

Uji Aktivitas Antimalaria *in vitro* dari Ekstrak Etanol Batang Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei* [Miq.] Koidz)

(*In Vitro* Antimalarial Activity of Ashitaba Stem Ethanolic Extract (*Angelica keiskei* [Miq.] Koidz))

ALVI KUSUMA WARDANI*, ABDUL RAHMAN WAHID, YANTI ASTUTI

Program Studi Diploma Tiga Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah
Mataram, Kota Mataram, 83121, Indonesia

Diterima 17 Januari 2020, Disetujui 20 Agustus 2020

Abstrak: Infeksi malaria sampai saat ini menjadi masalah kesehatan yang serius dan kompleks di dunia. Kesulitan pengobatan malaria disebabkan karena terjadinya resistensi parasit malaria terhadap obat sintesis. Salah satu alternatif untuk menanggulangi terjadinya resistensi adalah dengan memakai obat herbal seperti tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei* [Miq.] Koidz). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas ekstrak etanol batang Ashitaba sebagai antimalaria pada parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7. Ekstrak batang Ashitaba diuji kandungan senyawa kimia dan aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dengan konsentrasi 100, 10, 1, 0,1 dan 0,01 µg/ml. Hasil uji kandungan senyawa kimia dari ekstrak batang Ashitaba positif mengandung senyawa flavonoid dan kalkon. Ekstrak batang Ashitaba dengan konsentrasi 100, 10, 1, 0,1 dan 0,01 µg/ml memiliki nilai hambatan rata-rata sebesar 67,75%, 46,61%, 32,56%, 19,60%, dan 7,56%. Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak etanol batang Ashitaba mempunyai nilai IC_{50} 11,07 µg/ml. Aktivitas antimalaria ekstrak etanol batang Ashitaba masuk dalam kategori aktivitas antimalaria yang baik dengan nilai IC_{50} masuk dalam rentan 10-50 µg/ml.

Kata kunci: Malaria, Ashitaba, *Angelica keiskei*, *in vitro*, *Plasmodium falciparum*

Abstract: Malaria infection is still become a serious and complex health problem in the world. The difficulty in treating malaria is caused by the resistance of the malaria parasite to synthetic drugs. One alternative to prevent resistance is to use herbal medicines such as the Ashitaba plant (*Angelica keiskei* [Miq.] Koidz). This study aims to determine the activity of Ashitaba stem ethanol extract as an antimalarial to the *Plasmodium falciparum* parasite strain 3D7. Ashitaba stem extract was tested for chemical compound content and antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* strain 3D7 with concentrations of 100, 10, 1, 0.1 and 0.01 µg / ml. The test results for the chemical compounds of Ashitaba stem extract were positive for flavonoids and chalcone compounds. Ashitaba stem extract with a concentration of 100, 10, 1, 0.1 and 0.01 µg / ml had an average resistance value of 67.75%, 46.61%, 32.56%, 19.60%, and 7.56%. The antimalarial activity test results of Ashitaba stem ethanol extract had an IC_{50} value of 11.07 µg / ml. The antimalarial activity of Ashitaba stem ethanol extract is included in the category of good antimalarial activity because the IC_{50} value falls within the range of 10-50 µg / ml.

Keyword: Malaria, Ashitaba, *Angelica keiskei*, *in vitro*, *Plasmodium falciparum*

*Penulis korespondensi
Email: alvikusuma99@gmail.com

PENDAHULUAN

MALARIA merupakan salah satu penyakit parasit yang masih menjadi persoalan kesehatan yang utama di dunia terutama di Negara tropis dan sub tropis. Menurut Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization*) diperkirakan 207 juta kasus malaria terjadi pada tahun 2012. Pada tahun 2013, ada 97 negara yang sedang mengalami endemis malaria⁽¹⁾. Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan RI, hingga akhir tahun 2017 terdapat 261.671 kasus malaria di Indonesia yang 100 diantaranya meninggal dunia. Salah satu provinsi di Indonesia dengan kasus malaria yang tinggi adalah di Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB). Berdasarkan laporan profil kesehatan Provinsi NTB tahun 2017 ditemukan positif malaria sebanyak 1.190 kasus, tiga Kabupaten di Provinsi NTB mempunyai kasus malaria positif terbanyak adalah Kabupaten Lombok Barat sebesar 268 kasus, Kabupaten Sumbawa Barat sebesar 263 kasus dan Kabupaten Bima sebesar 244 kasus⁽²⁾.

Salah satu faktor utama penyebab peningkatan infeksi tersebut adalah timbulnya resistensi terhadap obat antimalaria yang tersedia. Resistensi terhadap obat antimalaria dapat diatasi salah satunya yaitu dengan cara memanfaatkan tumbuhan yang berpotensi sebagai antimalaria untuk dijadikan sebagai obat malaria baru yang efektif dan aman karena berasal dari tumbuhan. Tumbuhan yang diduga mempunyai potensi sebagai obat malaria adalah tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*). Tanaman Ashitaba adalah tanaman yang berasal dari Jepang dan dimanfaatkan oleh bangsa Tiongkok sebagai obat herbal tradisional untuk meningkatkan energi dalam tubuh dengan menyuplai nutrisi penting dalam darah dan memperbaiki sirkulasi aliran darah⁽³⁾.

Tanaman Ashitaba sudah banyak dibudidayakan di Indonesia salah satunya di wilayah NTB tepatnya pulau Lombok. Ashitaba banyak dibudidayakan di daerah pegunungan atau perbukitan yang berada di Desa Sembalun dengan ketinggian 1200 Mdpl yang berada di kaki Gunung Rinjani. Tanaman Ashitaba mempunyai getah berwarna kuning disebut kalkon, yang merupakan senyawa flavonoid xanthoangelol dan 4-hydrooxyderricin^(4,5). Turunan kalkon dari bahan alam atau hasil sintesisnya terbukti memiliki berbagai aktivitas farmakologi, diantaranya sebagai antioksidan, dan senyawa flavonoid jenis kalkon juga telah dilaporkan sebagai agen potensial antimalaria⁽⁶⁾. Uji aktivitas antimalaria dilakukan dengan metode *in vitro* menggunakan parasite *P. falciparum* strain 3D7. *P. falciparum* strain 3D7 merupakan strain yang masih sensitif terhadap klorokuin⁽⁷⁾. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol

batang tanaman Ashitaba sebagai antimalaria dengan menentukan daya hambat ekstrak terhadap parasit penyebab malaria *Plasmodium falciparum*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu neraca analitik, *laminar airflow* (LAF), *water bath*, inkubator, autoklaf, lemari pendingin, eksikator (*Candle-jar*), membran filter 0,22 μm , pipet, *petri-dish*, lempeng sumur mikro (*microplate*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu etanol 70%, batang tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*) yang diperoleh dari Desa Sembalun, Lombok Timur-NTB, Klorokuin, dimetilsulfoksida (DMSO), Asam Hidroklorida (HCl) pekat, serbuk Magnesium, larutan giemsa 10%. Parasit yang digunakan adalah *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang diperoleh dari Laboratorium Malaria, ITDC Universitas Airlangga, Surabaya.

Persiapan sampel. Sebanyak 1 kg batang tanaman Ashitaba dirajang dan dicuci bersih. Batang Ashitaba yang telah bersih, kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C. Selanjutnya dihaluskan dengan blender.

Pembuatan ekstrak batang Ashitaba dengan metode maserasi. Sebanyak 100 gram serbuk kering batang Ashitaba dimaserasi dengan 300 ml etanol 70% selama 24 jam, sambil diaduk-aduk secara berkala. Setelah 24 jam disaring menggunakan kain flannel. Ampas sisa diremaserasi 3 kali hingga semua zat yang terkandung dalam batang Ashitaba tersebut terekstrak. Maserat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental.

Uji senyawa flavonoid dan kalkon.

1. Pereaksi Wilstater

2 ml larutan ekstrak batang Ashitaba ditambahkan 10 tetes HCl pekat ditambahkan sedikit serbuk Magnesium. Warna kuning-jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron, mengikuti penelitian Sofa Fajriah & Megawati (2015)⁽⁸⁾.

2. Pereaksi Bate Smite-Metcalf

2 ml larutan ekstrak batang Ashitaba ditambahkan 10 tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

Uji aktivitas antimalaria secara in vitro.

a. Preparasi sampel uji

Sebanyak 1 mg sampel batang Ashitaba dilarutkan

dalam 100 μl DMSO (larutan stok, konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/ml}$). Selanjutnya dari larutan stok dibuat serial pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi akhir sebesar 1000 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$.

b. Preparasi parasit uji

Parasit yang digunakan pada uji ini adalah parasit yang sudah sinkron (stadium ring) dengan parasitemia $\pm 1\%$.

c. Prosedur uji antimalaria

Sebanyak 2 μl larutan uji dengan berbagai konsentrasi diambil dan dimasukkan dalam tiap sumuran pada *microplate* lalu ditambahkan 198 μl parasit sehingga diperoleh konsentrasi akhir dari sampel uji sebesar 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, 0,1 $\mu\text{g/ml}$, 0,01 $\mu\text{g/ml}$. Lempeng uji selanjutnya dimasukkan dalam *chamber* dan diberikan *mix gass* (O_2 5%, CO_2 5% dan N_2 90%). *Chamber* yang berisi lempeng uji diinkubasi 48 jam, suhu 37°C. Kultur kemudian dipanen dan dibuat hapusan darah tipis dengan pewarnaan giemsa 10%. Pada penelitian ini menggunakan kontrol negatif larutan DMSO dan kontrol positif menggunakan klorokuin.

Persen pertumbuhan didapatkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \% \text{ Parasitemia} - \text{D0}$$

Keterangan:

D0 = % pertumbuhan pada jam ke-0

Rumus untuk perhitungan % Penghambatan adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

X_u = % pertumbuhan pada larutan uji

X_k = % pertumbuhan pada kontrol negatif

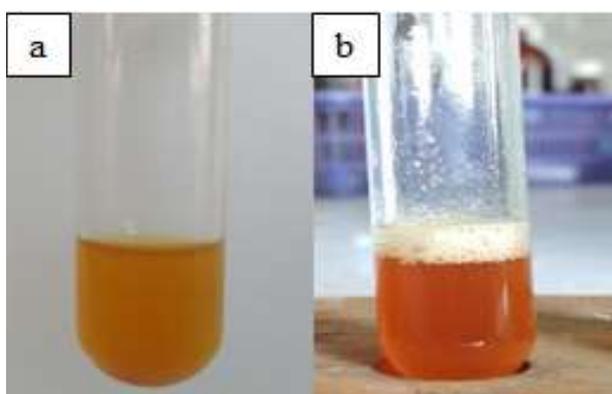
Berdasarkan data persen penghambatan dilakukan analisis antara konsentrasi uji terhadap persen penghambatan dengan menggunakan analisis probit log untuk mengetahui nilai IC_{50} atau konsentrasi bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan parasit sebanyak 50%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

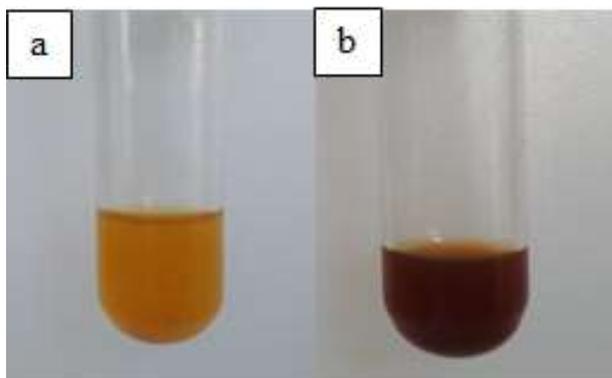
Hasil ekstrak batang Ashitaba yang telah dipisahkan dapat dilihat pada Gambar 1 ekstrak pekat yang



Gambar 1. Ekstrak pekat batang ashitaba



Gambar 2. Hasil uji *wilstater*, a. sampel uji, b. sampel setelah ditambahkan pereaksi *wilstater*



Gambar 3. Hasil uji *bate smite-metcalfe*, (a) sampel uji, (b) sampel setelah ditambahkan pereaksi *bate smite-metcalfe*

diperoleh berwarna coklat pekat dengan berat 18,6 gram dan rendamen sebesar 18,6 %.

Uji kualitatif senyawa flavonoid dan kalkon dilakukan dengan pereaksi *wilstater* dan pereaksi *bate smite-metcalfe* (Gambar 2).

Hasil uji menunjukkan ekstrak batang Ashitaba positif mengandung senyawa flavonoid dan kalkon dengan terbentuknya warna merah pada sampel batang ashitaba (Gambar 3).

Uji senyawa kalkon dengan pereaksi *bate smite-metcalfe* positif dengan terbentuknya warna jingga pada sampel uji menjadi merah tua setelah direaksikan

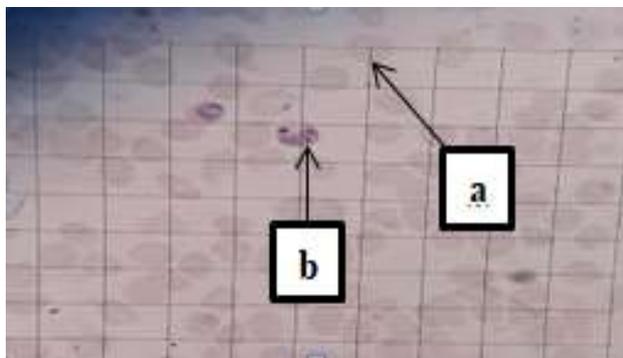
dan dipanaskan⁽⁸⁾.

Uji aktivitas antimalaria yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengujian secara *in vitro* (Gambar 4). Uji secara *in vitro* ini menggambarkan aktivitas antimalaria terhadap parasit *Plasmodium falciparum* pada fase eritrosit, karena parasit ditumbuhkan seolah-olah berada dalam sel darah merah tubuh. Parasit yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium falciparum* strain 3D7. *Plasmodium falciparum* Strain 3D7 yang sensitif terhadap klorokuin⁽⁹⁾.

Persentase pertumbuhan parasit dan persen penghambatan ekstrak etanol batang ashitaba terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pengujian persen hambatan terbesar ditunjukkan oleh ekstrak etanol batang ashitaba pada konsentrasi 100 µg/ml dengan nilai persen penghambatan sebesar 67,75% sedangkan persen penghambatan terendah yaitu pada konsentrasi 0,01 µg/ml dengan nilai persen penghambatan sebesar 7,56%.

Nilai hambatan parasit yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis probit. Analisis probit digunakan untuk mengetahui nilai IC_{50} pada setiap sampel. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang



Gambar 4. Kultur eritrosit, (a) eritrosit tidak terinfeksi (b) eritrosit terinfeksi parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7

dapat menghambat 50% pertumbuhan sel⁽¹⁰⁾. Nilai IC_{50} menurut kategori Gassler (1994), menyatakan bahwa aktivitas antiplasmodium zat uji secara *in vitro* terbagi menjadi 3 yaitu: zat uji dengan aktivitas paling baik bila nilai $IC_{50} \leq 10$ µg/ml, aktivitas baik bila nilai IC_{50} antara 10-50 µg/ml, dan aktivitas kurang baik bila nilai $IC_{50} \geq 50$ µg/ml. Hasil nilai IC_{50} ekstrak batang Ashitaba adalah 11,07 µg/ml. Aktivitas antimalaria batang Ashitaba termasuk dalam kategori baik karena nilai IC_{50} masuk dalam rentan 10-50 µg/ml⁽¹¹⁾.

Senyawa yang diduga dapat menghambat pertumbuhan parasit pada batang Ashitaba adalah senyawa kalkon yaitu salah satu jenis dari senyawa golongan flavonoid. Senyawa bioflavonoid memiliki mekanisme aksi dalam menghambat pertumbuhan parasit dengan dua target utama yaitu: 1) membran yang dibentuk parasit malaria stadium intraeritrositik yaitu Jalur Permeasi Baru (NPP = *New Permeation Pathway*) dengan cara menghambat transport nutrisi yang dibutuhkan parasit dan 2) vakuola makanan parasit malaria yaitu dengan menghambat proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme^(12,13).

Pada penelitian ini digunakan kontrol positif klorokuin. Hasil uji aktivitas antimalaria klorokuin didapatkan nilai IC_{50} klorokuin yaitu 0,007 µg/ml yang termasuk kedalam kategori antimalaria yang sangat baik, karena memiliki nilai $IC_{50} \leq 10$ µg/ml⁽¹¹⁾.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba beraktivitas sebagai antimalaria dengan nilai IC_{50} 11,07 µg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol batang Ashitaba yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7 adalah konsentrasi 100 µg/ml dengan % hambatan rata-rata sebesar 67,75 %.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antimalaria dari ekstrak etanol batang tanaman ashitaba

Konsentrasi (µg/ml)	R	%Parasitemia		% Pertumbuhan	% Hambatan	%Hambatan Rata-rata±SD	IC_{50} (µg/ml)
		0 jam	48 jam				
Kontrol (-)	1	0,8	4,03	3,23	-	-	11,07
	2	0,8	4,05	3,25	-	-	
100	1	0,8	1,83	1,03	68,11	67,75±0,51	
	2	0,8	1,86	1,06	67,38		
10	1	0,8	2,52	1,72	46,75	46,61±0,20	
	2	0,8	2,54	1,74	46,46		
1	1	0,8	2,97	2,17	32,82	32,56±0,36	
	2	0,8	3,00	2,20	32,31		
0,1	1	0,8	3,40	2,60	19,50	19,60±0,13	
	2	0,8	3,41	2,61	19,69		
0,01	1	0,8	3,78	2,98	7,74	7,56±0,25	
	2	0,8	3,81	3,01	7,38		

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Institut Tropical Disease (ITDC) Universitas Airlangga atas fasilitas laboratorium selama pengujian aktivitas antimalaria

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. 2013. *World Malaria Report*. Geneva: WHO Press. [diakses tanggal 2 Maret 2019].
2. Kementerian Kesehatan RI. 2017. Profil Kesehatan Nusa Tenggara Barat.
3. Nagata. J., Morino. K., Saito. M. 2007. Effects Of Dietary Angelica Keiskei On Serum ang Liver Lipid Profi Les, and Body Fat Accumulations in Rats. *Journal Of Nutrition Scientific Vitaminology National Institute Of Health and Nutrition*. Tokyo.
4. Okuyama. T., Takata. M., Takayasa. J., Hasegawa. T., Tokuda. H., Nishino. A., Nishini. H., Iwasima. A. 1991. *Antitumor Promotion by Principles Obtained from Angelica Keiskei*. *ChemPhram Bull (Tokyo)*: 39(6) 1604-5.
5. Baba.K., Taniguchi. M., Shibono. M., Minami. H. 2009. *The Components and Line Breeding Of Angelica Keiskei Koidzuma*. *Bunseki Kagaku*, Vol.58 No 12.
6. Guzy. J., Vaskova-Kubalkova, Rozmer. Z., Fodor. K., Marekova. M., Poskobrova., M., and Perjes., P. 2010. *Activation of oxidative stress response by hydroxyl substituted chalcones and cyclic chalcone analogues in mitochondria*. *FEBS Lett*. 584: 567 – 570.
7. Aliefman Hakim, Eka Junaidi, Baiq Fara Dwi Rani Sofia, Yunita Arian, S. A. (2010). Antimalarial Activity and Phytochemical Screening of *Secondary Metabolites from Heartwood and Root Bark of Artocarpus Carmmsi Blanco (Moraceae)* *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* Vol. 3 No. 1 Juli 2016 32. 8(2), 131–135.
8. Sofi Fajriah & Megawati. 2015. Penapisan Fitokimia dan Uji Toksisitas dari Daun *Myristica Fatua* Houtt. Depok: Departemen Kimia. FMIPA. UI
9. Hafid, A. F., Puliansari, N., Lestari, N. S., Tumewu, L., Rahman, A., & Widyawaruyanti, A. (2017). Skrining Aktivitas Antimalaria Beberapa Tanaman Indonesia Hasil Eksplorasi Dari Hutan Raya Cangar, Batu-Malang, Jawa Timur. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v3i1201.7-11>
10. Ilhami. F. Y., Fatma S. W., Elidahanum. H. 2013. Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis (*Garcinia Cowa Roxb*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metode MTT. Laporan Penelitian. Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.
11. Gassler. M.C., Nkunya. M.H.N., Mwasumbi. L.B., Heinrich. M., dan Toner. M. 1994. *Screening Tanzanian Medical Plants For Antialarial Activity*. *Journal Of Ethnopharmacology*, 48(1): 131-144.
12. Sherman. I.W. 1998. *Malaria, Parasite Biology, Pathogenesis, and Protection*, Washington. D.C: ASM Press.
13. Biagini. G.A., Oneill. P.M., Nzila. A., Ward. S.A., and Bray. A.W. 2003. *Antimalarial chemotherapy. Young gun or back to the future, tren in Parasitology* 19 (11) : 479-487.