

Uji daya antimalaria *Artemisia spp.* terhadap *Plasmodium falciparum*

Antimalaria test of artemisia spp. on *Plasmodium falciparum*

Aryanti ¹⁾, Tri Muji Ermayanti ²⁾, Kartika Ika Prinadi ³⁾ dan Rita Martaleta Dewi ⁴⁾

¹⁾ Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi - BATAN

²⁾ Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI

³⁾ Universitas Negeri Jakarta

⁴⁾ Pusat Penelitian dan Pemberantasan Penyakit Menular - DEPKES

Abstrak

Telah dilakukan penelitian uji daya hambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* oleh isolat *Artemisia annua*, *Artemisia cina* dan *Artemisia vulgaris* serta kandungan artemisinin pada ketiga tanaman. Daun *Artemisia* diekstrak dengan n-heksana kemudian dipisahkan secara kromatografi kolom dengan eluen n-heksan/etil asetat. Hasil pemisahan kolom diuji terhadap pertumbuhan protozoa *P. falciparum*. Konsentrasi zat uji 100, 10, 1 dan 0,1 µg/mL serta menggunakan sulfadoksin-pirimetamin sebagai kontrol positif. Kemudian dimasukkan sebanyak 50 µl suspensi sel dan diinkubasi pada 37°C selama 30 jam lalu dihitung jumlah skizon yang hidup dari 200 aseksual parasit. Hasil menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi yang diujikan makin banyak kematian parasit. Persentase kematian parasit oleh zat uji konsentrasi 100 µg/mL mendekati kontrol positif konsentrasi 300 µg/mL, yaitu masing-masing kematian oleh ekstrak *A.annua* 85,77 %, *A.cina* 78,57 dan *A.vulgaris* 84,90 % sedang kontrol positif 88,09 %. Kandungan artemisinin tertinggi terdapat pada *A.annua*, yaitu 4,99 ppm.

Kata kunci : antimalaria, *Plasmodium falciparum*, *Artemisia spp*

Abstract

The testing of inhibiton of *Plasmodium falciparum* by *Artemisia annua*, *A.cina* and *A.vulgaris* isolate and artemisinin content each of plants was conducted. *Artemisia* leaves extracted from n-hexane and then separated by column chromatography with n-hexane/ethylacetate as eluent. The column result tested to *P.falciparum* protozoa. The concentrations of agent were 100, 10, 1 and 0,1 µg/mL using sulphadoxin-pyrimetamin as a control positive. Then 50 µl of cell suspension added to agent and incubated at 37 °C for 30 hours and the number of live skizon calculated from 200 parasite asexual. The result showed that the increasing of agent concentration was increasing of parasite death. Percent of death parasite by agent of 100 µg/mL similar with positive control at the concentration of 300 µg/mL and the death by *A.annua* was 83.77 %, *A.cina* 78.57 and *A.vulgaris* was 84.90 % meanwhile positive control was 88.09 %. The highest of artemisinin content found in *A.annua* was 4.99.

Key words : anti-malaria, *Plasmodium falciparum*, *Artemisia spp.*

Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit menular dengan penderita terbesar di daerah tropis seperti Indonesia. Kejadian Luar Biasa (KLB) malaria terjadi pada tahun 1998 dengan jumlah

penderita 17.076 orang dan KLB pada tahun 2004 di kabuten Sukabumi Jawa barat dan kepulauan Karimun Riau terdapat 909 penderita malaria dan 11 orang diantaranya meninggal dunia. Pada bulan Juni 2005 juga

terjadi di kabupaten Pangkal Pinang propinsi Bangka Belitung yaitu sebanyak 5000 penduduk terserang malaria dan 6 orang diantaranya meninggal dunia.

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit bersel tunggal yang tergolong protozoa obligat intraseluler dari Plasmodium. *Plasmodium falciparum* merupakan spesies yang paling berbahaya terhadap manusia karena dapat menyebabkan infeksi akut dan berat serta dapat menimbulkan kematian. Parasit ini ditularkan kepada manusia melalui media nyamuk *Anopheles* betina (Pusarawati, 1997). Selama ini usaha pemberantasan nyamuk dilakukan dengan cara penyemprotan, namun hal ini berdampak menimbulkan masalah baru yakni pencemaran lingkungan, sedangkan pengobatan penderita malaria dengan senyawa sintetik klorokuin juga menimbulkan plasmodium resisten.

Pengobatan penyakit malaria dengan menggunakan tanaman telah dilakukan penduduk Indonesia sejak lama seperti buah mahoni dan daun *Artemisia* di Papua. *Artemisia annua*, *A.cina* dan *A.vulgaris* merupakan tanaman yang tergolong famili Asteraceae dan banyak tumbuh di daerah pegunungan dengan ketinggian 1000 M di atas permukaan laut. *A.annua* dikenal dengan nama daerah anna, *A.cina* dengan mungsi arab dan *A.vulgaris* dikenal dengan sudamala banyak terdapat di Papua.

Adanya tanaman sebagai obat mengindikasikan adanya kandungan senyawa bioaktif pada tanaman tersebut. Senyawa artemisinin merupakan senyawa yang aktif sebagai anti-malaria pada ketiga jenis tanaman *Artemisia*. Senyawa ini telah direkomendasi Depkes sebagai obat kombinasi malaria. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan daya hambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* oleh tiga spesies *Artemisia* serta kandungan senyawa artemisinin pada ketiga tanaman ini

Metodologi

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanaman *Artemisia annua*, *Artemisia cina* dan *Artemisia vulgaris* merupakan tanaman lapang yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor. Bahan kimia yang digunakan berkualitas pro analitik dari Merck Dramstad Jerman. Protozoa *Plasmodium falciparum* diperoleh

dari Namru II Depkes dan pengerjaan uji daya antimalaria dilakukan di Litbangkes Penyakit Menular Depkes.

Ekstraksi dan isolasi artemisinin

Tanamann *Artemisia annua*, *A.cina*, dan *A.vulgaris* di angin-anginkan sampai kering lalu dihaluskan dengan blender. Serbuk *Artemisia* diekstrak dengan n-heksana sehingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya, ekstrak kental diisolasi dengan kromatografi kolom dengan isi kolom silikagel dan pelarut n-heksana/etil asetat bervariasi (0/100 %). Fraksi hasil kromatografi kolom ditampung dalam botol-botol vial, sisa eluen dikeringkan sehingga diperoleh fraksi kering. Dari penelitian sebelumnya fraksi 5 merupakan fraksi yang aktif antikanker, sehingga fraksi ini yang diuji antimalaria dan ditentukan kadar artemisininnya.

Uji daya antimalaria

Sebelum melakukan uji daya hambat pertumbuhan *P.falciparum*, parasit dipersiapkan dengan cara menyediakan serum darah, eritrosit tanpa parasit dan eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dan dilakukan proses sinkronisasi. Selanjutnya fraksi 5 dengan konsentrasi 100, 10, 1 dan 0,1 µg/mL dimasukkan ke dalam lempeng sumur uji serta 50 µl suspensi sel parasit hasil proses sinkronisasi, yakni dengan parasetamia awal 0,2 – 0,8 % dan hematokrit 2 %. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam dan diberi pewarnaan giemsa selama 25 – 30 menit lalu dihitung jumlah skizon yang hidup di bawah mikroskop. Persentase kematian dihitung dengan cara membandingkan antara jumlah skizon pada zat uji dengan control terhadap 200 aseksual plasmodium.

Penentuan kadar artemisinin

Kadar artemisinin ditentukan dengan menggunakan alat HPLC dengan kolom µ-Bondapak dan pelarut methanol 90 %. Hasil kroma-tografi kolom (fraksi 5) serta standar artemisinin masing-masing sebanyak 3 µl diinjeksikan pada alat HPLC. Untuk menghitung kadar artemisinin pada sampel yaitu dengan membandingkan puncak artemisinin standar dengan puncak sampel.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil uji daya anti malaria fraksi 5 dari tanaman *A.annua* konsentrasi 100, 10, 1 dan 0,1 µg/mL terhadap *P. falciparum* (Tabel I).

Nilai IC₅₀ atau kematian 50 % plasmodium oleh zat uji yaitu pada konsentrasi 0,38 µg/mL. ini menandakan bahwa fraksi 5 pada *A.annua* sangat efektif membunuh

Tabel I. Persentase kematian *Plasmodium falciparum* oleh fraksi 5 *A.annua* pada beberapa konsentrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persen kematian (%)
100	85,77
10	70,24
1	51,69
0,1	49,25
Sulfadoksin-pirimetamin	88,09

Tabel II. Persentase kematian *Plasmodium falciparum* oleh fraksi 5 *Artemisia cina* beberapa konsentrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persen kematian (%)
100	78,57
10	63,49
1	30,56
0,1	27,38
Sulfadoksin-pirimetamin	88,09

plasmodium, dan bila dibandingkan dengan kontrol positif sulfadoksin-pirimetamin konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$ sebanding dengan *A.annua* konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel I). Hal ini dapat diasumsikan bahwa senyawa artemisinin yang berfungsi sebagai anti malaria pada *A.annua* lebih efektif dibanding sulfadoksin-pirimetamin.

Menurut DePadua *et.al* (1999) *A.annua* telah digunakan sebagai antimalaria semenjak tahun 1970, dan menurut Tan *et.al.*, (1998) tanaman yang tumbuh di Cina mempunyai daya antimalaria dengan nilai IC_{50} pada konsentrasi 0,008 $\mu\text{g/mL}$ sampai 15,38 $\mu\text{g/mL}$.

Efektifitas fraksi 5 tanaman *A.cina* terhadap kematian *P.falciparum* (Tabel II) menunjukkan bahwa daya hambat 50 % adalah pada konsentrasi 6,31 $\mu\text{g/mL}$. Menurut DePadua *et.al.*, (1999), ekstrak air tanaman ini yang sedang berbunga sangat mematikan larva nyamuk *Culex pipiens* dengan nilai EC_{50} 4 g/l setelah 24 jam perlakuan, dan sangat nyata membunuh nematode *Meloidogyne incognita* pada konsentrasi 40 ppm. Dari penelitian terdahulu, akar rambut hasil transformasi genetik tanaman ini dengan bakteri *Agrobacterium rhizogenes* menunjukkan bahwa akar tanaman ini mempunyai potensi anti kanker baik terhadap sel kanker leukemia maupun kanker mulut rahim.

Tabel III. Persentase kematian *Plasmodium falciparum* oleh fraksi 5 *Artemisia vulgaris* beberapa konsentrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persen kematian (%)
100	84,90
10	70,27
1	55,73
0,1	48,54
Sulfadoksin-pirimetamin	88,09

A.vulgaris belum banyak diteliti orang tentang kemampuannya menghambat pertumbuhan Plasmodium, namun dari Tabel III dapat dikatakan bahwa spesies ini cukup berpotensi sebagai antimalaria. Bila dibandingkan antara ketiga spesies Artemisia ini, *A.annua* merupakan spesies dengan nilai IC_{50} paling kecil dibandingkan dua spesies lainnya.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan plasmodium oleh sulfadoksin-pirimetamin yaitu dengan cara menghambat pembentukan asam folat, obat ini akan mengikat enzim dihidropoteroat sintase dan dihidrofolat reduktase. Asam folat diperlukan plasmodium untuk pembentukan asam nukleat pada inti. Sedangkan mekanisme penghambatan plasmodium oleh artemisinin yaitu melalui penghambatan enzim PfATP6 yaitu enzim yang mirip dengan enzim ATPase yang tersebar di dalam sitoplasma. Artemisinin yang terbungkus dalam gelembung membrane akan masuk ke dalam sel parasit kemudian diaktifkan oleh ion besi dekat enzim PfATP6 dalam retikulum endoplasma dan terlibat dalam reaksi reduksi hemikatalisis yang menghasilkan senyawa sitotoksik. Senyawa ini mengikat dan menghambat PfATP6 secara *irreversible* dan spesifik.

Tabel IV. Kandungan artemisinin pada ketiga spesies *Artemisia*

Artemisia	Artemisinin (ppm)
<i>Artemisia annua</i>	4,99
<i>Artemisia cina</i>	1,98
<i>Artemisia vulgaris</i>	2,55

Kandungan artemisinin dari ketiga tanaman ini dapat dilihat pada Tabel IV. Bila dikaitkan kandungan senyawa bioaktif artemisinin dari masing-masing tanaman dengan efektifitas ketiga tanaman terhadap plasmodium

memberikan korelasi yang nyata. Kandungan artemisinin pada *A.annua* paling tinggi dibandingkan dua spesies lainnya dengan daya hambat 50 % lebih kuat terhadap plasmodium.

Artemisinin termasuk golongan terpenoid sesquiterpen lakton endoperoksida dengan rumus molekul $C_{15}H_{22}O_5$. Menurut Klayman (1993), setelah artemisinin diuji coba terhadap hewan percobaan yang diinfeksi dengan malaria diperoleh bahwa senyawa ini sangat efektif membunuh plasmodium yang terdapat pada

darah hewan dan tidak menimbulkan racun dan tidak berbahaya terhadap hewan percobaan.

Kesimpulan

Dari penelitian uji daya antimalaria tiga spesies *Artemisia* terhadap *Plasmodium falciparum* dapat disimpulkan bahwa ketiga tanaman aktif sebagai antimalaria dengan tingkat kematian plasmodium 85,77 % pada konsentrasi zat uji 100 µg/mL dan semua spesies mengandung artemisinin dengan kadar tertinggi terdapat pada *A.annua* yaitu 4,99 ppm.

Daftar Pustaka

- Anonim, 1998, *Profil Kesehatan Indonesia*, Pusat Data Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Anonim, 2004, *Profil Kesehatan Indonesia*, Pusat Data Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Aryanti, 2001, Variasi kandungan artemisinin dari akar rambut dan regenerasi *Artemisiacina* sebagai antikanker, Tesis IPB
- DePadua, L.S., Bunyaphatsara N and Lemmens R.H.M.J., 1999, Plant resources of South East Asia 12, *Medicinal and Poisonous Plants*, Prosea Bogor Indonesia 139 – 142
- Klayman, D.L., *Artemisia annua*, From weed to respectable antimalarial plant. Dalam : Kinghorn, A.D., and Blaudrin M.F., (Eds.), 1993, *Human Medicinal Agents from Plants*, American Chemical Society, Washington DC, 243 – 245.
- Prinadi, I.K., 2004, Uji daya antimalaria ekstrak *Artemisia cina* terhadap *Plasmodium falciparum* secara *in vitro*, Skripsi FMIPA UNJ.
- Pusarawati, S., 1997, Daya skizontosida ekstrak daun *Cassia alata* pada biakan *in vitro Plasmodium falciparum*, Laporan Penelitian Fak. Kedokteran Universitas Airlangga.
- Tan, R.X., Zheng, W.F., and Tang, H.Q., 1998, Biological active substances from the genus *Artemisia*. *Planta Medica*, 64 : 295 – 302.