

Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Air Bunga *Carthamus tinctorius* L. pada Biakan *In Vitro Plasmodium falciparum*

Wahyuni, Nur Illiyyin Akib, Rini Hamsidi*

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari 93232

Abstrak

Pengujian aktivitas antimalaria dengan menggunakan ekstrak air bunga *Carthamus tinctorius* L. pada biakan *in vitro plasmodium falciparum* strain 3D7 yang sensitif terhadap klorokuin telah dilakukan. Uji aktivitas dilakukan dengan cara melarutkan bahan uji dalam DMSO kemudian dibuat serial pengenceran dalam media RPMI sampai diperoleh konsentrasi akhir sebesar 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml, 0,1 µg/ml dan 0,01 µg/ml. Pada larutan uji ditambahkan suspensi parasit dengan kadar parasitemia ±1% dan hematokrit 5%. Kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Hasil menunjukkan pengujian aktivitas antimalaria dari ekstrak air bunga *Carthamus tinctorius* L. memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Plasmodium falciparum* strain 3D7 sebesar 52,68%.

Kata Kunci : Bunga *Carthamus tinctorius* L, Antimalaria, *Plasmodium falciparum* 3D7, dan Ekstrak air.

1. Pendahuluan

Penyakit malaria merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Angka kesakitan penyakit ini masih cukup tinggi, terutama di daerah Indonesia bagian timur. Di daerah transmigrasi dimana terdapat campuran penduduk yang berasal dari daerah yang endemis dan tidak endemis malaria, di daerah endemis malaria masih sering terjadi letusan kejadian luar biasa (KLB) malaria. Malaria dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi yaitu bayi, anak balita, ibu hamil, selain itu malaria secara langsung menyebabkan anemia dan dapat menurunkan produktivitas kerja [1].

Dalam rangka pengendalian penyakit malaria banyak hal yang sudah maupun sedang dilakukan baik dalam skala global maupun nasional. Malaria merupakan salah satu indikator dari target Pembangunan Milenium (MDGs), dimana ditargetkan untuk menghentikan penyebaran dan mengurangi kejadian insiden malaria pada tahun 2015 yang dilihat dari indikator menurunnya angka kesakitan dan angka kematian akibat malaria. *Global Malaria Programme (GMP)* menyatakan bahwa malaria merupakan penyakit yang harus terus menerus dilakukan pengamatan, monitoring dan evaluasi, serta diperlukan formulasi kebijakan dan strategi yang tepat. Di dalam GMP ditargetkan 80% penduduk terlindungi

dan penderita mendapat pengobatan Artemisinin based Combination Therapy (ACT). Dan melalui Roll Back Malaria Partnership ditekankan kembali dukungan tersebut. Karena pentingnya penanggulangan Malaria, maka beberapa partner internasional salah satunya *Global Fund*, memberikan bantuan untuk pengendalian malaria [2].

Program eliminasi malaria di Indonesia tertuang dalam keputusan Menteri Kesehatan RI No 293/MENKES/SK/IV/2009. Pelaksanaan pengendalian malaria menuju eliminasi dilakukan secara bertahap dari satu pulau atau beberapa pulau sampai seluruh pulau tercakup guna terwujudnya masyarakat yang hidup sehat yang terbebas dari penularan malaria sampai tahun 2030.

Bunga Kasumba turate (*Carthamus tinctorius* Linn) dari suku Asteraceae merupakan tumbuhan obat tradisional yang secara empiris digunakan masyarakat sulawesi selatan untuk pengobatan campak yang diberikan dengan cara diseduh dengan air panas untuk meningkatkan sistem daya tahan tubuh atau yang kita kenal dengan sistem imun. Penelitian dengan ekstrak etanol dari kasumba turate memberikan peningkatan aktivitas imunoglobulin G (IgG) dan aktivitas imunoglobulin A (IgA) memberikan peningkatan yang sangat signifikan. Bunga yang kering juga digunakan

* KBK Farmakologi dan Farmasi Klinik FF UHO,
Email : wahyunimipa@gmail.com

sebagai emenagoga, laksans dan stimulan. Selain itu, minyak bijinya digunakan sebagai campuran bahan kosmetik [3]. Efek imunomodulator dari ekstrak air putik bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* Linn) yang diuji pada mencit menstimulasi respon imun selular menunjukkan hasil yang sangat signifikan. Pada uji terhadap respon imun nonspesifik, dosis 1,95 dan 3,90 mg/kg bobot badan yang meningkatkan kecepatan fagositosis yang terlihat dari indeks fagositik : 1,72 dan 1,88 ($K > 1,5$) dikategorikan bersifat imunostimulasi kuat. Aktivitas IgA, IgM dan IgG pada seduhan menggunakan air panas memberikan peningkatan yang sangat signifikan [4].

Peningkatan sistem imun termasuk pemberian imunostimulan dapat mengobati penyakit infeksi. Kekebalan tubuh adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun dan reaksi yang dikoordinasi sel-sel dan molekul-molekul terhadap parasit, mikroba dan bahan lainnya disebut respon imun. Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidupnya. Aktivitas sistem imun sangat membantu untuk mengatasi penurunan sistem imun. Ada dua golongan imunostimulan yaitu imunostimulan biologi dan imunostimulan sintetik. Contoh imunostimulan biologi antara lain hormon timus, limfokin, interferon, antibodi monoklonal, jamur dan tumbuhan. Bahan imunostimulan yang berasal dari tumbuhan dapat diisolasi dari pegagan, mahkota dewa, daun dewa, sambiloto, jahe, mengkudu, meniran. Contoh imunostimulan sintetik antara lain levamisol, isoprinosin serta muramil peptidase. Fagositosis merupakan respon awal pertahanan tubuh pada saat terjadi penyakit dan yang berperan dalam hal ini adalah sistem retikuloendotelial (monosit dan makrofag) [3].

Salah satu alternatif dalam menanggulangi penyakit ini adalah dengan mengembangkan konsep pengobatan imunoterapi, yaitu pemberian suatu obat baik senyawa sintesis maupun bahan alam (dari tanaman) yang dapat meningkatkan fungsi komponen sistem imun tubuh terhadap infeksi malaria. imunitas terhadap infeksi malaria melibatkan respon imun seluler dan humoral. Respon imun seluler yang diperantarai oleh limfosit T memegang peranan penting terhadap infeksi sporozoit intraseluler (skizogoni ekstra-eritrositik).

Berdasarkan aktivitas imunomodulator yang dimiliki oleh kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L), maka ingin diketahui apakah ekstrak air dari infusa bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L) yang diketahui sebagai suatu imunomodulator juga dapat meningkatkan aktivitas sel imunokompeten yang

berperanan dalam imunitas terhadap infeksi malaria. Hal ini perlu dilakukan untuk mendapatkan landasan ilmiah penggunaan kasumba turate (*carthamus tinctorius*) sebagai imunoterapi untuk penyakit malaria.

2. Bahan dan Metode

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian antara lain mikropipet, erlenmeyer, gelas ukur, vial, panci infusa, neraca analitik; *Laminar Air Flow*, inkubator, autoklaf, lemari pendingin, eksikator (*Candle-jar*), membran filter 0,22 μm , pipet, *Petri-dish*, lempeng sumur mikro (*microplate*), botol medium steril, sentrifuse. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah Akuades, bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L) yang diperoleh di Kendari dan telah di determinasi oleh LIPI Purwodadi. Parasit yang digunakan adalah *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang diperoleh dari Laboratorium Malaria, TDC Universitas Airlangga, Surabaya.

2.2 Pembuatan Infusa Bunga *C. tinctorius* L.

Bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L.) sebanyak 60 gram dibasahi dengan 200 ml air suling, direndam beberapa saat kemudian ditambahkan air 600 ml dan dipanaskan. Setelah suhu mencapai 90° C dipanaskan selama 15 menit, lalu diangkat dan diserkai. Setelah itu di uapkan airnya dengan menggunakan pengering beku (*freeze dryer*). Ekstrak air kering yang diperoleh di simpan di dalam lemari pendingin.

2.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Kultur parasit yang digunakan untuk pengujian ini dipersiapkan menurut metode dasar yang dikembangkan oleh Trager & Jensen [5]. Pembiakan dilakukan di dalam cawan Petri dan dikerjakan secara aseptik. Kultur *P. falciparum* diperoleh dari simpanan beku yang di *thawing* dan dibiakkan. Bahan uji ekstrak air bunga *C. tinctorius* L. dilarutkan dengan DMSO dan disaring secara steril dengan membran filter 0,22 μm . Larutan uji kemudian dimasukkan ke dalam *microplate* yang berisi suspensi parasit dengan tingkat parasitemia 1% kemudian diencerkan dengan medium sehingga diperoleh konsentrasi akhir bahan uji di dalam *microplate* sebagai berikut : 100; 10; 1,0 ; 0,1 dan 0,01 $\mu\text{g/mL}$.

Kontrol negatif digunakan DMSO yang diencerkan dengan cara yang sama seperti cara pengenceran bahan-bahan uji di atas, sehingga diperoleh konsentrasi DMSO akhir yang tidak lebih dari 0,5%. Campuran bahan uji

dan suspensi parasit dimasukkan ke dalam *candle-jar* dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C selama 48 jam.

Setelah diinkubasi selama 48 jam, dibuat hapusan darah tipis di atas kaca preparat. Hapusan dikeringkan pada suhu kamar, difiksasi dengan metanol, kemudian setelah kering diwarnai dengan Giemsa dan dihitung parasitemianya di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Penghitungan dilakukan terhadap 5000-an eritrosit.

2.4 Data dan Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian aktivitas antimalaria secara *in-vitro* diatas adalah berupa jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit (yang dihitung terhadap 5000-an eritrosit) yang selanjutnya dikonversikan menjadi tingkat parasitemia (persen parasitemia) dan persen penghambatan zat uji terhadap pertumbuhan parasit.

$$\% \text{Parasitemia} = \frac{\sum_{er} y}{\sum_{er} t_i} \times 100\% \quad .. (1)$$

Persentase penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = 100\% - \left[\frac{X}{X'} \right] \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Dari data penghambatan dan konsentrasi bahan uji kemudian dilakukan perhitungan IC₅₀, yaitu konsentrasi bahan uji yang menghambat pertumbuhan parasit sebesar 50% dengan menggunakan analisis probit.

2.5 Pengamatan dan Pengolahan Data

Pengamatan dan pengumpulan data berdasarkan diameter zona hambatan yang dilakukan setelah inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya data diolah secara statistik dengan metode analisis Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi

Ekstrak air kering sebanyak 5,3 gram diperoleh dari 60 g simplisia kering bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L.) secara infusa. Infusa dipilih dalam penelitian ini karena secara empiris penggunaan bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) digunakan dengan cara diseduh dengan air panas.

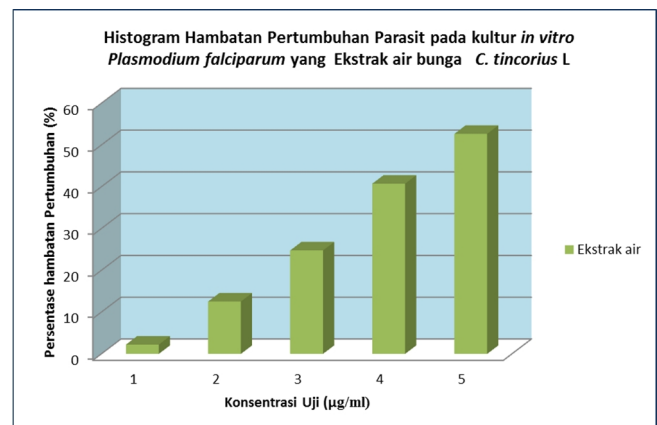
Pemilihan simplisia yang kering dengan kadar air yang diperkirakan kurang dari 10% bertujuan untuk

memperpanjang masa simpan suatu bahan sehingga kemungkinan rusak karena jamur sangat kecil. Infusa bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) yang telah diperoleh kemudian dikeringkanc menggunakan *freeze dryer* sehingga diperoleh ekstrak air kering bunga *C. tinctorius* L. Hal ini dilakukan agar diperoleh ekstrak air yang lebih stabil dalam penyimpanan dibandingkan dalam bentuk larutan infusa.

3.2 Uji Aktivitas Antimalaria

Pada ekstrak air bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) dilakukan pengujian aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7. *Plasmodium falciparum* merupakan penyebab malaria paling berbahaya dibandingkan plasmodium lain seperti *P.vivax*, *P. Malariae* dan *P. Ovale*, karena menyebabkan angka kesakitan dan kematian yang tinggi.

Histogram (**Gambar 1**) memperlihatkan ekstrak air memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Pada konsentrasi uji 100 µg/mL, ekstrak air memiliki daya hambat 52,68%. Kemampuan daya hambat meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi uji. Hal ini menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak air bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) tergantung dari konsentrasi yang diberikan selama pengujian.



Gambar 1. Histogram hambatan pertumbuhan parasit pada kultur *in vitro Plasmodium falciparum* yang diberi ekstrak air dengan berbagai konsentrasi.

Ekstrak air bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap *Plasmodium falciparum* penyebab malaria, oleh karena itu dapat dinyatakan bahwa ekstrak air mengandung senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun sehingga dapat melawan parasit malaria yang ditunjukkan dengannya aktivitas penghambatan, hal ini sesuai dengan yang telah diteliti oleh Usmar dkk bahwa seduhan bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L)

memperlihatkan efek meningkatkan aktivitas kedua jenis antibodi, yaitu imunoglobulin M (IgM) dan imunoglobulin G (IgG).

Pada infeksi malaria, sistem imun terpacu terhadap berbagai stadium parasit dan menstimulasi baik mekanisme imun humoral maupun seluler. Pertahanan inang yang bekerja langsung atau secara tidak langsung pada replikasi parasit dapat merusak atau membunuh sel yang terinfeksi. Imunitas terhadap infeksi malaria sangat kompleks, yaitu melibatkan imunitas humoral yang diperantarai oleh antibodi spesifik dan imunitas seluler yang diperankan oleh komponen seluler dari sistem imun tubuh.

Imunoglobulin adalah molekul dalam serum yang mampu menetralkan sejumlah mikroorganisme penyebab infeksi. Molekul ini dibentuk oleh sel B dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai reseptor permukaan untuk antigen dan sebagai antibodi yang disekresikan ke dalam cairan ekstra-seluler. Masuknya suatu substansi asing ke dalam tubuh mampu membuat respon imun akan menghasilkan antibodi spesifik yang muncul dalam serum setelah berlangsung beberapa waktu. Imunogen akan menyebabkan pengiriman sinyal pada sel-sel yang bertugas membuat antibodi [3].

Tabel 1. Persen hambatan rata-rata dan nilai IC_{50} ekstrak etanol, ekstrak metanol dan ekstrak air terhadap pertumbuhan *Plasmodium falciparum* *in vitro*

Ekstrak	Hambatan pertumbuhan pada konsentrasi uji ($\mu\text{g/mL}$)					IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	100	10	1	0,1	0,01	
Ekstrak air	52,68	40,74	24,77	12,53	2,23	> 50

Ekstrak yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 25 $\mu\text{g/mL}$ dapat dikatakan efektif sebagai antimalaria [6]. Data pada tabel tersebut di atas menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak air lebih besar dari nilai yang disebutkan oleh Kohler. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa ekstrak air bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) kurang efektif sebagai antimalaria.

Akan tetapi, ekstrak air bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7 pada konsentrasi uji yang diberikan namun tidak signifikan dalam penghambatannya dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini memberikan gambaran bahwa kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalam bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L) ini belum tersari secara sempurna di dalam pelarut air yang dibuat secara infusa.

4. Kesimpulan

Ekstrak air bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) menghambat pertumbuhan *P. falciparum* strain 3D7 sebesar 52,68 % namun dilihat dari nilai IC_{50} bunga kasumba turate (*C. tinctorius* L.) kurang efektif digunakan dalam menghambat pertumbuhan parasit malaria.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Fakultas Farmasi UHO yang telah mendanai secara internal penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. *World Malaria Report 2010*. 2010; hal. 32-33.
2. Kementerian Kesehatan RI. Epidemiologi malaria di Indonesia. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*. 2011; hal. 7-8.
3. Usmar, Syukur R, Tayeb R, Abdullah A. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 2010, 14(1); hal. 19.
4. Ermina P, Usmar, Syukur R. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 15 No. 1.
5. Trager W, Jensen JB, 1976. Human Malaria Parasites in Continuous Culture, *Sci* 193: 673-675.
6. Waters A, dan Chris J. *Drug-Resistant Malaria*. Atlanta: Leiden University Medical Center. 2005.