

Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Kering Daun *Tithonia diversifolia* pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei* (*Antimalarial Activity of Dry Extract of Tithonia diversifolia Leaves on Plasmodium berghei Infected Mice*)

Novan Eko Setiyanggono, Nuri, Endah Puspitasari
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jln. Kalimantan No.37, Jember 68121
e-mail korespondensi: novansetya15@gmail.com

Abstract

Malaria is an infectious disease caused by Plasmodium sp. One of the herbs that are empirically used as an antimalarial is Tithonia diversifolia. Preparation of dried leaf extract of T. diversifolia used oven drying and the addition of cab-o-sil as a dryer. This study aims to determine the antimalarial activity of extracts of dried leaves of T. diversifolia. Antimalarial activity assay method used was a modified peter test. The probit analysis of this study showed that ED₅₀ value on mice given the dry extract of T. diversifolia leaves was 214 mg /kg body weight and categorized as good at classifying antiplasmodium in vivo.

Keywords: antimalarial activity, *Tithonia diversifolia*, dry extract, ED₅₀

Abstrak

Malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh plasmodium sp. Salah satu tumbuhan obat yang secara empiris digunakan sebagai antimalaria adalah *Tithonia diversifolia*. Pembuatan ekstrak kering daun *T. diversifolia* menggunakan pengering oven dan penambahan cab-o-sil sebagai pengering. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antimalaria ekstrak kering daun *T. diversifolia*. Metode uji aktivitas antimalaria yang digunakan adalah tes peter yang dimodifikasi. Analisis probit menunjukkan nilai ED₅₀ pada mencit yang diberi ekstrak kering daun *T. diversifolia* adalah 214 mg/kg BB dan termasuk kategori baik pada pengklasifikasian antiplasmodium in vivo.

Kata kunci: aktivitas antimalaria, *Tithonia diversifolia*, ekstrak kering, ED₅₀

Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Plasmodium* sp. Parasit ini bersifat intraseluler yang ditularkan oleh gigitan nyamuk Anopheles betina. Ada empat *Plasmodium* sp. yang dapat menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* dan *P. ovale* [1]. Salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai antimalaria secara empiris adalah kembang bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray)[2]. Daun *T. diversifolia* di bagian barat Kamerun digunakan dalam pengobatan demam pada anak [3]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan,

diketahui bahwa terpenoid [4] dan flavonoid [5] merupakan senyawa aktif pada daun *T. diversifolia* yang berperan pada aktivitas antimalaria. Ekstrak yang dijadikan sebagai bahan baku obat, agar dapat mencapai target pengobatan, harus diformulasi dengan formula yang sesuai. Bahan obat alam yang diformulasikan dalam bentuk sediaan farmasi seperti tablet dan kapsul pada umumnya berbentuk ekstrak. Kondisi ekstrak yang masih kental akan menyulitkan dalam formulasi, hal ini dikarenakan ekstrak masih lengket dalam wadah sehingga menyulitkan penimbangan bahan dalam penentuan dosis. Pengolahan

ekstrak kental menjadi ekstrak kering diharapkan dapat digunakan secara lebih praktis pada saat formulasi [6].

Pengeringan merupakan salah satu proses yang paling kritis dalam pengolahan tanaman obat berupa ekstrak ataupun ekstrak kering. Kualitas produk yang dihasilkan biasanya sangat dipengaruhi oleh proses pengeringan yang digunakan [7]. Salah satu pengeringan ekstrak dengan cara konveksi-kontak dengan menggunakan oven. Alat pengering oven atau *tray dryer* digunakan dalam skala produksi kecil atau skala laboratorium, keuntungan pengeringan dengan oven adalah suhu dapat diatur dan dipertahankan [8]. Teknik pengeringan selain menggunakan alat pengering juga dapat dikombinasikan penambahan adsorben sebagai pengering. Salah satu bahan pengering yang umum digunakan adalah aerosil atau cab-o-sil [9].

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kering daun *T. diversifolia* terhadap mencit yang diinfeksi *P. berghei*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental laboratories* dengan *randomized post test only control group design.*, terdiri dari 1 kelompok perlakuan dengan 4 macam dosis dan 1 kelompok kontrol negatif. Masing –masing kelompok dilakukan dengan 5 ulangan.

Populasi dan sampel pada penelitian ini adalah mencit galur Balb/C sebanyak 45 ekor.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium fitokimia dan laboratorium farmasi klinik fakultas farmasi universitas jember.

Sebanyak 250 gram simplisia daun kering dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak lima kali berat serbuk selama 24 jam. Ekstrak cair disaring untuk mendapatkan filtrat. Pemekatan ekstrak dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan ekstrak kering dilakukan dengan menambahkan bahan pengering ke dalam ekstrak kental, yaitu cab-o-sil 20%. Ekstrak kental dan cab-o-sil dioven pada suhu 70 °C selama 2 jam. Selanjutnya ekstrak kering, digerus dalam mortir hingga menjadi massa serbuk halus.

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun *T. diversifolia* yang disuspensikan dalam Tween-80 1%. Suspensi ekstrak etanol daun *T. diversifolia* dibuat dengan dosis 40, 80, 160 dan 320 mg/kg BB.

Uji antimalaria pada ekstrak kering dilakukan pada dua kelompok yang telah diinokulasi *P. berghei* yaitu ekstrak kering daun *T. diversifolia* dan kontrol negatif. Suspensi ekstrak kering sebanyak 0,2 ml disiapkan pada alat sonde yang akan digunakan. Kelompok hewan uji diberikan bahan uji per oral sesuai dengan dosis selama 4 hari (H_0 sampai dengan H_3) dan hari ke-5 (H_4) hanya dilakukan pengamatan sesuai dengan metode uji antimalaria Tes Peter dengan modifikasi dosis. Hapusan darah dibuat dari 1 tetes darah yang diambil dari bagian ekor mencit dan diletakkan di atas *object glass*, kemudian diratakan dengan bantuan *cover glass*. Hapusan darah dibiarkan sampai kering di udara terbuka. Lapisan tipis tersebut kemudian difiksasi dalam metanol absolut selama kurang lebih 1 detik lalu dikeringkan di udara terbuka. Terakhir ditambahkan pewarna Giemsa 20% dan biarkan selama 20 menit kemudian dibilas dengan air mengalir lalu dikeringkan di udara terbuka. Hapusan darah yang telah kering diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Persen parasitemia dihitung dengan rumus sebagai berikut

$$\% \text{Parasitemia} = \text{Jumlah eritrosit terinfeksi} / 1000 \text{ eritrosit} \times 100\%$$

Persentase pertumbuhan parasit adalah pengurangan persentase derajat parasitemia rata-rata pada H_4 (hari kelima) oleh persentase derajat parasitemia rata-rata pada H_0 (hari pertama). Persentase pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus:

$$\% \text{pertumbuhan} = A - B$$

Keterangan:

A: %parasitemia rata-rata H_4

B: %parasitemia rata-rata H_0

Perhitungan persentase penghambatan dengan rumus:

$$\% \text{penghambatan} = 100\% - (X_e / X_k \times 100\%)$$

Keterangan :

X_e : persen pertumbuhan rata-rata parasit yang diberi bahan uji dosis tertentu

X_k : persen pertumbuhan rata-rata parasit pada kontrol negatif

Data yang diperoleh berupa persen hambatan terhadap pertumbuhan *P. berghei* akibat pemberian ekstrak etanol daun *T. diversifolia*

dengan perbedaan suhu pengeringan. Data ini kemudian dianalisis dengan analisis probit untuk menghitung ED₅₀ Aktivitas antiplasmodium *in vivo* dapat diklasifikasikan menjadi moderat (250-500 mg/kg BB), baik (100-250 mg/kg BB), dan sangat baik (<100 mg/kg BB) .

Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimalaria ekstrak kering daun *T. diversifolia* dalam menghambat pertumbuhan *P. berghei*. Ekstrak kering daun *T. diversifolia* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ekstrak kering daun *T. diversifolia*

Persen rendemen yang dihasilkan dari proses ekstraksi sebesar 16,04%.

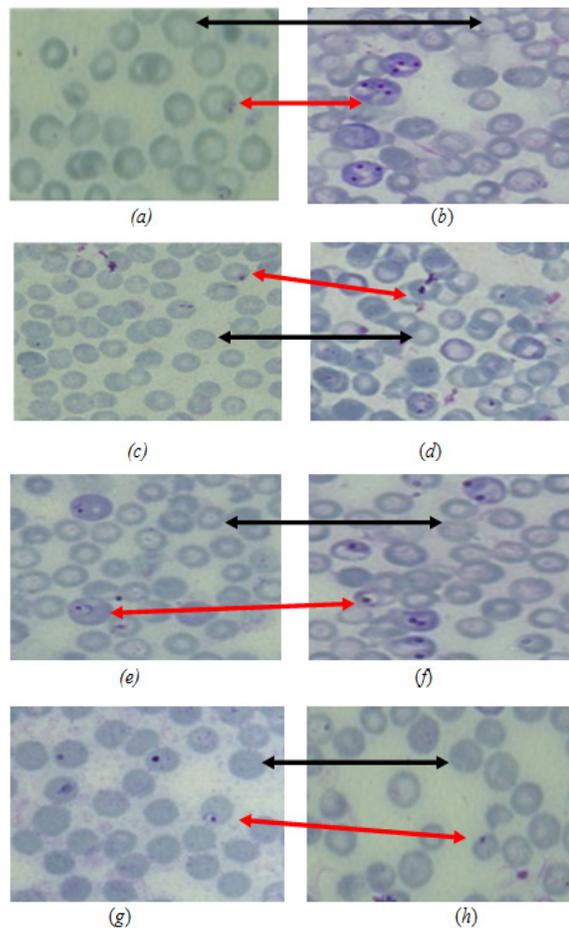
Persen pertumbuhan dan penghambatan parasit *P. berghei* oleh ekstrak kering daun *T. diversifolia* dan kontrol negatif ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Persen penghambatan ekstrak kering daun *T. diversifolia* terhadap *P. berghei*

Perlakuan	Dosis Perlakuan (mg/kg BB)	Persen Penghambatan (%)*
Ekstrak kering daun <i>T. diversifolia</i>	40	19,34 ± 1,32
	80	34,37 ± 6,54
	160	48,21 ± 3,25
	320	57,45 ± 5,72
Kontrol (-) CMC-Na	1 gram / 100 ml	0 ± 0

*Data Persen Penghambatan Mean ± CV (n = 3).

Profil hapusan darah mencit pada hari pertama (H₀) dan hari kelima (H₄) setelah pemberian ekstrak kering daun *T. diversifolia* dengan berbagai dosis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambar mikroskopis hapusan darah mencit dengan pewarna Giemsa setelah pemberian ekstrak kering daun *T. diversifolia* perbesaran 1000 kali, (a) H₀ dosis 40 mg/kgBB; (b) H₄ dosis 40 mg/kgBB; (c) H₀ dosis 80 mg/kgBB; (d) H₄ dosis 80 mg/kgBB; (e) H₀ dosis 160 mg/kgBB; (f) H₄ dosis 160 mg/kgBB; (g) H₀ dosis 320 mg/kgBB; (h) H₄ dosis 320 mg/kgBB. Tanda panah hitam menunjukkan eritrosit normal, sedangkan tanda panah merah menunjukkan eritrosit terinfeksi *P. berghei*.

Pembahasan

Bahan obat dari tanaman herbal pada umumnya berbentuk ekstrak kental. Penggunaan ekstrak kental dalam pembuatan sediaan farmasi berupa tablet dan kapsul akan mengalami kesulitan karena bentuk ekstrak yang masih kental dapat menyulitkan dalam perhitungan dosis dan adanya ekstrak mudah lengket pada wadah. Oleh sebab itu, ekstrak

kental diubah menjadi ekstrak kering agar mempermudah dalam formulasi sediaan farmasi dari tanaman herbal

Hasil pemberian ekstrak kering daun *T. diversifolia* menunjukkan semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi % penghambatan terhadap *P. berghei*. Nilai ED₅₀ menunjukkan besarnya dosis bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan parasit hingga 50%. Semakin kecil nilai ED₅₀, maka semakin besar efektivitas bahan uji dalam menghambat pertumbuhan *P. berghei*. Nilai ED₅₀ pada mencit yang diberi ekstrak kering daun *T. diversifolia* adalah 214 mg/kg BB. Berdasarkan hasil analisis probit untuk menentukan nilai ED₅₀ ekstrak kering daun *T. diversifolia* termasuk dalam kategori baik dalam aktivitasnya sebagai antiplasmodium *in vivo*.

Daun *T. diversifolia* dilaporkan mengandung terpenoid jenis seskuiterpena lakton *tagitinin C* sebagai komponen aktif terhadap plasmodium [10]. Artemisinin adalah endoperoksida seskuiterpena lakton dan merupakan kandungan utama dalam tanaman *A. annua* L dengan adanya persamaan jenis terpenoid yang terkandung pada artemisinin dan *tagitinin C* dimungkinkan mekanisme kerja terpenoid pada daun *T. diversifolia* sama dengan terpenoid yang terkandung pada *A. annua* L. Mekanisme aksi artemisinin dan turunannya sebagai antimalaria terjadi melalui banyak mekanisme dan belum bisa dibuktikan secara pasti. Mekanisme-mekanisme tersebut adalah penghambatan polimerisasi hem menjadi hemozoin melalui pembentukan radikal bebas dari seskuiterpena lakton yang akan mengoksidasi hem membentuk kompleks hem-artemisinin, penghambatan proses respirasi pada mitokondria, dan penghambatan transporter ion Ca²⁺ yang disebut PfATP6, suatu *sarcoendoplasmic reticulum calcium-dependent* ATPases (SERCAs) yang hanya terdapat pada *P. falciparum* [11].

Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif yang pada daun *T. diversifolia* yang berperan pada aktivitas antimalaria, beberapa pustaka menyebutkan mekanisme flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan parasit memiliki mekanisme aksi dengan dua target utama, pertama pada membran yang dibentuk parasit malaria stadium intraeritrositik yaitu Jalur Permeasi Baru (NPP = *New Permeation Pathway*) dengan cara menghambat transport nutrisi yang dibutuhkan parasit dan vakuola makanan parasit malaria yaitu dengan

menghambat proses degradasi hemoglobin menjadi heme [12].

Simpulan dan Saran

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kering daun *T. diversifolia* mampu menghambat pertumbuhan *P. berghei* dengan nilai ED₅₀ 214 mg/kg BB.

Penelitian lanjutan yang dapat dilakukan adalah formulasi ekstrak kering daun *T. diversifolia* dan megisolasi senyawa aktif pada daun ekstrak *T. diversifolia* yang diduga berperan pada aktivitas antimalaria.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Daftar Pustaka

- [1] Departemen Kesehatan RI. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan; 2008.
- [2] Akobundu, I.O dan Agyakwa G.W. *A Handbook of West African Weeds*. Ibadan: Intec Printers; 1998.
- [3] Titanji, V.P.K, Zofou D. Ngemeneya M.N et al. The Antimalarial Potential of Medicinal Plants used for the Treatment of Malaria in Cameroonian Folk Medicine. *African Journal Traditional CAM*. 2008; 5 (3): 302-321.
- [4] Firdausi, M.G. 2013. Uji Aktivitas Antimalaria Isolat Terpenoid Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- [5] Juita, A.P. 2013. Uji Aktivitas Antimalaria Fraksi Kaya Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Jember: Universitas Jember
- [6] Sembiring, B.B. Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan Cara Pengeringan Terhadap Mutu Ekstrak Kering Sambilo. *Buletin Littro*. 2009 Oktober; 20(2): 173-181.

- [7] Fennell, C.W, M.E. Light, S.G. Sparg, G.I. Stafford, J. van Staden, et al. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: agricultural and storage practices. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004 September; 95: 113-121.
- [8] Harisson, J.A dan Elizabeth L, A. *Preserving Food: Drying Fruits and Vegetables*. Georgia: University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences; 1914.
- [9] Mengesha, A.E. Isolation, Structural Elucidation, Quantification And Formulation Of The Saponins And Flavonoids Of The Seeds Of *Glinus Lotooides*". Tidak Diterbitkan. Disertasi. Tübingen: Eberhard-Karls-Universität; 2005.
- [10] Goffin, E., Ziemons, E., De M. P., Do Ceu De Madureina, dan Martins M. *In vitro* Antiplasmodial Activity of *Tithonia diversifolia* and Identification of its main Active Constituent: Tagitinin C. *Planta Medica*. 2002 Juni; 68 (6): 543-545.
- [11] Meschnick, S.R, T.E Taylor, S. Kamchonwongpaisan, et al. Artemisinin and the Antimalarial Endoperoxides: from Herbal Remedy to Targeted Chemotherapy. *Microbiological Reviews*. 1996 Juni; 60 (2): 301-315.
- [12] Ginsburg, H. Transport Pathways in the Malaria-Infected Erythrocyte: Characterization and their Use as Potential Targets for Chemo therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1994; 89 (2): 99-109.