

Aktivitas Antimalaria Ekstrak *n*-Hexana Daun Artemisia Cina Galur Iradiasi terhadap *Plasmodium berghei* ANKA

Antimalaria Activity of *n*-Hexane Extract from Artemisia Cina Galur Leaves Irradiation to *Plasmodium berghei* ANKA

DARLINA¹, ARYANTI², TEJA K¹., AZIZ A³

¹ Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi- BATAN

² Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi-BATAN

³ Jurusan Farmasi FMIPA ISTN

Diterima 28 Desember 2015, Disetujui 15 Agustus 2016

Abstrak: Teknik mutasi dengan iradiasi telah terbukti meningkatkan kandungan artemisinin dalam daun. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antimalaria ekstrak daun galur radiasi 10, 20, dan 40 Gy serta optimasi dosis terapi bertujuan untuk mendapatkan ekstrak daun yang mempunyai aktivitas antimalaria yang terbaik dan dosis terapi yang optimum. Penelitian Tahap Optimasi dosis radiasi dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan mencit yang diinfeksi dengan 1×10^7 *P. berghei* yang di bagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol positif, dosis 10 Gy, dosis 20 Gy, dosis 40 Gy. Pemberian artemisinin dilakukan selama 3 hari setelah derajat parasitemia telah mencapai 5%. Pengamatan parasitemia dilakukan setiap hari hingga hari ke-7 paska terapi. Hasil penelitian diketahui artemisinin 10 Gy memberikan hasil yang terbaik karena pertumbuhan parasitnya paling rendah dan mencit bertahan hidup lebih lama. Tahap optimasi dosis terapi dilakukan dengan metode yang sama dengan variasi dosis terapi 100, 200, dan 300 mg/kg BB. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun galur mutan bisa menghambat pertumbuhan *P.berghei* secara signifikan ($p < 0,05$) terhadap kontrol dengan Efektif dosis (ED50) dari 238,7 mg /kg BB. Kesimpulan ekstrak daun galur mutan 10 Gy yang terbaik dengan efektif dosis terapi (ED50) 238,7 mg/kg BB.

Kata kunci: Artemisinin, *P. berghei*, radiasi

Abstract: Mutation techniques with irradiation has been shown to increase the artemisinin content of the leaves. In this study antimalarial activity test of leaf extracts radiation strains 10, 20, and 40 Gy and dose optimization of therapy aims to get leaf extract which has antimalarial activity of the best and optimum therapeutic dose. Research phase radiation dose optimization is done *in vivo* using mice infected with 1×10^7 *P. berghei* were divided into 4 groups: positive control, radiated 10 Gy, 20 Gy, 40 Gy. Giving artemisinin conducted for 3 days after the degree of parasitaemia has reached 5%. Observations parasitaemia was performed daily until day 7 post-treatment. The survey results revealed artemisinin 10 Gy provide the best results for the lowest parasite growth and the mice live longer. Phase therapeutic dose optimization performed by the same method with a variety of therapeutic doses of 100, 200, and 300 mg / kg. The results showed the mutant strains leaf extract can inhibit the growth *P.berghei* significantly ($p < 0.05$) against a control with ED 238,7 mg/kg body weight. Conclusion leaf extract mutant 10 Gy with efektif of therapeutic dose (ED50) 238,7 mg / kg BW.

Keywords: Artemisinin, *P. berghei*, radiation

* Penulis korespondensi, Hp. (021) 7513906
e-mail: mdarlina@batan.go.id

PENDAHULUAN

PENDERITA yang terinfeksi malaria di dunia pada 2 dekade terakhir meningkat dua kali terutama disebabkan oleh munculnya strain *P. falciparum* yang resisten terhadap obat malaria yang tersedia Transfersom yang juga dikenal dengan nama lain *deformable vesicle* atau *elastic liposom*, merupakan suatu bentuk teknologi nano vesikel yang unik dan menarik, terutama klorokuin dan turunannya⁽¹⁾. Demikian pula hal yang dihadapi Indonesia pelaksana program dalam pemberantasan malaria⁽²⁾. Kegagalan program penanggulangan malaria antara lain disebabkan oleh adanya penyebaran yang luas dari resistensi obat antimalaria lini pertama (monoterapi) dan resistensi terhadap obat-obat lain (*multidrug resistance*)⁽²⁾. Sehingga diupayakan untuk mencari alternatif tanaman lain yang mampu mengatasi penyebab penyakit tersebut.

Pada tahun 2000 Menteri Kesehatan mencanangkan Gerakan Berantas Malaria (Gebrak Malaria) melalui tiga strategi, salah satunya yaitu mengembangkan pemakaian obat anti malaria untuk pencegahan dan pengobatan. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan adalah artemisia⁽³⁾. Tanaman artemisia merupakan tanaman yang berasal dari daerah sub tropis (iklim temperate) mempunyai banyak species berkisar 200-400 spesies. *Artemisia cina* atau *A. vulgaris* dan *A. annua* L. Merupakan spesies artemisia yang telah banyak dikembangkan untuk obat antimalaria karena mengandung bahan aktif artemisinin yang sangat efektif mengatasi penyebab penyakit malaria tersebut, yang telah resisten terhadap kina (quinine). Artemisinin adalah metabolit sekunder yang mempunyai potensi sebagai antimalaria⁽⁴⁾.

Artemisinin bekerja sebagai skizonsid. Selama pertumbuhan parasit *Plasmodium* mencerna hemoglobin, memproduksi Fe^{2+} heme yang akan teroksidasi menjadi Fe^{3+} heme sehingga parasit menyerap dalam bentuk hemozoin di vakuola pencernaan. Diduga artemisinin masuk ke dalam vakuola makanan dan mengganggu detoksifikasi heme. Artemisinin merupakan senyawa sesquiterplankton dapat berinteraksi dengan ferriprotophyril IX (heme) dalam vakuola makanan parasit yang bersifat asam dan menghasilkan spesies radikal yang bersifat toksik⁽⁵⁾.

Artemisinin diperoleh dengan cara mengekstrak daun atau batang tanaman *Artemisia* sp. Senyawa tersebut merupakan kelompok sesquiterpenlaktone dengan jembatan endoperoksida yang jarang ditemui di alam. Artemisinin merupakan senyawa yang sulit untuk disintesis, maka cara yang paling mudah dan murah untuk memperoleh artemisinin adalah dengan

mengekstraknya langsung dari tanaman⁽⁶⁾.

Salah satu masalah dalam pengembangan tanaman artemisia di Indonesia adalah genotipe yang tersedia saat ini mempunyai kandungan artemisinin yang sangat rendah, yaitu tidak lebih dari 0,5% sehingga tidak ekonomis bagi pengusaha yang akan mengembangkannya. Dalam bidang pemuliaan tanaman, teknik mutasi dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki. Mutasi induksi dapat dilakukan pada tanaman dengan perlakuan bahan mutagen tertentu terhadap organ reproduksi tanaman seperti biji, stek batang, serbuk sari, akar/rhizome, dan sebagainya⁽⁷⁾.

Teknik mutasi dalam pemuliaan tanaman dapat meningkatkan keragaman genetik sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan yang dikehendaki. Proses mutasi alami biasanya terjadi sangat lambat sehingga perlu bahan mutagen untuk menginduksi frekuensi, kecepatan dan spektrum mutasi tanaman. Salah satu mutagen yang saat ini banyak digunakan adalah mutagen radioaktif dengan energi tinggi⁽⁸⁾. Iradiasi terhadap tunas in vitro tanaman *Artemisia* cina telah dilakukan oleh peneliti di Pusat aplikasi teknologi isotop dan radiasi (PATIR) dengan tujuan mendapatkan tanaman baru dengan morfologi lebih baik, dan kandungan artemisinin lebih tinggi daripada tanaman induknya. Penelitian induksi mutasi terhadap pucuk menggunakan Irradiator Panoramic Serba Guna (IRPASENA) pada dosis radiasi 10, 20, dan 40 Gy yang dilakukan oleh Aryanti dan kawan kawan telah menghasilkan beberapa galur mutan yang telah terseleksi. Untuk mengetahui khasiat dari tanaman galur mutan hasil radiasi tersebut maka dilakukan pengujian aktivitas antimalaria dilakukan pada ekstrak daun⁽⁹⁾.

Penelitian uji aktivitas antimalaria dalam pengembangan obat antimalaria dilakukan secara in vivo untuk melihat hubungan host-parasit. *Plasmodium berghei* ANKA (PbA) dan mencit banyak digunakan sebagai model pada penelitian malaria *P. falciparum*. Hal tersebut didasarkan pada kemiripan aspek biologi dari *Plasmodium berghei* ANKA pada mencit dan *Plasmodium falciparum* pada manusia setelah dianalisis secara molekuler⁽¹⁰⁾. Pada penelitian uji aktivitas antimalaria ekstrak daun galur radiasi digunakan *P. berghei* dan mencit bertujuan untuk mendapatkan ekstrak daun yang mempunyai aktivitas antimalaria yang terbaik.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Ekstrak n-heksana daun *Artemisia cina* hasil iradiasi 10, 20, dan 40 Gy diperoleh dari Laboratorium Kimia Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Teknologi Nuklir Nasional (BATAN), Pasar Jumat Jakarta. Parasit yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium berghei* strain ANKA dari Laboratorium Biologi Molekuler Pusat Teknologi Keselamatan dan Meteorologi Radiasi (PTKMR). Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit Swis albino atau galur jantan, umur 8-12 minggu, berat 28-32, di diambil dari laboratorium non rumansia dan satwa harapan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor sejumlah 65 ekor. Mencit diberi pakan berupa pelet dan minum secara ad libitum⁽¹¹⁾.

METODE. Perbanyak P.berghei. Stok beku *P.berghei* dibiakan secara *in vivo* dalam tubuh mencit di Laboratorium Hewan Bidang Biomedika PTKMR. Kepadatan parasit (parasitemia) dalam darah diperiksa setiap hari dengan memotong ujung ekor mencit. Bila tingkat parasitemia mencit telah mencapai diatas diatas 20% maka dilakukan anestesi dan pengambilan darah dari jantung untuk selanjutnya dilakukan penginfeksian kembali ke mencit perlakuan⁽¹²⁾.

Inokulasi P. berghei ke mencit. Darah donor yang mengandung parasit kemudian diencerkan dengan RPMI sehingga mencapai konsentrasi 1 x 10⁷/ml. Kemudian diresuspensikan dalam 200 ul RPMI yg akan diinfeksi kemencit perlakuan.

Pengujian aktivitas anti malaria. Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan mengacu pada metode standar Peter's Test (4-day suppressive test)⁽¹³⁾. Pemberian terapi artemisinin dilakukan ketika derajat parasitemia telah mencapai infeksi dan pengamatan parasitemia dilakukan setiap hari mulai hari pertama hingga hari ke-7 paska terapi.

Rancangan Percobaan. Percobaan dilakukan 2 tahap. Tahap Optimasi dosis radiasi, untuk mendapatkan ekstrak yang terbaik dari 3 ekstrak daun hasil radiasi 10, 20, 40 Gy. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok, masing masing kelompok 5 ekor. (A) kelompok kontrol positif yaitu kelompok perlakuan yang diinfeksi 1x10⁷ *Plasmodium berghei*. (B) Kelompok artemisin 10 Gy yaitu kelompok perlakuan yang diberi terapi artemisin dosis 10 Gy. (C) Kelompok artemisin 20 Gy yaitu kelompok perlakuan yang diberi terapi artemisin 20 Gy. (D) Kelompok 40 Gy yaitu kelompok perlakuan yang diberi terapi artemisin 40 Gy dosis. Ekstrak artemisin dilarutkan dalam Akuabides steril sehingga diperoleh suspensi, kemudian diberikan ke mencit dengan dosis 200 mg/kg berat badan secara per oral satu kali sehari.

Setelah diperoleh ekstrak tanaman yang terbaik dari penelitian tahap 1. Kemudian dilakukan tahap optimasi dosis takar dengan variasi dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok, masing masing kelompok 5 ekor. 1 kelompok kontrol positif yaitu kelompok perlakuan yang diinfeksi 1x10⁷ *Plasmodium berghei*, 3 kelompok artemisinin radiasi yang diberi terapi artemisin variasi dosis takar 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB.

Penghitungan parasitemia. Sebanyak 6 µL darah dibuat apusan tipis pada gelas preparat kemudian difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan larutan Giemsa 10% selama 30 menit setelah itu dicuci pada air mengalir. Pemeriksaan dan penghitungan sel dilakukan di bawah mikroskop pembesaran 100 X. Parasitemia menunjukkan kepadatan sel darah terinfeksi parasit dalam ± 1000 sel darah merah atau 10 lapang pandang dengan rumus⁽¹²⁾ :

$$\frac{\text{Jumlah sel darah merah yang terinfeksi parasit} \times 100\%}{\text{Jumlah total sel darah merah}}$$

Pengolahan Data. Dari apusan darah tipis diamati jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit malaria tiap 1000 eritrosit (%parasitemia). Kemudian dihitung persen parasitemia dan persen penghambatan dengan cara perhitungan sebagai berikut⁽¹⁴⁾:

$$\% \text{ parasitemia} = \frac{\text{Jumlah sel darah merah yang terinfeksi parasit} \times 100\%}{\text{Jumlah total sel darah merah}}$$

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{Parasitemia kontrol} - \text{Parasitemia perlakuan} \times 100\%}{\text{Parasitemia kontrol}}$$

Analisa Data. Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Analisa data dosis radiasi ekstrak daun yang terbaik dari 3 ekstrak daun hasil radiasi 10, 20, 40 Gy ditentukan dengan melihat kurva pertumbuhan parasit yang terendah. Analisa data dosis terapi radiasi yang dilakukan dengan menggunakan uji T-test: *Two-Sample Assuming Unequal Variances* digunakan sebagai komparasi antar dua sampel bebas (independent), bertujuan untuk mengetahui apakah dua kelompok sampel berbeda dalam variabel tertentu. Optimasi dosis terapi optimum radiasi dengan mencari nilai efektif dosis 50% (ED50) dihitung berdasarkan analisis probit % penghambatan pertumbuhan parasit selama 6 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

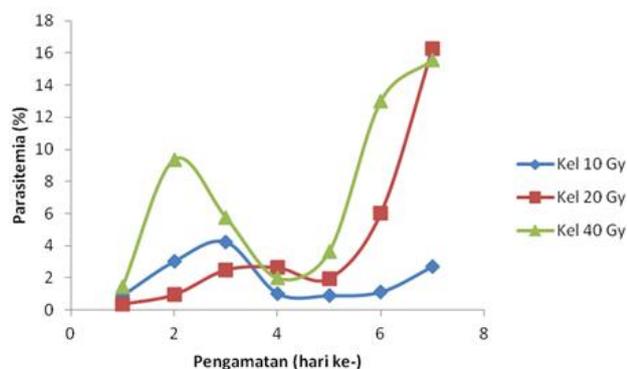
Penelitian uji aktivitas antimalaria ekstrak galur mutan dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan *P.berghei* dan mencit sebagai inangnya dilakukan dua

tahap. Tahap pertama pengujian aktivitas antimalaria pada ekstrak daun dari 3 tanaman yang diradiasi dengan dosis 10, 20, dan 40 Gy dengan tujuan untuk mendapat aktivitas antimalaria dari ekstrak yang paling optimum. Setelah diperoleh ekstrak daun yang mempunyai aktivitas antimalaria yang terbaik maka dilakukan tahap selanjutnya yaitu untuk mendapatkan dosis optimum dengan perlakuan 3 variasi dosis terapi. Mencit disuntikan 1×10^7 parasit secara intraperitoneal kemudian diberikan ekstrak daun *A. Cina* dengan dosis 200 mg/kg BB selama 4 hari. Pengamatan pertumbuhan parasit mulai diamati setiap hari hingga hari ke-7, setelah 4 hari pemberian terapi ekstrak. Pertumbuhan parasit diamati dari kepadatan parasit (parasitemia) pada apusan tipis darah perifer dengan pewarnaan Giemsa (Gambar 1).

Pertumbuhan *P. berghei* parasit mulai terlihat di darah tepi pada hari ke-3. Pertumbuhan parasit pada mencit yang diberi terapi ekstrak daun 10 Gy hingga hari ke-7 mencapai 2,7%. Pertumbuhan parasit pada kelompok mencit yang diberi ekstrak daun galur mutan dosis 20 dan 40 Gy hampir sama yaitu sekitar 16%. Terjadi perbedaan bermakna antara kelompok 10 Gy dengan 20 dan 40 Gy pada $p < 0,05$.

Pengamatan daya tahan hidup mencit diamati selama 1 bulan. Pada kelompok 40 Gy, 80% mencit mati pada hari ke-10 dan semua mencit mati pada hari ke-11. Pada hari ke 12 kematian semua mencit terjadi pada kelompok 20 Gy. Hingga 1 bulan mencit pada kelompok 10 Gy sekitar 20% mencit masih bertahan hidup dengan parasitemia (Gambar 2).

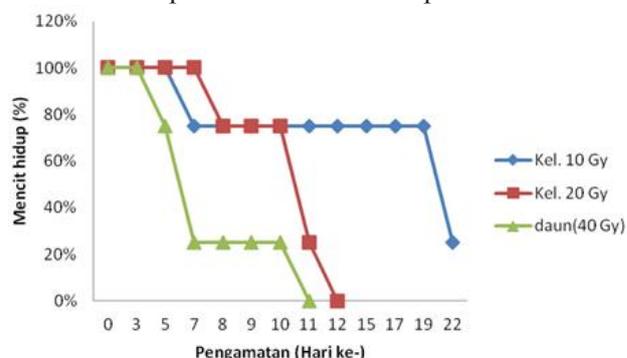
Setelah diperoleh ekstrak daun galur radiasi yang terbaik kemudian dilakukan tahap penelitian optimasi dosis terapi yang bertujuan untuk mendapatkan dosis ekstrak artemisinin yang optimal dalam menghambat pertumbuhan parasit. Potensi kuratif ekstrak daun radiasi 10 Gy dievaluasi menurut metode Peters⁽¹³⁾.



Gambar 1. Pertumbuhan *P. berghei* pada mencit dengan kelompok perlakuan dengan terapi ekstrak daun galur mutan radiasi 10 Gy, 20 Gy, dan 40 Gy.

Pengujian optimasi dosis ekstrak 10 Gy dilakukan pada dosis terapi 100 mg/kg, 200 mg/

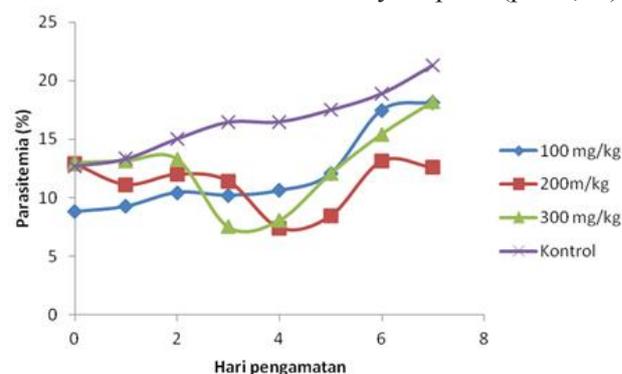
kg, dan 300 mg/kg BB pemberian terapi dilakukan selama 3 hari, hasil pengujian dilihat dari pertumbuhan dan penghambatan parasit (Gambar 3 dan Tabel 1). Persentase pertumbuhan parasit tiap kelompok diamati satu hari sampai hari ke-7 setelah pemberian bahan



Gambar 2. Daya tahan hidup mencit dengan kelompok perlakuan dengan terapi ekstrak galur mutan radiasi 10 Gy, 20 Gy, dan 40 Gy.

uji dihentikan. Pertumbuhan parasit (parasitemia) mencit kelompok kontrol dan 100 mg/kg cenderung terus meningkat. Parasitemia mencit pada kelompok perlakuan 200 mg/kg dan 300 mg/kg menurun hingga hari ke-4 setelah itu meningkat. Pertumbuhan parasit pada mencit perlakuan dosis 200 mg/kg paling rendah. Terdapat perbedaan nyata antara pertumbuhan parasit pada tiap kelompok mencit perlakuan terhadap kelompok mencit kontrol ($p = > 0,05$).

Data persentase hambatan tiap kelompok diperoleh dari data persentase pertumbuhan perkelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Persentase hambatan diamati dari hari ke-4 hingga ke-7 setelah penghentian terapi (Tabel 1). Perlakuan terapi dosis ekstrak daun dosis 100 mg/kg BB mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan parasit yang terendah. Dosis ekstrak daun 200 mg/kg BB mempunyai daya hambat yang tertinggi. Daya hambat perlakuan ekstrak daun dosis 300 mg/kg BB sedikit lebih rendah dari 200 mg/kg tetapi secara statistik tidak berbeda nyata pada ($p = > 0,05$).



Gambar 3. Persentase pertumbuhan parasit pada mencit yang diterapi ekstrak daun galur mutan 10 Gy dengan beberapa dosis terapi dan kontrol positif

Lebih rendahnya daya hambat ekstrak daun 300 mg/kg kemungkinan kandungan artemisinin dalam daun sama atau lebih rendah, karena kami tidak mengukur kandungan Artemisinin dalam bahan uji. Berdasarkan literatur banyak senyawa lain yang terkandung dalam daun Artemisia dan kemampuan mereduksi parasitemia tergantung kadar artemisinin yang terkandung dalam daun. Selain itu pada metode *in vivo* dengan menggunakan hewan coba respon individu dr hewan coba mempengaruhi hasil uji⁽¹¹⁾.

Dosis efektif dari artemisinin ditunjukkan dari kemampuan artemisinin untuk menghambat pertumbuhan parasit sekitar 50% (ED50). Untuk menentukan nilai ED50 dibuat kurva hubungan dosis ekstrak daun terhadap persen inhibisi atau persentase hambatan (Gambar 4). Besarnya nilai ED50 tersebut diperoleh dengan cara memasukan nilai 50% aktivitas inhibisi kedalam persamaan regresi⁽¹⁵⁾. Berdasarkan kurva tersebut aktivitas terhadap penghambatan pertumbuhan parasit sebanyak 50% terjadi pada konsentrasi 238,75 mg/kg berat badan. Perbedaan pertumbuhan *P. berghei* pada mencit yang diberi

tersebar di 1/3 daun bagian atas (41,7 persen); 1/3 bagian tengah (25 persen) dan 1/3 bagian bawah (22,2 persen). Pada penelitian Aryanti dkk diketahui bagian tanaman galur mutan radiasi dosis 10, 20, dan 40 Gy yang mengandung artemisinin tertinggi pada daun⁽⁹⁾. Daun *A. cina* kemudian diekstrak dengan cara maserasi menggunakan n-heksana perbandingan antara serbuk *A. cina* dan 1:10⁽⁹⁾. Metode maserasi ini merupakan metode ekstraksi ditemukan oleh Ge Hong dan hingga saat ini masih digunakan dalam ekstraksi artemisinin⁽¹⁶⁾. Ekstrak daun galur mutan yang mengandung artemisinin tertinggi dari masing perlakuan kemudian diuji aktivitas antimalaria pada penelitian ini secara *in vivo* dengan menggunakan *P. berghei* dan mencit sebagai inangnya.

Evaluasi awal senyawa antimalaria secara *in vivo* dengan model rodensia telah digunakan secara ekstensif dalam penemuan obat baru. Metode ini digunakan dalam penelitian awal pengujian khasiat obat dengan membandingkan parasitemia apusan darah dan daya tahan hidup pada kelompok mencit perlakuan⁽¹⁷⁾. Keuntungan menggunakan model *in*

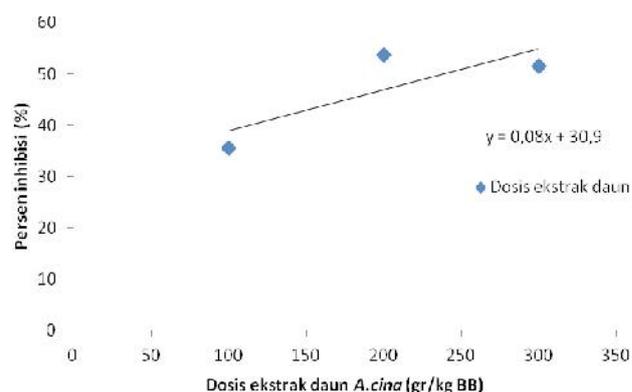
Tabel 1. Persen pertumbuhan dan persen penghambatan rata-rata *P.berghei* mencit paska pemberian ekstrak galur mutan 10 Gy

	% Pertumbuhan			% Inhibisi		
	H-4	H-5H	-6	H-4H	-5	H-6
100 mg/kg	10,64±1,7	11,3±2,3	14,4±3,2	35,5	31,14	18,2
200 mg/kg	7,44±2,5	8,7±1,6	13±4,2	53,7	53,3	37,9
300 mg/kg	6,4±1,2	11,8±2,2	15,44±2,1	51,15	32,1	21,6

perlakuan berbagai dosis artemisinin dilihat pada Gambar 5.

Pemuliaan tanaman dengan teknik mutasi menggunakan radiasi sinar gamma terhadap tanaman Artemisia dari beberapa penelitian telah terbukti meningkatkan kandungan artemisinin. Iradiasi pada tanaman *A. cina* bertujuan untuk menghasilkan tanaman yang lebih lambat berbunga sehingga otomatis biomasa tanaman menjadi meningkat dengan demikian produksi artemisinin juga menjadi lebih banyak⁽⁸⁾. Penelitian Ragapadmi dan kawan kawan membuktikan kandungan artemisinin dari sepuluh galur mutan *Artemisia annua* dari hasil radiasi dosis 30 dan 40 Gy bervariasi antara 0.44 — 1.41%, sedangkan kandungan artemisinin dari tanaman kontrol adalah 0.43%⁽⁷⁾. Penelitian Aryanti dkk membuktikan tunas yang diiradiasi terjadi peningkatan kadar artemisinin lebih tinggi hingga 5 kali lipat dibandingkan tanaman induknya⁽⁸⁾.

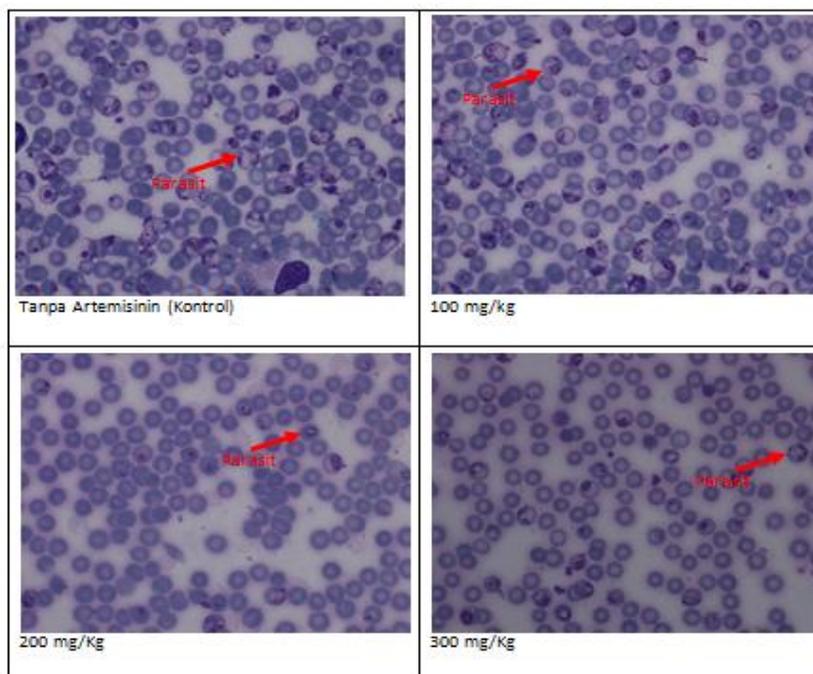
Artemisinin paling banyak terkandung pada bagian daun tanaman Artemisia sp. Sekitar 89 persen dari total artemisinin terkandung pada tanaman



Gambar 4. Kurva hubungan persentase hambatan atau inhibisi dengan dosis ekstrak daun *A. cina*

in vivo untuk penelitian ini dengan memperhitungkan kemungkinan efek prodrug dan keterlibatan sistem kekebalan tubuh dalam pemberantasan infeksi. Pemberian obat secara *in vivo* melalui oral karena pemberian secara oral diketahui 100 kali tidak toksik dibandingkan secara intraperitoneal⁽¹⁶⁾.

Penelitian uji aktivitas antimalaria ekstrak



Gambar 5. Pertumbuhan *P. berghei* pada mencit yang diberikan berbagai dosis terapi galur mutan 10 Gy

daun galur mutan dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan *P. berghei* dan mencit sebagai inangnya dilakukan dua tahap, yaitu menentukan aktivitas antimalaria galur mutan yang optimal dan optimasi dosis terapi. Penentuan aktivitas antimalaria dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan parasit dan daya tahan hidup dari mencit yang diberi ekstrak daun tanaman galur radiasi dosis 10, 20, dan 40 Gy. Hasil pengamatan pertumbuhan parasit dan daya tahan hidup menunjukkan kelompok mencit yang diberi terapi ekstraksi artemisinin 10 Gy memberikan hasil yang terbaik karena pertumbuhan parasitnya paling rendah dan bertahan hidup lebih lama. Berdasarkan hasil penelitian Aryanti dkk yang melaporkan kandungan artemisinin yang tertinggi ditemukan pada daun galur mutan yang diradiasi dosis 10 Gy yaitu 73,13 mg/g⁽⁹⁾.

Optimasi dosis terapi ekstrak daun galur mutan 10 Gy dilakukan pada dosis terapi 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 300 mg/kg BB menurut metode Peters. Nilai persentase penghambatan ini dipakai sebagai dasar untuk menetapkan aktivitas antiplasmodium secara *in vivo* dengan menentukan Effective Dose 50% (ED₅₀). Aktivitas antiplasmodium *in vivo* dinyatakan dalam ED₅₀, yaitu suatu kemampuan bahan uji untuk dapat menghambat pertumbuhan parasit pada mencit galur Swiss yang diinfeksi *P. berghei* hingga 50%⁽¹⁸⁾ atau disebut dengan inhibitor concentration 50% (IC₅₀)⁽¹⁹⁾.

Hasil optimasi dosis terapi dilihat dari pertumbuhan dan penghambatan parasit. Dari hasil tersebut di atas diketahui ekstrak daun dosis 100 mg/kg BB mempunyai daya hambat paling rendah. Dosis

200 mg/kg dan 300 mg/kg mampu menghambat parasit sekitar 50% pada hari ke-4, nilai persentase penghambatan parasit tetap sekitar 50% hingga hari ke-5 pada kelompok mencit yang diterapi dengan 200 mg/kg sedangkan untuk dosis 300 mg/kg persentase penghambatan menurun menjadi 32,2%. Walaupun secara statistik tidak terjadi perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) diantara kedua kelompok perlakuan. Kelompok mencit dengan perlakuan terapi dosis 200 mg/kg pertumbuhan parasit paling rendah dan persentase hambatan paling tinggi diantara perlakuan terapi dosis lainnya. Menurut Munez *et al*, dalam Isa menyebutkan aktivitas antiplasmodium *in vivo* dikategorikan sangat baik bila nilai ED 50 < 100 mg/kgBB/hari, katagori baik bila nilai ED50 101-250 mg/kgBB/hari. Kategori sedang bila nilai ED50 : 251-500 mg/kgBB/hari dan tidak aktif jika > 500 mg/kg/hari⁽¹⁰⁾.

Potensi Artemisinin sebagai antimalaria banyak diteliti baik sebagai terapi tunggal atau di kombinasi dengan zat antimalaria yang lain. Penelitian yang dilakukan Fuad Hafid yang melakukan penelitian terapi kombinasi senyawa artesunat dengan ekstrak etanol 80% kulit batang cempedak. Dari hasil penelitian diketahui kombinasi ekstrak etanol 80% Cempedak 100 mg/kgBB dengan Artesunat 36,4 mg/kgBB D0-D2 memberikan potensi keberhasilan paling besar⁽²⁰⁾.

Penelitian Gayan S. Bamunuarachchi⁽¹³⁾ yang melakukan penelitian terhadap potensi ekstrak etanol daun *Artemisia vulgaris* pada mencit. Dosis kisaran ekstrak daun yang digunakan berkisar 250 mg/kg BB hingga 1000 mg/kg BB. Dari penelitian diperoleh

hasil persentase *inhibitor concentration* 50 % (IC_{50}) pada konsentrasi 412.1 mg/kg. Dosis pengobatan pada mencit hingga dengan 450 mg/kg BB, atau sekitar 15 kali dosis manusia masih berada dalam kisaran yang dapat diterima. Substansi yang berpotensi untuk dilakukan studi lebih lanjut jika konsentrasi IC_{50} masih dibawah tiga kali dosis efektif minimum yaitu 200 mg.

Dari hasil penelitian ekstrak daun galur mutan 10 Gy nilai ED_{50} atau IC_{50} yang diperoleh dosis 238,75 mg/kg berat badan, berarti substansi yang diuji berpotensi sebagai kandidat obat antimalaria. Kemampuan aktivitas antimalaria ekstrak *n-hexane* daun *A. cina* galur radiasi lebih baik dibandingkan ekstrak daun *A. vulgaris* dari penelitian Gayan.

SIMPULAN

Berdasarkan analisa data dan pembahasan terhadap hasil uji aktivitas antimalaria pada ekstrak daun galur mutan yang diradiasi dengan dosis 10 Gy, 20 Gy, dan 40 Gy, dapat disimpulkan ekstrak daun 10 Gy memberikan hasil yang terbaik karena pertumbuhan parasitnya paling rendah dan bertahan hidup lebih lama. Dari hasil Uji aktivitas antimalaria ekstrak daun 10 Gy secara *in vivo* dilakukan pada dosis terapi 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 300 mg/kg BB, diperoleh hasil perlakuan dosis terapi 200 mg/kg memberikan hasil hambatan yang lebih tinggi dari 300 mg/kg tetapi secara statistik tidak berbeda nyata. Dosis terapi efektif yang diperoleh dari ekstrak daun *A. cina* adalah 238,75 mg/kg. Dapat disimpulkan ekstrak daun galur mutan 10 Gy yang terbaik dengan dosis terapi efektif (ED_{50}) 238,7 mg/kg berat badan.

DAFTAR PUSTAKA

- WHO. WHO | World Malaria Report 2012. WHO. English: World Health Organization; 2012
- Harijanto P. Malaria dari Molekuler ke Klinis. 2nd ed. Jakarta, Indonesia: EGC; 2009. 356 p.
- Tjitra E. Pengobatan Malaria dengan Kombinasi Artemisinin. *Bul Penelit Kesehatan*. 2005;33(2):53–61.
- Guo Z. Artemisinin anti-malarial drugs in China. *Acta Pharm Sin B*. 2016;6(2):115–24.
- Visser BJ, Wieten RW, Kroon D, Nagel IM, Bélard S, Van Vugt M, et al. Efficacy and safety of artemisinin combination therapy (ACT) for non-falciparum malaria: a systematic review. *Malar J*. 2014;13(463):2–18.
- Sucilestari R, Dj DS, Bachtiar I. Uji Aktivitas Antimalaria Fraksi Triterpenoid dari Ekstrak Metanol Daun *Artocarpus camansi* terhadap *Plasmodium berghei* Secara In Vivo. *Nat B*. 2013;2(2):196–9.
- Purnamaningsih R, Lestari EG, M.Syukur. Evaluasi Keragaman Galur Mutan *Artemisia* Hasil Iradiasi Gamma. *J Ilm Apl Isot dan Radiasi*. 2011;6(2):139–46.
- Aryanti. Peningkatan kandungan artemisinin melalui mutasi tunas in vitro tanaman obat *Artemisia cina* Improvement of artemisinin content through mutation of in vitro shoot cultures of *Artemisia cina* medicinal plant. *Indones Maj Farm*. 2011;22(1):60–4.
- Aryanti. Mutation Induction for Improving of Artemisinin Content in Each Part *Artemisia cina* Mutant Lines. *Indones JPharmacy*. 2015;26(3):147–54.
- Isa, Rinidar S. Aktivitas Antiplasmodium Daun Sernai (*Wedelia Biflora*) Berdasarkan Evaluasi Fungsi Ginjal dan Hati pada Mencit yang Diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. *J Vet*. 2012;13(2):167–75.
- Garber JC, Wayne barbee. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition. National Academies Press. 8th ed. H.Feltcher C, editor. Washington DC: The Nation Academic Press; 2012. 246 p.
- Cowman A, Crabb B. Methods in Malaria Research. 6th ed. Moll K, editor. Manassass, Virginia: MR4/ATCC; 2013. 464 p.
- Bamunuarachchi GS, Ratnasooriya WD, Premakumara S, Udagama P V. Antimalarial properties of *Artemisia vulgaris* L. ethanolic leaf extract in a *Plasmodium berghei* murine malaria model. *J Vector Borne Dis*. 2013;50(4):278–84.
- Elfawal MA, Towler MJ, Reich NG, Golenbock D, Weathers PJ, Rich SM. Dried Whole Plant *Artemisia annua* as an Antimalarial Therapy. *PLoS One*. 2012;7(12):1–7.
- Muti R, Enggar LF, Winarsih S, Simamora D. Kombinasi Ekstrak Batang Talikuning dan Artemisin sebagai Obat Antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* Combination of Anamirta cocculus Stem Extract and Artemisin as an Antimalaria Agent against Plasmodium berghei. *Kedokt Brawijaya*. 2010;26(1):8–13.
- Taherkhani M, Rustaiyan A, Nahrevanian H, Naeimi S, Taherkhani T. Comparison of antimalarial activity of *Artemisia turanica* extract with current drugs in vivo. *J Vector Borne Dis*. 2013;50(1):51–6.
- Flannery EL, Chatterjee AK, Winzeler EA. Antimalarial Drug Discovery: Approaches and Progress towards New Medicines. *Nar Rev Microbiol*. 2013;11(12):849–62.
- Sholikhah EN, Wijayanti MA, Mustofa. In vivo antiplasmodial activity and acute toxicity of standardized extract of *Eurycoma longifolia* jack. root traditionally used to treat malaria. *Am J Pharmacol Toxicol*. 2014;9(1):24–8.
- Rinidar, M Isa dan TA. Nilai Inhibition Concentration (IC_{50}) Ekstrak Metanol Daun Sernai (*Wedelia biflora*) Terhadap *Plasmodium falciparum* yang Diinkubasi Selama 32 dan 72 jam. *Vet J Med*. 2013;7(1):8–12.
- Hafid AF, Tyas MW, Widyawaruyanti A. Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80 % Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus Champeden* Spreng .) dan Artesunat pada Mencit Terinfeksi Parasit Malaria. *J Indones Med Assoc*. 2011;61(4):161–7.