi selama 48 jam.

PEMBAHASAN

Uji aktivitas *in vitro* dengan *P. falciparum* dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengevaluasi bahan alam hayati yang diduga memiliki aktivitas anti malaria. Untuk skrining ekstrak dari tanaman yang digunakan dalam pengobatan tradisional, uji *in vitro* menawarkan keuntungan dimana *P. falciparum*, penyebab malaria pada manusia yang di dalamnya termasuk strain-strain yang resisten terhadap obat – obat malaria yang sudah beredar dapat digunakan sebagai parasit uji (Phillipson, 1991).

C. siamea Lamk dipilih sebagai bahan penelitian karena tanaman ini telah digunakan secara tradisional sebagai obat malaria. Pada penelitian terdahulu telah diuji aktivitas antimalaria dari daun johar (*C. siamea* Lamk) secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain A2 *wild type* yang dilakukan oleh Ekasari (2001) dengan harga IC₅₀ untuk ekstrak etanol sebesar 7,06 µg/ml, ekstrak kloroform dengan harga IC₅₀ 2,41 µg/ml, dan untuk fraksi 16 ekstrak kloroform didapatkan harga IC₅₀ 1,70 µg/ml, penelitian juga dilakukan oleh Kusumaningrum (2004) yang menguji aktivitas ekstrak kloroform daun johar (*C. siamea* Lamk) secara *in vivo* terhadap *P. berghei* didapatkan ED₅₀ sebesar 19,58706 mg/kg BB. Berdasarkan beberapa penelitian tentang antimalaria yang telah dilakukan dan ditunjang dengan hasil penelitian secara keseluruhan yang menunjukkan bahwa golongan alkaloid memiliki aktivitas sebagai antimalaria.

Parasit yang sensitif menunjukkan adanya penghambatan terhadap seluruh pertumbuhan skizon pada konsentrasi klorokuin 0.15 µg/ml, yang setara dengan 0,2 µg/ml untuk klorokuin difosfat (Ekasari, 2001). Hasil penelitian menunjukkan klorokuin difosfat pada konsentrasi 10 µg/ml hanya dapat menghambat sampai 88,55% , hal ini membuktikan bahwa klorokuin difosfat pada konsentrasi 0,2 µg/ml tidak dapat menghambat pertumbuhan parasit seluruhnya, sehingga dapat disimpulkan kalau isolat *P. falciparum* strain 2300 yang digunakan sebagai parasit uji termasuk dalam parasit yang resisten terhadap klorokuin. Nilai IC₅₀ dari fraksi etil asetat daun johar (*C. siamea* Lamk) adalah 4.46 µg/ml. Ekstrak dan fraksi tanaman yang mempunyai harga IC₅₀ sampai dengan 10 µg/ml termasuk dalam golongan bahan yang mempunyai aktivitas tinggi sebagai anti malaria (Weenen et al., 1990). Sehingga dapat dikatakan kalau fraksi etil asetat daun johar (*C. siamea* Lamk) mempunyai aktivitas antimalaria yang tinggi, dan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut terutama untuk menanggulangi masalah resistensi.

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi daun

johar untuk mendapatkan senyawa alkaloid yang diduga aktif sebagai antimalaria sehingga diharapkan dapat menggantikan obat-obat antimalaria yang tidak atau kurang memiliki keefektifan lagi dalam menanggulangi malaria.

Ucapan Terimakasih. Penelitian ini didanai oleh Dirjen Pendidikan Tinggi Republik Indonesia melalui penelitian STRATNAS

PUSTAKA

Depkes RI, 2004. **Penggunaan artemisinin untuk atasi malaria di daerah yang resisten klorokuin.** Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

Ekasari, W., 2001. Daya Hambat Senyawa Alkaloid Daun Cassia siamea Pada Biakan In vitro Plasmodium falciparum. **Tesis**, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya

Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S, 2004. Antimalarial drug discovery : Efficacy models for compound screening, Review, **Nature 3** (Juni): 509-520.

Kusumaningrum D, 2004. Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Kloroform Daun Johar (Cassia siamea

Lamk) Terhadap Plasmodium berghei secara in vivo. **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya

Phillipson, J David, 1991. Assays for Antimalarial and Amoebicidal Activities. **Methods In Plant Biochemistry**, Vol. 6, pp. 135-141

Purwanto E, 1997. Pengaruh fraksi heksan, kloroform dan methanol daun *C. siamea* Lamk. terhadap pertumbuhan *P. falciparum* in vitro. **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya

Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS, 2003. Antimalarial agents from plant sources. **Curr Sci** 84 (9): 1314-1329

Trager W, Jensen JB, 1976. Human Malaria parasites in continous culture. **Science**, 193, pp. 673-676.

Weenen H, Nkunya MHH, Bray DH, Mwasumbi LB, Kinabo LS, Kilimali AEB, 1990. Antimalarial Activity of Tanzanian Medicinal Plants. **J. Planta Medica** 56 : 368 -370

Wright CW, 2004. Pharmacological properties of the active constituents of some tradisional in: **Traditional medicinal plants and malaria**, edited Willcox, CRC press, New York.