

ANTI-*Plasmodium Berghei* EKSTRAK DAUN DAN KAYU *Lunasia amara* Blanco

Subehan Lallo, Fitri Ariani, Resky Syamsu
Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

Kata Kunci :

Lunasia amara Blanco, sanrego, *Plasmodium berghei*, malaria, parasitemia

ABSTRAK

Lunasia amara Blanco merupakan tumbuhan yang biasa digunakan untuk berbagai penyakit secara empiris termasuk pada gejala malaria. Bagian yang paling banyak digunakan adalah kayu dan batangnya. Berdasarkan informasi tersebut telah dilakukan pengujian ekstrak kayu dan daun dari tanaman sanrego ini terhadap *Plasmodium berghei* yang diinfeksi pada tikus sebagai model pengujian awal untuk anti-malaria dari bahan alam. Ekstrak kayu dan batang diperoleh dengan menggunakan penyari methanol secara sonikasi. Berbagai konsentrasi digunakan secara peroral pada mencit yang telah terinfeksi oleh *P. berghei* selama 5 hari menunjukkan ekstrak daun tidak memiliki kemampuan dalam menurunkan parasitemia pada tikus sedangkan ekstrak batang memiliki kemampuan dalam menghambat parasitemia pada konsentrasi 0,5% dengan nilai dosis supresi 50% (SD₅₀) sebesar 595 mg/kg bobot badan mencit. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu sanrego memiliki kemampuan untuk digunakan sebagai bahan obat untuk pengobatan malaria.

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara dengan iklim yang tropis dengan kondisi alam yang lebih hangat menjadi tempat yang sangat potensial untuk berkembangnya berbagai jenis parasit yang dapat menginfeksi manusia termasuk malaria. Penyakit ini disebabkan oleh protozoa genus *Plasmodium* yang merupakan parasit pada sel darah merah. Penularannya dapat dilakukan oleh nyamuk anopheles dengan gejala seperti menggigil, demam dan berkeringan dengan interval waktu yang bergantung pada waktu yang dibutuhkan oleh parasit dalam berkembang mem-bentuk generasi barunya. Penyakit ini akan menimbulkan anemia hemolitik berat dimana sel darah merah yang diinfeksi oleh parasit plasmodium akan mengalami kerusakan pada permukaannya menjadi tidak teratur (1,2,3).

Sebagai salah satu penyakit endemis yang menyebar pada beberapa negara termasuk pada benua amerika latin, afrika, asia tenggara dan timur tengah, malaria kadang menimbulkan kejadian luar biasa pada daerah-daerah tersebut. Berbagai infomasi menunjukkan bahwa penyakit ini telah menyerang manusia sejak jaman dahulu dan berbagai jenis obat-obatan telah ditemukan dan digunakan untuk meng-obatnya namun masalah baru yang muncul adalah terjadinya resistensi terhadap obat-obatan tersebut oleh plasmodium (4,5).

Pemanfaatan sumber daya alam dari tumbuh-tumbuhan sudah banyak terbukti untuk mengobati penyakit malaria, salah satu diantaranya yang paling terkenal adalah kina dari kulit kayu *Cinchona sp.* Quinine sebagai senyawa yang terkandung telah digunakan kurang lebih 400 tahun sebagai obat untuk pengobatan malaria. Pada beberapa dekade terakhir telah ditemukan bahwa penggunaan senyawa ini juga sudah mulai kehilangan efektifitas karena resistensi plasmodiumnya sehingga penelitian untuk pencarian senyawa baru tetap menjadi pusat perhatian

untuk penemuan obat baru malaria. Hal ini berlanjut terus sekalipun telah ditemukan juga senyawa baru lain dari *Artemisia annua* yang digunakan sebagai obat baru anti malaria yaitu artemisinin. Senyawa ini juga sekarang sedang intensif diteliti untuk kemungkinan sebagai anti kanker (6,7).

Keberlanjutan pencarian obat baru sebagai antimalarial sangat penting untuk tetap dilanjutkan untuk persiapan dalam mencegah kemungkinan terjadinya penurunan aktifitas karena resistennya plasmodium tersebut sehingga penggalian bahan-bahan obat alam dari obat tradisional merupakan salah satu langkah penting dalam penemuan obat baru tersebut. Berbagai jenis tanaman telah dilaporkan secara empiris dapat digunakan untuk mengobati gejala penyakit malaria tersebut seperti kayu sanrego, bunga matahari, jeruk nipis, kenanga, meniran, murbei, pare, papaya, pinang, pulai, pulutan, sambiloto, dan beringin (6,7).

Kayu sanrego (*Lunasia amara* Blanco) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk berbagai penyakit seperti aprodisiaka, anti inflamasi dan penangkal bisa ular. Tanaman ini tumbuh disepanjang pegunungan Indonesia. Penelitian tentang keragaman fenotipe dari tanaman ini telah dilaporkan untuk kelestariannya. Berbagai turunan senyawa alkaloid akrilidon seperti lunanin, lunamarin, lunine dan lunakrin telah dilaporkan diisolasi dari tanaman ini. Rasa pahit pada batang dan daunnya merupakan salah satu karakteristik tanaman dan ciri-ciri dari kandungan kimia senyawanya berupa alkaloid (8,9).

Penelitian tentang aktifitas biologinya juga telah dilaporkan baik dalam bentuk ekstraknya maupun dalam bentuk senyawa tunggalnya dengan aktifitas seperti aprodisiaka, anti bakteri, anti kanker

Masuk 01-02-2017
Revisi 19-09-2017
Diterima 10-09-2017

DOI
<http://dx.doi.org/10.20956/mff.v21i3.6854>

Korespondensi
Subehan Lallo
subehan@unhas.ac.id

Fakultas Farmasi,
Universitas Hasanuddin,
Jalan Perintis
Kemerdekaan Km.10,
Makassar 90245,
Indonesia
Telp. +62-411-588-556
Fax. +62-411-585-188

Copyright
© 2017 Majalah Farmasi
Farmakologi Fakultas
Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal
29-12-2017

Dapat Diakses Daring
Pada:
<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



dan kemampuan dalam menghambat sitokrom P450. Berdasarkan hal tersebut sehingga kami tertarik untuk melakukan uji aktifitas daun dan kayu sanrego (*L amara*) sebagai antiplasmodium berghei secara *in vivo* pada tikus sebagai model uji untuk obat malaria (10,11,12).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alu, batang pengaduk, beker, cawan porselen, gelas ukur, jarum suntik (Terumo®), kanula, kandang mencit, labu tentukur (Pyrex®), lumpang, mikroskop (Olympus®), alat maserasi dan sonikasi, timbangan analitik (Dragon 303®), timbangan hewan.

Bahan yang digunakan adalah aluminium foil, air suling, batang dan daun Sanrego (*Lunasia amara* Blanco), kertas saring, kertas timbang, metanol, Natrium CMC, Natrium EDTA, Phosfat Buffer Saline (PBS), *Plasmodium berghei*, pereaksi warna Giemsa.

Penyiapan Sampel

Kayu sanrego (*Lunasia amara* Blanco) dikumpulkan dari hutan di Dusun Birue, Desa Siawung, Kecamatan Barru, Kabupaten Barru. Sampel yang telah dikumpulkan kemudian dibersihkan dari pengotoran, dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan tidak terpapar langsung dari sinar matahari.

Ekstraksi dan Partisi Sampel

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 2 kg atau kayu sanrego yang telah dipotong kecil-kecil diekstraksi secara maserasi dibantu dengan sonikasi dengan 10 L metanol. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali selama 4 jam dalam wadah sonikator. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotavapor sampai kental, selanjutnya diuapkan di atas tangas air sehingga diperoleh ekstrak metanol kental.

Pembuatan Sampel Penelitian

Pembuatan Larutan Koloidal Natrium CMC 1%

Sebanyak 1 g Natrium CMC dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 ml air suling panas (suhu 70°C) sambil diaduk dengan pengaduk elektrik hingga terbentuk larutan koloidal dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 100 ml.

Penyiapan Sediaan Uji

Suspensi Ekstrak

Untuk suspensi ekstrak metanol batang Sanrego 0,1%; 0,5% dan 1% masing-masing ditimbang 0,1 g, 0,5 g, dan 1 g kemudian masing-masing digerus dalam lumpang, ditambahkan larutan koloidal NaCMC 1% sedikit demi sedikit ke dalamnya sambil digerus hingga homogen, dimasukkan dalam labu tentukur dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml.

Uji Antimalaria

Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur 2-3 bulan, sehat dan bersih dengan berat badan rata-rata 20-30 g. Sebelum digunakan terlebih dahulu diadaptasikan dengan lingkungan sekitarnya selama 1 - 2 minggu.

Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan sebanyak 40 ekor. 20 ekor digunakan untuk ekstrak daun dan 20 lainnya untuk ekstrak batang. Setiap kelompok ekstrak dikelompokkan lagi dalam 4

kelompok yang terdiri dari 5 mencit jantan. Kelompok I (kelompok kontrol/Na-CMC 1% b/v), kelompok II (kelompok ekstrak sanrego 0,1%), kelompok III (kelompok ekstrak sanrego 0,5%), dan kelompok IV (kelompok ekstrak sanrego 1%).

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Sebelum diberi perlakuan, semua kelompok hewan uji diinjeksikan *Plasmodium berghei* secara intraperitoneal 0,2 ml/25 g BB. Setelah persentase parasitemianya mencapai 1-5%, mencit jantan yang telah diinfeksi parasit diberikan ekstrak sanrego sebanyak 1 ml/25 g BB secara oral. Kelompok I sebagai pembandingan/kontrol, diberikan Na-CMC 1% b/v. Kelompok II, III, dan IV diberikan ekstrak sanrego dengan konsentrasi berturut-turut 0,1%; 0,5% dan 1% pada masing-masing mencit.

Pengambilan Sampel Darah Hewan Uji

Sampel darah hewan uji mencit jantan diambil dari ekor dengan cara melukai ujung ekor.

Pembuatan Apusan Darah Hewan Uji

Apusan dibuat dengan mengambil sampel darah hewan uji mencit jantan sebanyak satu tetes, dan dibuat menjadi lapisan tipis pada objek gelas. Apusan darah kemudian difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan Giemsa 10% selama 30 menit. Sediaan darah dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.

Penentuan Parasitemia dalam Sediaan Darah Hewan Uji

Parasitemia dalam sampel darah hewan uji mencit jantan ditentukan dengan metode hitung parasit dalam sel darah merah secara mikroskopik

Pengumpulan Data

Data diperoleh dari hasil perhitungan parasitemia dalam sel darah merah hewan uji mencit jantan setelah persentase parasitemianya mencapai 1-5% (dihitung sebagai H-0) dan dilanjutkan dengan tahapan pengobatan dengan pemberian suspensi ekstrak sanrego selama 4 hari berturut-turut (sampai H-4)

Analisis Data

Data yang dikumpulkan dari hasil perhitungan parasitemia kemudian dianalisa secara statistik menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai SD50.

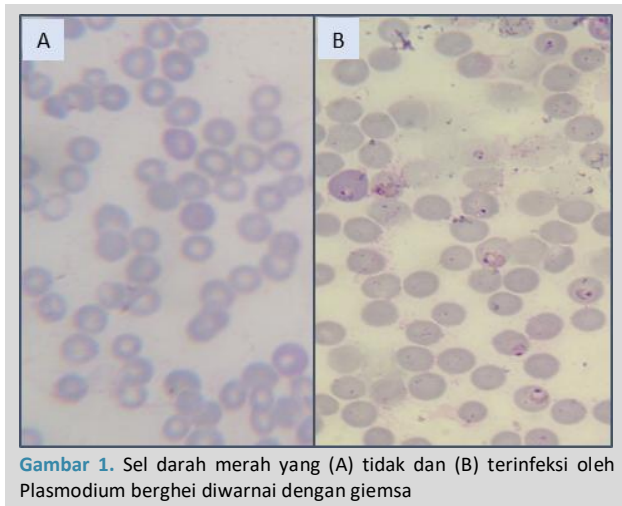
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak metanol dari daun dan kayu sanrego (*Lunasia amara* Blanco) sebagai obat anti-malaria dengan parameter perkembangan parasitemia dalam sel darah merah hewan uji mencit jantan. Konsentrasi suspensi ekstrak yang diujikan adalah dari 0,01 sampai 1,0 % (b/v).

Mencit diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* karena jenis *Plasmodium* ini hanya dapat menginfeksi hewan coba (parasit untuk hewan pengerat). Jenis *Plasmodium* yang menginfeksi manusia seperti *Plasmodium falciparum* tidak dapat menginfeksi hewan coba yang digunakan sehingga hanya dapat digunakan untuk uji *in vitro*. *Plasmodium berghei* umum digunakan dalam penelitian-penelitian tentang malaria karena siklus hidup dan morfologinya mirip dengan jenis *Plasmodium* yang menginfeksi manusia khususnya *Plasmodium falciparum*.

Uji *in vivo* ini dilaksanakan dengan menggunakan mencit putih jantan dengan berat rata-rata 25 g. Sejumlah 0,2 ml darah mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* diinokulasikan ke dalam mencit sehat secara intraperitoneal. Beberapa hari setelah infeksi, persentase parasitemia mencit diperiksa melalui apusan tipis darah tepi. Apabila telah mencapai 1-5%, pada saat ini pengobatan mulai diberikan dan ditandai

sebagai H-0. Setiap senyawa yang diberikan diencerkan dengan Na-CMC 1%, sedangkan sebagai kontrol diberikan suspensi Na-CMC dalam air suling tanpa bahan aktif. Karena mengingat respon patologis yang tinggi dari infeksi malaria berat dengan adanya resiko kematian hewan uji mencit yang terjadi apabila konsentrasi parasitemia melebihi 5 %, dimana pada kondisi ini tahapan pengobatan dapat dikatakan sudah terlambat.



Gambar 1. Sel darah merah yang (A) tidak dan (B) terinfeksi oleh Plasmodium berghei diwarnai dengan giemsa

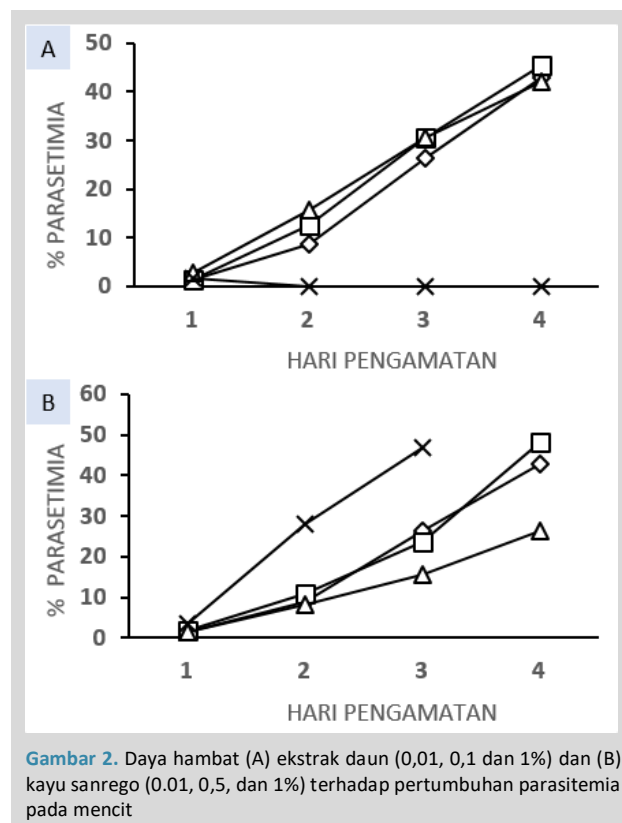
Hasil penelitian rata-rata persentasi parasitemia pada mencit setelah pemberian ekstrak metanol daun Sanrego 0,01 % (b/v) pada hari pertama adalah 12,48 %, hari kedua 30,59 %, hari ketiga 45,51 % dan hari keempat 57,52 %. Rata-rata persentasi parasitemia pada konsentrasi pemberian 0,1 % (b/v) pada hari pertama adalah 15,69 %, hari kedua 30,44 %, hari ketiga 42,06 % dan hari keempat 42,01 %. Sedangkan pada konsentrasi 1,0 % mencit yang digunakan sebagai hewan percobaan telah mati setelah pemberian ekstrak metanol pada hari pertama.

Pemberian ekstrak metanol batang sanrego 0,1% (b/v) pada hari pertama adalah 1,94%, hari kedua 10,73%, hari ketiga 23,77%, hari keempat 48,29%. Rata-rata persentasi parasitemia pada konsentrasi pemberian 0,5% (b/v) pada hari pertama adalah 1,38%, hari kedua 8,29%, hari ketiga 15,66%, hari keempat 26,24%. Pada konsentrasi ini dilakukan pengamatan parasitemia sampai hari keenam karena terdapat satu hewan uji yang mengalami penurunan persen parasitemia. Rata-rata persentasi parasitemia pada hari keenam adalah 15,75%. Sedangkan rata-rata persentasi parasitemia pada konsentrasi pemberian 1% (b/v) pada hari pertama adalah 3,45%, hari kedua 27,88%, hari ketiga 46,82%. Sedangkan pada kelompok kontrol yaitu rata-rata persentasi parasitemia pada hari pertama adalah 1,34%, hari kedua 8,70%, hari ketiga 26,26%, dan hari keempat 42,92%.

Adanya penurunan persen parasitemia sampai hari keenam pada konsentrasi ekstrak 0,5% b/v, menunjukkan bahwa pengobatan malaria dengan ekstrak batang Sanrego akan lebih baik jika pemberian ekstrak lebih lama, karena semakin hari penekanan terhadap *Plasmodium berghei* dalam sel darah merah mencit akan terus terjadi. Dengan demikian aktivitas batang sanrego sebagai obat malaria dapat dibuktikan dengan adanya penurunan persentasi parasitemia dalam sel darah merah hewan uji mencit jantan pada konsentrasi ekstrak 0,1% dan 0,5% (b/v). Jadi, penekanan pertumbuhan 50% *Plasmodium berghei* terjadi pada hari kelima (H-4) dan keenam (H-5) perlakuan setelah pemberian ekstrak.

Sedangkan pada konsentrasi ekstrak 1% tidak mengalami penurunan persentasi parasitemia. Hewan uji yang digunakan bahkan hanya bertahan hidup sampai hari ketiga. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa ekstrak metanol Sanrego pada konsentrasi 1% atau lebih memiliki potensi

toksik. Kematian hewan uji juga terjadi karena perkembangan Plasmodium yang semakin tinggi dari hari ke hari tanpa adanya efek supresi ekstrak terhadap parasit dalam sel darah merah mencit.



Gambar 2. Daya hambat (A) ekstrak daun (0,01, 0,1 dan 1%) dan (B) kayu sanrego (0,01, 0,5, dan 1%) terhadap pertumbuhan parasitemia pada mencit

Potensi antimalaria dihitung berdasarkan kemampuan ekstrak atau senyawa menekan pertumbuhan parasitemia yang disebut dosis supresi (Suppression Dose 50% = SD_{50}) dapat diketahui dengan menghitung jumlah rata-rata pertumbuhan parasitemia pada perlakuan kontrol dikurangkan dengan jumlah rata-rata pertumbuhan perlakuan masing-masing dosis dibagi dengan jumlah rata-rata pertumbuhan parasitemia kontrol dikali dengan 100 %.

Dari perhitungan analisis probit diperoleh dosis supresi 50% pertumbuhan (SD_{50} value) *Plasmodium berghei* sebesar 595,26 mg/Kg bobot badan hewan coba mencit, dimana pada konsentrasi tersebut pertumbuhan *Plasmodium berghei* dalam sel darah merah dapat dihambat kira-kira menjadi 50% dari pertumbuhan normalnya.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) dari konsentrasi 0,01 % (b/v) sampai dengan konsentrasi 1 % (b/v) tidak mempunyai efek antimalaria, hal ini dapat dilihat dari rata-rata persentasi parasitemia yang terus meningkat setelah pemberian ekstrak. Adanya mencit yang mati diduga karena efek toksisitas ekstrak metanol daun Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) terhadap hewan coba mencit (*Mus musculus*) dan perkembangan Plasmodium yang sangat cepat. Sedangkan untuk ekstrak metanol batang Sanrego, memperlihatkan penekanan pertumbuhan parasit pada konsentrasi 595 mg/KgBB. Nilai SD_{50} yang besar menunjukkan lemahnya efek supresi ekstrak terhadap pertumbuhan parasit.

Dalam perhitungan regresi, data yang digunakan untuk menghasilkan grafik yang sesuai minimal tiga. Sehingga akan terlihat perbedaan plot garis dari persamaan regresi dan linear. Pada data pengamatan persentasi parasitemia dalam sel darah merah mencit, hewan uji yang diberi ekstrak metanol batang Sanrego 1% b/v hanya bertahan hidup sampai hari ketiga dan sampai hari tersebut tidak menunjukkan penurunan persentasi parasitemia.

Ketidaklengkapan data tersebut akan mempengaruhi nilai SD_{50} sehingga dalam perhitungan analisis probit hanya digunakan dua data untuk mendapatkan nilai SD_{50} yang lebih akurat. Nilai SD_{50} yang dihitung dari tiga data berdasarkan perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 0,1%, 0,5% dan 1% adalah 689,31 mg/KgBB sedangkan nilai SD_{50} yang dihitung dari dua data berdasarkan perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 0,1% dan 0,5% adalah 595,26 mg/KgBB. Perbedaan ini disebabkan karena memang hanya pada konsentrasi 0,1% dan 0,5% menunjukkan penurunan persentasi parasitemia, jadi nilai SD_{50} -nya lebih kecil. Akan tetapi nilai 595,26 mg/KgBB (antilog 2,774) tidak masuk dalam range log konsentrasi atau SD_{50} berada diluar grafik persamaan garis regresi. Peristiwa ini yang disebut 'out of layer' karena prediksi dosis supresinya lebih besar dari nilai log konsentrasi yang ada. Pada kenyataannya, penurunan persentasi parasitemia pada perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 0,5% baru terjadi setelah pengamatan hari keenam.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian efek pemberian ekstrak metanol daun Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) terhadap perkembangan parasitemia dalam sel darah merah mencit jantan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) dengan konsentrasi 0,01 - 1,0 % (b/v) tidak dapat menghambat perkembangan parasitemia dalam sel darah merah mencit jantan yang terinfeksi *Plasmodium berghei*. Sedangkan pemberian ekstrak metanol batang Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,1% dan 0,5% (b/v) mempunyai efek menekan pertumbuhan parasitemia dengan SD_{50} sebesar 595,26 mg/Kg.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Alm. Faisal Attamimi dan Alm. Rahmawati Syukur atas segala bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini semasa hidupnya. Mudah-mudahan keduanya tenang disisinya dengan segala pahalanya

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumala P. Kamus saku kedokteran, dorland. Ed 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1998. Malaria, 645
2. Syarif A dan DS Zunilda. Kemoterapi parasit. Di dalam: Gunawan SG, editor. Farmakologi dan terapi. Ed 5. Jakarta: Bagian Farmakologi. FK-UI; 2007, 556
3. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi, konsep klinis proses-proses penyakit. Ed 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. EGC; 2005: 1. 258
4. Autino B, Noris A, Russo R, Castelli F, Epidemiology of Malaria in Endemic Areas, Mediterr J Hematol Infect Dis 2012; 4, 1-11
5. Achan J., Talisuna AO, Erhart A, Yeka A, Tibenderana JK, Baliraine FN, Rosenthal FJ., D'Alessandro U. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. Malaria Journal 2011, 10,144, 1-12
6. Brown, G.D. Artemisinin and a new generation of antimalarial drugs. Education in Chemistry, 2006, 43 (4). pp. 97-99.
7. Cahyaningsih R., Characterization of phenotypic diversity of a medicinal plant *Lunasia amara*. Nusantara Bioscience. 8 (2), 245-251.
8. Takahashi N, Subehan, Kadota S, Tezuka Y. Mechanism-based CYP2D6 inactivation by acridone alkaloids of Indonesian medicinal plant *Lunasia amara*. Fitoterapi 2012. 83(4). 774-779.
9. Nurbita. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Batang Kayu Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) Terhadap Bakteri Gram Postif (+) dan Gram Negatif (-). Skripsi Jurusan Farmasi Fakultas. MIPA Universitas Hasanuddin. Ujung Pandang. 1994. hal. 29
10. Arnida. Isolasi Fraksi Aktif Afrodisiaka dari Kayu Sanrego (*Lunasia amara* Blanco.) pada Tikus Jantan. Majalah Farmasi Indonesia. 2003. Hal. 195.
11. Subehan, Takahashi N, Kadota S, Tezuka Y. Cytochrome P450 2D6 inhibitory constituents of *Lunasia amara*. Phytochemistry Letters 2011, 4 (1), 30-33. Schug S.A., Manopas A. (2015), Update on the Role of Non-Opioids for Postoperative Pain Treatment, Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology, Vol. 21 No. 1:15-30.