

EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KETEPENG (*Cassia alata* L.) DAN KETEPENG KECIL (*Cassia tora* L.) TERHADAP *Plasmodium Falciparum* SECARA IN VITRO

EFFECTIVENESS OF KETEPENG (*Cassia alata* L.) AND SMALL KETEPENG (*Cassia tora* L.) ETHANOL EXTRACT ON *Plasmodium falciparum* IN VITRO

Murni*, Gunawan, Brian Janitra
Balai Litbang P2B2 Donggala
Jalan Masitudju No 58 Labuan Panimba, Labuan, Donggala, Sulawesi Tengah, Indonesia
*Email: Murni_amiruddin@yahoo.co.id

Received date: 3/9/2014, Revised date: 13/11/2014, Accepted date: 14/11/2014

ABSTRAK

Tanaman Ketepeng (*Cassia alata* L.) dan Ketepeng Kecil (*Cassia tora* L.) merupakan tanaman obat yang memiliki berbagai macam kegunaan, diantaranya untuk mengobati malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun ketepeng dan ketepeng kecil terhadap *P. falciparum* secara in vitro yang dihubungkan dengan periode waktu dengan pengenceran bertingkat dari larutan uji. Penelitian dilakukan dengan tahapan: pengambilan sampel tanaman, pembuatan ekstrak dan uji aktivitas anti malaria secara in vitro. Kontrol positif menggunakan klorokuin dan kontrol negatif menggunakan *P. falciparum* tanpa penambahan ekstrak uji. Ekstrak etanol daun ketepeng (*Cassia alata* L.) menunjukkan penurunan jumlah pertumbuhan *P. falciparum* pada pengenceran 10⁻⁸. Ekstrak etanol daun ketepeng dan ketepeng kecil tidak menunjukkan penghambatan pertumbuhan terhadap *P. falciparum*.

Kata kunci: ekstrak, *Cassia alata* L., *Cassia tora* L., *Plasmodium falciparum*

ABSTRACT

*Ketepeng (*Cassia alata* L.) and small ketepeng (*Cassia tora* L.) are medicinal plants with variety of uses, including for treating malaria caused by *Plasmodium falciparum*. This research aims to determine the effectiveness of the ethanol extract ketepeng and small ketepeng against *P. falciparum* in vitro associated with a period of time with terraced dilution of test solutions. Research carried out in phases: sampling plant, extract preparation, and in vitro antimalarial activity assay. Positive control using chloroquine and negative controls using *P. falciparum* without any treatment. Ethanol extract ketepeng (*Cassia alata* L.) showed a decrease in the number of *P. falciparum* growth in the 10⁻⁸ dilution. Ethanol extract of ketepeng and small ketepeng did not show growth inhibition against *P. falciparum*.*

Keywords: extract, *Cassia alata* L., *Cassia tora* L., *Plasmodium falciparum*

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi parasit yang utama di dunia. Setiap tahun 300–500 juta kasus malaria menyebabkan 2 juta kematian.¹ Penyebab malaria adalah parasit dari genus *Plasmodium*. Ciri utama genus ini adalah siklus hidup terjadi dalam dua inang yang berbeda. Siklus seksual terjadi dalam tubuh nyamuk *Anopheles* betina, yang bertindak sebagai vektor perantara penyebaran parasit. Siklus aseksual terjadi dalam tubuh manusia.²

Ada empat jenis parasit yang menyebabkan malaria pada manusia yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium malariae*. Walaupun semuanya menyebabkan sakit berat, namun *P. falciparum* bertanggung jawab atas hampir seluruh komplikasi

yang serius dan mematikan.³ Penyakit infeksi malaria oleh *P. falciparum* merupakan penyebab kesakitan dan kematian tertinggi di antara jenis malaria yang lain. Hal ini karena infeksi *P. falciparum* cenderung mengakibatkan komplikasi seperti malaria serebral, anemia, hipoglikemia, gagal ginjal dan *edema pulmonal nonkardiak*. Pada hati, malaria menyebabkan komplikasi fatal hepatitis malaria, yaitu sindrom menyerupai hepatitis seperti hepatomegali, ikterik dan penurunan fungsi yang dapat menyebabkan disfungsi hati.⁴

Penyebaran penyakit malaria dapat dikendalikan dengan beberapa cara, yaitu mencegah kontaminasi dari lingkungan, memutuskan siklus hidup parasit, mengendalikan perkembangan vektor perantara dengan menggunakan insektisida, mencegah terjadinya infeksi, dan mencegah

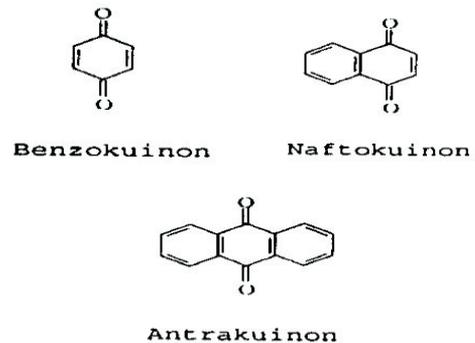
pematangan parasit melalui kemoprofilaksis dan vaksinasi.³ Masalah yang timbul saat ini adalah munculnya resistensi plasmodium terhadap obat malaria dan insektisida. Selain itu, pemanasan global turut berperan dalam meningkatnya kasus malaria.

Pengobatan malaria yang ideal adalah pengobatan untuk membunuh parasit dalam darah, membunuh sporozoit dan bentuk-bentuk ekstra eritrositer untuk mencegah *relapse* dan membunuh gametosit untuk mencegah terisap oleh nyamuk sehingga tidak terjadi penularan kepada orang lain. Namun sampai saat ini belum ada obat yang memenuhi kriteria tersebut. Berbagai macam obat telah dipergunakan namun kendala utama adalah toksisitas dan efek samping seperti hemoglobinuria dan *blackwater fever*, disamping resistensi parasit terhadap obat seperti klorokuin, quinine, fansidar dan mefloquine.⁵

Timbulnya resistensi *Plasmodium* sp. terhadap malaria mendorong para peneliti mencari anti malaria baru untuk menggantikan anti malaria yang tidak efektif lagi. Salah satu usaha menemukan anti malaria baru adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati malaria.⁶

Ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) adalah tanaman perdu yang mudah tumbuh. Sebagian masyarakat menggunakan tanaman ini sebagai obat tradisional, diantaranya sebagai anti parasit, laktan, anti *helminth*, kudis, influenza, bronchitis, dan malaria.⁷ Tanaman ini mempunyai kandungan kimia di antaranya rein aloe-emodina, rein aloe-emodina-diantron, rein, aloe emodina, asam krisofanat, (dihidroksi metil anthraquinone), tannin. Berdasarkan penelitian sebelumnya, kandungan kimia yang terdapat dalam akar tanaman ketepeng ini adalah 3-formil-1, 2,8 trihidroksiantrakuinon.⁸ Sedangkan tanaman ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) mengandung chryzophanol, emodin, aloe-emodin, rhein, physcion, obtusin, aurantio-obtusin, robrubusarin, torachryson, toralactone, vitamin A.⁹ Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Kuinon dewasa ini digunakan sebagai zat/senyawa yang bersifat anti malaria. Untuk tujuan identifikasi kuinon dapat dibagi atas 4 kelompok yaitu: benzokuinon, naftokuinon, antrakuinon, dan kuinon isoprenoid.

Kelompok senyawa kuinon terbesar yang terdapat di alam adalah antrakuinon. Distribusi antrakuinon dalam dunia tumbuh-tumbuhan cukup terbatas.⁸ Berikut adalah struktur kimia dari identifikasi kuinon



Gambar 1. Struktur kimia benzokuinon, naftokuinon, dan antrakuinon

Sampai saat ini penggunaan tanaman tersebut belum dimanfaatkan secara maksimal baik dari daun, batang maupun akar yang mempunyai kandungan dan efek farmakologi. Oleh karena itu, perlu adanya pembuktian secara ilmiah apakah ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) dapat dijadikan obat malaria secara *in vitro*.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) terhadap *P. falciparum* secara *in vitro*.

METODE

Pelaksanaan penelitian dibagi dalam 3 tahap. Tahap pertama adalah pengambilan sampel tanaman ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) di Dolo, Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah. Tahap kedua adalah proses pembuatan ekstrak. Determinasi untuk memastikan spesies tanaman dan proses ekstraksi tanaman ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) dilakukan di Instalasi Sumber daya Hayati Balai Litbang P2B2 Donggala. Tahap ketiga adalah uji aktivitas anti malaria secara *in vitro* dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Teknologi keselamatan dan Metrologi Radiasi. Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur *P. falciparum* 3D7, ekstrak kental daun ketepeng (*Cassia alata* L.), ekstrak kental daun ketepeng kecil (*Cassia tora* L.). Alat yang

digunakan adalah ekstraktor, inkubator, oven, gelas desikator, dan mikroskop.

Uji aktivitas anti malaria

Uji aktivitas anti plasmodium *in vitro* dilakukan dengan metode mikroskopis yang dikembangkan oleh Desjardins.¹¹ Parasit dengan kadar parasitemia 1% diambil dengan cara disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Supernatan dibuang dengan *pipet pasteur* dan menghitung sisa endapan lalu menambahkan *growthmedium* yang volumenya disesuaikan dengan jumlah parasit yang akan digunakan. Slide apusan darah tipis dibuat untuk mengetahui jumlah parasit sebelum diberikan perlakuan.

Uji anti plasmodium dilakukan dengan memakai lempeng sumur mikro (*plate*) 96 lubang. Setiap sumur berisi 200 μ L medium lengkap dengan eritrosit 5%. Memasukkan sediaan ekstrak etanol daun ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) masing-masing sebanyak 25 μ L dan dilakukan pengenceran bertingkat (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9}). Kemudian 50 μ L suspensi *P. falciparum* dengan kadar parasitemia 1% dimasukkan ke dalam setiap sumur. Kultur yang mengandung senyawa uji selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada desikator berisi lilin (*candle jar*) yang nantinya akan dimasukkan dalam inkubator.

Setelah diinkubasi selama 48 jam, kultur dipanen dan dibuat apusan darah tipis. Sebanyak 20 μ L (1 tetes) pada slide, tetesan darah digeser dengan kaca slide lain. Apusan tipis dicelup dalam metanol 1% (fiksasi) selama 1 detik, kemudian dikeringkan. Larutan Giemsa dibuat dengan perbandingan 1:10 dalam *syringe*, bolak-balik. Setelah slide kering, melakukan pewarnaan (slide ditetaskan Giemsa sampai seluruh permukaan slide tertutup). Slide kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah 30 menit, membilas Giemsa dengan air mengalir dan slide dikeringkan. Minyak imersi (*immerse oil*) ditetaskan pada daerah monolayer (apsuan darah tipis) untuk memudahkan pengamatan pada mikroskop dengan perbesaran 1000x. Nilai parasitemia dihitung dari pengamatan mikroskopis. Nilai parasitemia ini selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* dengan

cara jumlah eritrosit yang terinfeksi terhadap 1000 eritrosit. Sebagai kontrol digunakan kultur *P. falciparum* tanpa senyawa uji dan dianggap mempunyai pertumbuhan 100%. Aktivitas antiplasmodium dinyatakan sebagai IC50 (*Inhibitory Concentration*) yaitu kadar yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan parasit hingga 50%.¹²

HASIL

Ekstrak kental daun ketepeng dan ketepeng kecil yang diperoleh dari proses ekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 150 gram ketepeng dan 150 gram ketepeng kecil digunakan sebagai bahan anti plasmodium terhadap *P. falciparum*. Uji anti plasmodium dilakukan dengan pengenceran bertingkat ekstrak kental daun ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.). Sebagai pembanding, digunakan klorokuin sebagai kontrol positif dan sebagai kontrol negatif yaitu pengujian tanpa adanya bahan uji untuk melihat pertumbuhan parasit 100%. Hasil persentase parasitemia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan ekstrak etanol daun ketepeng (*Cassia alata* L.), menunjukkan penurunan jumlah pertumbuhan *P. falciparum* pada pengenceran 10^{-8} , sedangkan pada pengenceran yang lainnya tidak menunjukkan penghambatan pertumbuhan terhadap *P. falciparum*. Ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) menunjukkan hasil serupa dengan ketepeng (*Cassia alata* L.), yaitu pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} tidak memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan *P. falciparum*.

PEMBAHASAN

Daun ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) merupakan tanaman perdu yang tingginya sampai 3 meter. Tumbuh liar di ladang-ladang atau di tempat-tempat lain yang tanahnya agak lembab sampai setinggi kira-kira 1.400 meter di atas permukaan laut. Daun ketepeng (*Cassia alata* L.) berkhasiat sebagai obat kudis dan obat malaria. Kandungan daun ketepeng (*Cassia alata* L.) mengandung alkaloid, saponin, flavonoida, tanin, dan antrakuinon. Daun ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) berkhasiat sebagai obat kudis, obat malaria, dan obat panu. Daunnya mengandung saponin, flavonoida, dan polifenol. Kedua tanaman ini secara empiris digunakan oleh masyarakat sebagai obat penurun panas pada anak yang sedang sakit.¹³

Tabel 1. Hasil Persentase Parasitemia *Cassia alata* L., *Cassia tora* L., Klorokuin dan Kontrol

Bahan Uji	Konsentrasi	Parasitemia (%)		Average (%)	Grow Rate (%)
		P1	P2		
<i>Cassia alata</i> L.	10 ⁻⁴	0.78	0.76	0.77	98
	10 ⁻⁵	0.76	0.74	0.75	96
	10 ⁻⁶	0.64	0.7	0.67	86
	10 ⁻⁷	0.68	0.66	0.67	86
	10 ⁻⁸	0.6	0.64	0.62	79
	10 ⁻⁹	0.7	0.6	0.65	83
<i>Cassia tora</i> L.	10 ⁻⁴	0.7	0.72	0.71	91
	10 ⁻⁵	0.74	0.72	0.73	94
	10 ⁻⁶	0.7	0.84	0.77	98
	10 ⁻⁷	0.8	0.56	0.68	87
	10 ⁻⁸	0.82	0.54	0.68	87
	10 ⁻⁹	0.7	0.68	0.69	88
Klorokuin	10 ⁻⁴	0.3	0.28	0.29	37
	10 ⁻⁵	0.4	0.46	0.43	55
	10 ⁻⁶	0.52	0.5	0.51	65
	10 ⁻⁷	0.62	0.56	0.59	76
	10 ⁻⁸	0.7	0.72	0.71	91
	10 ⁻⁹	0.8	0.76	0.78	100
Kontrol		0.76	0.8	0.78	100

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, didapatkan bahwa baik ketepeng (*Cassia alata* L.) maupun ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan *P. falciparum*. Hal ini disebabkan oleh pengenceran bahan uji yang digunakan terlalu encer sehingga tidak mampu memberikan efek penghambatan terhadap *P. falciparum*. Selain itu, kondisi *P. falciparum* pada saat pengujian belum mencapai kondisi optimum, sehingga IC50 sulit ditentukan karena penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* tidak mencapai 50%. Berdasarkan literatur, untuk menentukan IC50 dapat dilakukan dengan menarik garis axis pada angka 50 pada kurva linear dengan bantuan program *microsoft excel*.¹

Bahan uji pembanding, klorokuin pada konsentrasi 10⁻⁹ menunjukkan angka pertumbuhan *P. falciparum* mencapai 100%. Namun, mengalami penurunan pada pengenceran 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ dengan pertumbuhan 91%, 76%, 65%, 55%, dan 37%. Berdasarkan penelitian sebelumnya, klorokuin dapat dibuktikan mampu memberikan efek penghambatan pertumbuhan *P. falciparum*. Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka nilai IC 50 adalah 2 x 10⁻⁴ ug/mL.

KESIMPULAN

Hasil uji laboratorium ekstrak etanol daun ketepeng (*Cassia alata* L.) dan ketepeng kecil

(*Cassia tora* L.) tidak menunjukkan penghambatan pertumbuhan terhadap *P. falciparum*.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian terhadap tanaman lain yang berpotensi sebagai anti malaria yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan dari *P. falciparum*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Badan Litbang Kesehatan atas dukungan dana sehingga penelitian ini dapat terlaksana, Sekretariat Risbinkes Pusat dan Kepala Balai Litbang P2B2 Donggala, atas disetujuinya usulan penelitian ini. Terima kasih kami ucapkan kepada Prof. Gemini Alam, kepala Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin atas bimbingannya dalam pelaksanaan pengerjaan ekstrak tanaman uji. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Bapak Dr. Mukh. Syaifuddin dan kawan-kawan di Laboratorium Biologi Molekuler, PTKMR, BATAN atas bimbingan dan arahnya dalam pelaksanaan uji *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kandun N. Pencegahan dan pemberantasan penyakit menular lingkungan pemukiman. Jakarta: Departemen Kesehatan; 1995.

2. Hiswani. 2004. Gambaran penyakit dan vektor malaria di Indonesia [Diakses 15 September 2010]. Diunduh dari: <http://repository.usu.ac.id/fkm-hiswani11.pdf>.
3. Wright, C. W. 2005. Traditional antimalarials and the development of novel antimalarial drugs [cited 2010 Sept 19]. Available from : <http://digilib.unimus.ac.id/anikinaya.pdf>.
4. World Health Organization. Initiative for vaccine research, state the art of vaccine research and development. 2005. [Cited 2010 Sept 19]. Available from <http://www.who.int/vaccinesdocuments/>
5. Sandjaja B. Parasitologi kedokteran buku I: protozoologi kedokteran. Jakarta: Prestasi Pustaka Publisher; 2007.
6. Program pemberantasan malaria di Kalimantan dan Sulawesi. [Diakses 16 September 2010]. Diunduh dari: <http://www.perdhaki.org/>
7. Kusmardi. 2007. Efek imunolator ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Makara Kesehatan. 2007; 11 (2): 27-30.
8. Aryanti. 2007. Uji daya antimalaria *Artemisia* spp. terhadap *Plasmodium falciparum*. [Diakses 1 September]. Diunduh dari : http://mfi.farmasi.ugm.ac.id/files/news/5._17-2-2007-aryanti.pdf.
9. Depkes RI. 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta; 2000. h. 10-11.
10. Anonim. Tanaman obat-ketepeng kecil [Diakses 10 September 2010]. Diunduh dari : http://www.tanamanobat.com/aneka_tanaman_obat/
11. Mustofa. Aktivitas antiplasmodial *in vivo* dan mekanisme aksi senyawa turunan fenantrolin-1,10. [Diakses 2 Desember 2012]. Diunduh dari: http://mfi.farmasi.ugm.ac.id/files/news/MUSTOFA_142_-_149.pdf
12. Syamsudin. 2007. Aktivitas antiplasmodium dari dua fraksi ekstrak n-heksan kulit batang asam gandsi (*Garcinia parvifolia* Miq.) [Diakses 28 Oktober 2010]. Diunduh dari: <http://www.news-medical.net/>
13. Gunawan. Uji daya anthelmintika *in vitro* infusa daun ketepeng kecil (*Cassia tora* L.) serta skrining fitokimianya. [Diakses 21 Desember 2011]. Diunduh dari: <http://isjd.pdii.lipi.go.id/index.php/>
14. Lembaga Eijkman. Workshop: pewarnaan giemsa dan bioassays.

