

EFEK ISOLAT AKTIF ANTIMALARIA DARI
ARTHOCARPUS CHAMPEDEN TERHADAP ERITOSIT
TERINFEKSI PLASMODIUM FALCIPARUM

*THE EFFECT OF ANTIMALARIAL ACTIVE ISOLATE FROM
ARTHOCARPUS CHAMPEDEN ON PLASMODIUM FALCIPARUM
INFECTED ERYTHROCYTE*

Tutik Sri Wahyuni⁽¹⁾, Aty Widyawaruyanti⁽¹⁾

ABSTRACT

Artocarpus champeden is Indonesian plant that has been used as antimalarial drug traditionally. Isolation of dichlorometana extract of *Artocarpus champeden* stem bark was done in this research. Antimalarial activity of isolate was done by *in vitro* method and the isolate showed potential activity as antimalarial with IC₅₀ 0,0685 µg/mL. The effect of isolate on *Plasmodium falciparum*- Infected Erythrocyte was done by light microscope and electron microscope, scanning electron microscope. The analysis by light microscope showed that isolate inhibit parasite development, from ring stage to trophozoite stage. The scanning electron microscope (SEM) analysis showed that isolate inhibited knob formation.

Key word : Artocarpus champeden, antimalarial, Knobs

⁽¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

PENDAHULUAN

Malaria merupakan satu dari penyakit yang membutuhkan perhatian besar di dunia, yang mengancam jutaan manusia setiap tahun. Di Indonesia, menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, terdapat 70 juta penduduk tinggal di daerah endemik malaria dan 56,3 juta penduduk diantaranya tinggal di daerah endemik malaria sedang sampai tinggi dengan 15 juta kasus malaria klinis. Pada 2003 malaria tersebar di 6.053 desa pada 226 kabupaten di 30 provinsi. Meskipun insiden malaria sejak tahun 2000 cenderung menurun, tetapi masih terjadi Kejadian Luar Biasa (KLB = outbreak) malaria pada 7 propinsi yang menyerang 35 desa dan menyebabkan kematian sebesar 211 orang penduduk (DepKes, 2004).

Komponen dari tanaman merupakan salah satu yang ditawarkan dalam upaya menemukan obat antimalaria. Suksesnya penemuan terhadap artemisinin dan quinine sebagai obat antimalaria yang poten, mendorong ditemukannya senyawa-senyawa baru dari tanaman yang potensial sebagai antimalaria. Sampai saat ini telah diketahui beberapa senyawa baru hasil isolasi tanaman obat dari golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid dan xanthon yang memiliki aktivitas antimalaria (Saxena *et al.*, 2003).

Di Indonesia, salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria adalah *Artocarpus champeden* Spreng (cempedak). Di Irian Jaya, secara empiris kulit batang tanaman ini telah digunakan untuk mengobati penyakit malaria disamping untuk obat disentri dan penyakit kulit (Hakim *et al.*, 1998).

Isolasi terhadap ekstrak diklorometana didapatkan isolat yang aktif sebagai antimalaria dengan IC_{50} : $0,024 \pm 0,011 \mu\text{g/ml}$ (Nuri, 2006). Penelitian selanjutnya isolasi terhadap ekstrak diklorometan *A. champeden* didapatkan sembilan isolat. Hasil uji antimalaria *in vitro* terhadap isolat-isolat tersebut

menunjukkan bahwa delapan dari sembilan isolat ekstrak diklorometana tersebut mampu menghambat pertumbuhan *P. falciparum* dengan IC_{50} pada isolat I: $0,2800 \mu\text{g/ml}$; isolat 2: $0,0083 \mu\text{g/ml}$; isolat 3: $26,2350 \mu\text{g/ml}$; Isolat 4: $0,0156 \mu\text{g/ml}$, Isolat 5: $0,05245 \mu\text{g/ml}$; Isolat 6: $0,0006 \mu\text{g/ml}$; Isolat 7: $0,0800 \mu\text{g/ml}$; isolat 8: $0,0066 \mu\text{g/ml}$; Isolat 9: $0,4999 \mu\text{g/ml}$ (Zaini, 2005). Suatu obat atau bahan obat dianggap memiliki aktivitas anti-malaria jika memiliki IC_{50} kurang dari $1 \mu\text{M}$ pada uji antimalaria *in vitro* dan kurang dari 5 -25 mg/kg BB mencit pada uji *in vivo* (Fidock, 2004).

Pemberian obat antimalaria pada eritrosit yang terinfeksi parasit dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perubahan morfologi sel parasit (Philipson, 1991). Perubahan morfologi tersebut dapat dikaitkan dengan mekanisme dan target dari obat malaria dalam membunuh parasit (Fidock, 2003). Untuk mengetahui perubahan morfologi pada parasit malaria dapat digunakan mikroskop elektron. Untuk mengetahui perubahan pada permukaan sel dapat digunakan metode *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Torii & Aikawa, 1998).

Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi ekstrak diklorometana dari *A. champeden*, selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antimalaria. Pengaruh isolat tersebut terhadap perkembangan parasit diamati dengan mikroskop cahaya sedangkan pengaruhnya terhadap pembentukan *knob* pada permukaan eritrosit terinfeksi *P. falciparum* diamati dengan *scanning electron microscope* (SEM).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kulit batang cempedak (*A. champeden* Spreng) telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat.

Kulit batang cempedak yang telah diserbuk diekstraksi berturut-turut dengan n-hexana, diklorometana, dan metanol. Fraksinasi dilakukan terhadap ekstrak diklorometana

menggunakan kolom kromatografi vakum dengan fase gerak campuran kloroform –etil asetat– metanol. Kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan kolom lambat, fase gerak kloroform-etil asetat– metanol dengan berbagai perbandingan. Fraksi yang aktif dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif menggunakan lempeng silika gel RP-18 dan fase gerak asetonitril-metanol- air. Selanjutnya isolat yang diperoleh diuji aktivitasnya secara *in vitro*. Dan pengaruh isolat terhadap perkembangan parasit diamati dengan mikroskop cahaya sedangkan morfologi eritrosit terinfeksi *Plasmodium falciparum* diamati dengan *scanning electron microscope* JOEL JSM-35. Pengamatan dengan mikroskop cahaya dilakukan pada jam ke -0, 6, 24 dan 48. Pengaman dengan SEM dilakukan pada jam ke- 6 dan 24 setelah inkubasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi terhadap 2,5 kg serbuk kulit batang *A.champeden* didapatkan ekstrak diklorometana sebanyak 20 g. Selanjutnya dilakukan isolasi dengan kromatografi kolom dan dari fraksi aktif dimurnikan dengan preparatif kromatografi lapis tipis dan didapatkan isolat sebanyak 22 mg. Hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*, isolat menunjukkan aktif sebagai antimalaria dengan nilai IC_{50} 0,0685 μ g/ml. Pengaruh isolat terhadap perkembangan parasit menunjukkan adanya hambatan perkembangan pertumbuhan parasit. Pada jam ke-0 menunjukkan stadium cincin, jam ke -6 sudah mulai ada perkembangan menuju trofozoit, pada jam ke-24 sudah berkembang menjadi trifofozoit dan skizon, dimana tampak adanya hemozoin pada vakuola makanan, selanjutnya pada jam ke-48 parasit menunjukkan stadium cincin. Sedangkan pada isolat dan kontrol positif menunjukkan gambaran yang berbeda. Pada jam ke 0-6 kontrol

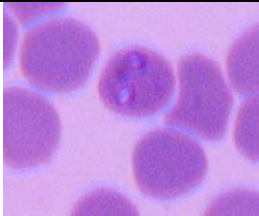
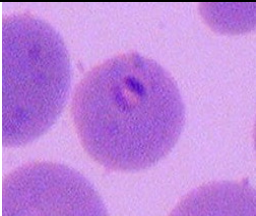
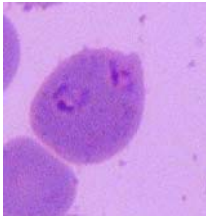
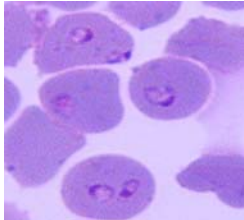
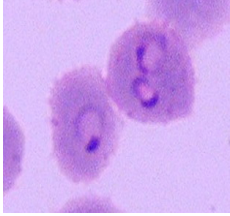
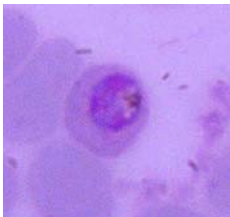
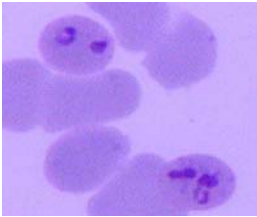
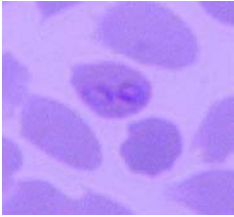
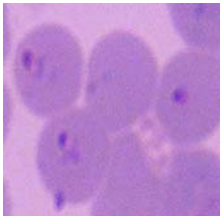
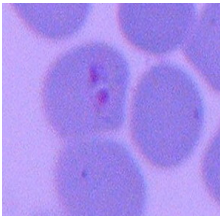
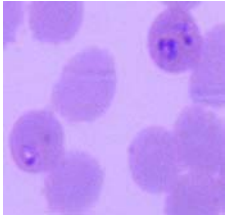
positif dan isolat berada pada stadium cincin, jam ke-24 berada pada stadium cincin dan terjadi penebalan sitoplasma tapi vakuola makanan tidak membesar, dan jam ke 48 menunjukkan stadium cincin. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan adanya hambatan perkembangan parasit dari fase ring ke trofozoit.

Pengamatan dengan SEM menunjukkan bahwa pada jam ke-24 terhadap kultur yang diberi isolat, gambaran tonjolan pada membran luar eritrosit tidak tampak dengan jelas, demikian juga pada kontrol positif. Hal ini berbeda dengan kontrol negatif dimana tonjolan pada membran luar eritrosit terlihat jelas. Dengan adanya perbedaan kondisi pembentukan *knob* pada permukaan eritrosit yang diberi isolat dengan kontrol negatif menunjukkan adanya pengaruh isolat terhadap pembentukan *knob*.

Gambaran morfologi sel dapat digunakan sebagai salah satu informasi mekanisme kerja suatu senyawa aktif antimalaria terhadap *P.falciparum*. (Hoppe *et al.*, 2004).

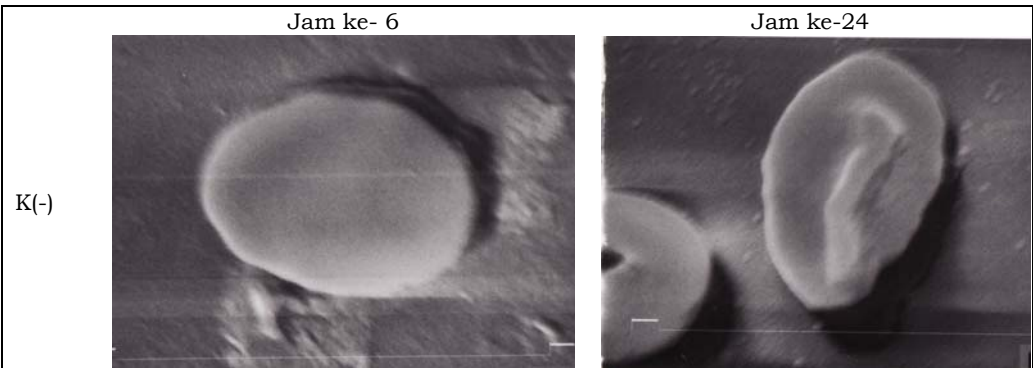
Dengan adanya perbedaan kondisi pembentukan *knob* pada permukaan eritrosit yang diberi isolat dengan kontrol negatif menunjukkan adanya pengaruh isolat terhadap pembentukan *knob*. Hambatan perkembangan pembentukan tropozoit dapat menghambat lepasnya sporozoit-sporoit baru yang akan menginfeksi eritrosit baru. Tropozoit merupakan stadium dimaka metabolisme dan pengambilan nutrisi oleh parasit paling tinggi. Adanya hambatan perkembangan parasit dari ring ke tropozoit dapat terjadi hambatan pengambilan nutrisi, hal ini dapat menyebabkan kematian parasit. Hambatan pembentukan *knob* dapat mengurangi patogenitas parasit karena cytoadheren tidak terbentuk.

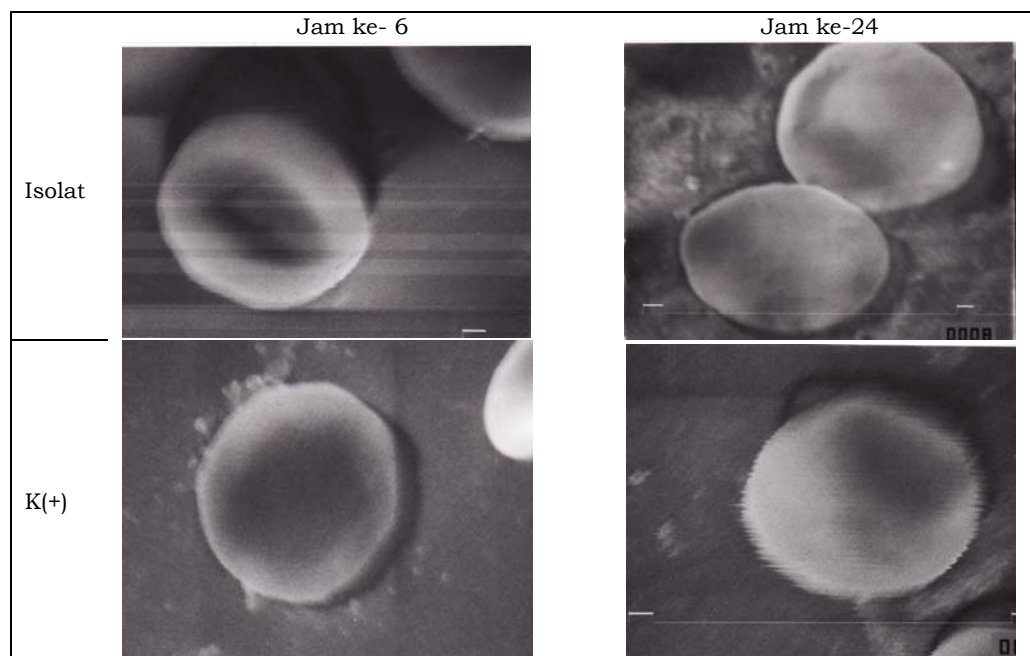
Hasil Pengamatan Perkembangan Parasit dengan Mikroskop Cahaya

Jam Ke-	Nama Sampel		
	K(-)	Isolat	K(+)
0			
6			
24			
48			

Pengamatan eritrosit terinfeksi P.falciparum dengan mikroskop cahaya

Hasil Pengamatan dengan mikroskop elektron





Gambar 2. Pengamatan eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dengan *Scanning Electrone Microscope* (perbesaran 10.000 kali).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Isolasi terhadap kulit batang *A.champeden* diperoleh isolat yang aktif sebagai antimalaria terhadap *P.falciparum* yang menghambat perkembangan parasit dari fase ring ke fase trofozoit dan menghambat pembentukan knob pada permukaan eritrosit terinfeksi *P.falciparum*.

Saran

Penelitian ini hanya digunakan SEM yang memberikan gambaran pada membran sel eritrosit yang terinfeksi, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme isolat sebagai antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

DepKes RI, 2004. Penggunaan Artemisin untuk Atasi Malaria di Daerah yang Resisten Klorokuin, Ministry of Health, Republic of Indonesia <http://www.depkes.go.id>, diakses tanggal 1 September 2006.

- Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S, 2004. Antimalarial Drug Discovery; Efficacy Models For Compound Screening, Nature Reviews, *Drug Discover*, Vol.3. p 509-520.
- Hakim EH, Marlina EE, Mujahidin D, Achmad SA, Ghisalberti EL, Makmur L, 1998. Artokarpin dan heteroflavanon-A, Dua Senyawa Flavonoid Bioaktif dari *Artocarpus champeden*, *Laporan Penelitian*, Lembaga Penelitian Institut Teknologi Bandung
- Nuri, 2006. Aktivitas Antimalaria Isolat Yang Berasal Dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.) Secara In Vitro, *Tesis*, Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS, 2003. Antimalarial Agents from Plant Sources, Review Articles, *Current Science*, Vol. 85 No. 9, p.1314-1326
- Zaini NC, Dachlan YP, Syafruddin, 2005. Potensi dan Mekanisme Aksi Senyawa Aktif Antimalaria dari Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.), *Laporan Penelitian Hibah Penelitian Tim Pascasarjana - HPTP*, Universitas Airlangga, Surabaya