

Aktivitas Antimalaria Senyawa Tanaman Daun Kapur (*Harmsioplanax aculeatus*) terhadap *Plasmodium sp.*

Rizka Dwi Febriyanti¹, Jhons Fatryadi Suwandi²

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* dan ditularkan oleh nyamuk *Anopheles*. Setiap tahun jumlah kasus malaria berjumlah 300-500 juta dan mengakibatkan 1,5 s/d 2,7 juta kematian. Resistensi obat antimalaria telah timbul di berbagai negara. Pengembangan obat baru dibutuhkan untuk mengurangi resistensi. Banyak senyawa alam yang diisolasi secara *in vitro* dan *in vivo* terbukti menghambat perkembangan *Plasmodium* didalam siklus hati atau sirkulasi darah manusia, salah satunya tanaman daun kapur (*Harmsioplanax aculeatus*). Cara kerja dengan menghambat polimerisasi hem sebagai salah satu mekanisme aksi obat antimalaria. Uji fitokimia fraksi paling aktif menghambat polimerisasi hem dari ekstrak metanol daun kapur (*Harmsioplanax aculeatus*) mengandung minyak atsiri (eugenol), asam lemak jenuh (asam palmitat) dan esternya (isopropil miristat dan metil ester palmitat) serta ester asam ftalat. Senyawa triterpenoid, steroid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan fenol. Senyawa tersebut terbukti sebagai antimalaria pada *Plasmodium*. Kandungan senyawa fraksi (FG2, FG3, FG4) pada strain FCR3 menunjukkan semakin rendah konsentrasi bahan uji, semakin rendah pula persentase penghambatan pertumbuhan *Plasmodium*. Penelitian dengan menggunakan sel vero, daun kapur terbukti memiliki efek toksisitas.

Kata kunci: Daun kapur (*Harmsioplanax aculeatus*), malaria, *plasmodium*

Antimalarial Activity for Kapur Leaves (*Harmsioplanax aculeatus*) Compound for *Plasmodium sp.*

Abstract

Malaria is a disease caused by the *Plasmodium* parasite and transmitted by *Anopheles* mosquitoes. Every year the number of malaria cases can be returned from 300-500 million and failing 1.5 to 2.7 million deaths. Antimalarial drug resistance has arisen in various countries. Development of new drugs needed to reduce resistance. Many compounds isolated *in vitro* and *in vivo* have been shown to inhibit the development of *Plasmodium* in the cycle or circulation of human blood, one of the *Harmsioplanax aculeatus* kapur leaves. How it works by hem polymerization as one of the intermediate actions of antimalarial drugs. Phytochemical tests of the most active fractions inhibit hem polymerization from methanol extracts of lime (*Harmsioplanax aculeatus*) containing essential oils (eugenol), saturated fatty acids (palmitic acid) and their esters (isopropyl myristate and methyl ester palmitate) and phthalic acid esters. Triterpenoid compounds, steroids, flavonoids, saponins, tannins, steroids, terpenoids, alkaloids, and phenols. This compound is proven to be an antimalarial in *Plasmodium*. The content of the fraction mixture (FG2, FG3, FG4) in the FCR3 strain showed the lower the concentration of the test material, the lower the contribution of *Plasmodium* growth inhibition. Research using vero cells, lime leaves are proven to have a toxicity effect.

Keywords: kapur leaves (*Harmsioplanax aculeatus*), malaria, *plasmodium*

Korespondensi: Jl. Purnawirawan gg.swadaya 5C perum pualam mulia residence no 2A, gunung terang, kecamatan Langkapura, Kota Bandar Lampung. Email: rizkadwifebrianti@gmail.com handphone: 081362231210

Pendahuluan

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp* dan ditularkan oleh nyamuk *Anopheles sp.* Secara global, penyebarannya sangat luas yaitu di wilayah antara garis

bujur 60° di utara dan 40° di selatan, meliputi lebih dari 100 negara beriklim tropis dan sub tropis. Penduduk yang berisiko terkena malaria berjumlah sekitar 2,3 miliar atau 41% dari penduduk dunia.¹ Setiap tahun jumlah

kasus malaria berjumlah 300-500 juta dan mengakibatkan 1,5 s/d 2,7 juta kematian, terutama di Afrika sub Sahara. Asia Selatan dan Asia Tenggara serta Amerika Tengah. Wilayah yang kini sudah bebas malaria adalah Eropa, Amerika Utara, sebagian besar Timur Tengah, sebagian besar Karibia, sebagian Amerika Selatan. Australia dan Cina.²

Malaria merupakan suatu penyakit infeksi akut maupun kronik yang disebabkan oleh infeksi *Plasmodium sp* yang menyerang eritrosit dan ditandai dengan ditemukannya bentuk aseksual dalam darah, dengan gejala demam, menggigil, anemia, dan pembesaran limpa.³

Kendala dalam penanggulangan malaria adalah adanya resistensi terhadap obat antimalaria⁴. Resistensi obat antimalaria ini dapat menghambat eliminasi malaria sehingga Malaria masih menjadi masalah kesehatan utama di seluruh dunia dengan sekitar 3,2 miliar orang berada pada risiko infeksi malaria dan sekitar 1,2 miliar orang pada risiko tinggi yaitu lebih dari 1 /1000 kemungkinan malaria / tahun).^{5,6}

Penelitian tentang resistensi obat antimalaria baru-baru ini telah diketahui. Resistensi tersebut dapat disebabkan karena mutasi gen Pfk13 pada kodon Y493H, R539T, C580Y, dan M476L. Mutasi pada kodon ini menghasilkan produk yang berbeda sehingga dapat mengganggu mekanisme dari obat antimalaria. Resistensi yang berhubungan dengan polimorfisme gen K13 juga telah dilaporkan di berbagai negara termasuk Thailand, Myanmar, Vietnam, Laos dan Bangladesh. Di Indonesia sendiri tepatnya di Kabupaten Pesawaran Lampung telah dilakukan studi terkait polimorfisme gen Pfk13 namun pada penelitian tersebut tidak didapatkan adanya mutasi pada kodon Y493H, R539T, C580Y atau M476L. keadaan

resistensi tersebut diduga dapat disebabkan oleh faktor obat, imunitas pasien dan faktor parasiterelated.⁷

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rachman Aziz dkk tahun 2018 menunjukkan bahwa infeksi multiklonial dapat menyebabkan terjadinya resistensi karena adanya perbedaan strain yang berbeda pada *Plasmodium falciparum* yang diakibatkan adanya mutasi pada gen-gen pada *plasmodium sp*. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa terdapat variasi genetik gen *Plasmodium falciparum* *Glutamate Rich Protein* (PFGLURP) dari penderita malaria di wilayah kerja Puskesmas Hanura, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung.⁸

Timbulnya resistensi *Plasmodium sp* terhadap antimalaria mendorong para peneliti mencari antimalaria baru untuk menggantikan antimalaria yang tidak efektif lagi. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan tanaman yang berasal dari alam yang digunakan oleh masyarakat untuk mengobati malaria.⁹

Banyak senyawa alam berhasil diisolasi dan dibuktikan aktivitas antiplasmodium baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Senyawa-senyawa tersebut umumnya metabolit sekunder golongan alkaloid, terpen, kuasinoid, flavanoid, limonoid, kalkon, peptida, xanton, kuinon, kumarin, dan beberapa obat antimalaria bahan alam lainnya.¹⁰ Obat antimalaria ideal harus memenuhi beberapa kriteria, salah satu kriteria adalah mempunyai efek samping ringan dengan toksisitas rendah sehingga tidak merugikan penderita.¹¹

Tanaman *Harmsioplanax aculeatus* (Bl. Ex. DC) Harms merupakan tanaman obat yang telah digunakan secara luas oleh masyarakat Maluku untuk mengobati malaria. Oleh masyarakat Maluku tanaman ini disebut "pohon kapur". Pada penelitian sebelumnya uji aktivitas antiplasmodium secara *in vivo* terhadap mencit yang diinfeksi

dengan *Plasmodium berghei* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kapur (*Harmsiopanax aculeatus*) yang diberikan secara intraperitoneal memiliki aktivitas paling baik sebagai antiplasmodium dengan nilai ED50 sebesar 16,16 mg/kgBB dan Fraksi gabungan 8 (FG8) dari ekstrak metanol telah terbukti menghambat polimerisasi hem sebagai salah satu mekanisme aksi obat antimalaria dengan nilai IC50 sebesar 18,22 µg/mL. Uji fitokimia fraksi paling aktif menghambat polimerisasi hem dari ekstrak metanol daun kapur (*Harmsiopanax aculeatus*) mengandung minyak atsiri (eugenol), asam lemak jenuh (asam palmitat) dan esternya (isopropil miristat dan metil ester palmitat) serta ester asam ftalat (bis(2-metilpropil) ftalat, butil 2-metilpropil ftalat, dan bis(2- etilheksil) ftalat).¹²

Isi

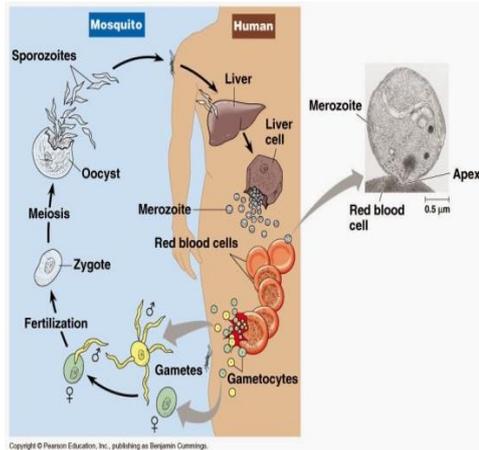
Malaria adalah suatu penyakit akut maupun kronik disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp* dengan manifestasi berupa demam, anemia dan pembesaran limpa. Ada 2 jenis makhluk yang berperan besar dalam penularan malaria yaitu parasit malaria (yang disebut *Plasmodium*) dan nyamuk *anopheles* betina. Parasit malaria memiliki siklus hidup yang kompleks, untuk kelangsungan hidupnya parasit tersebut membutuhkan *host* (tempatnya menumpang hidup) baik pada manusia maupun nyamuk, yaitu nyamuk *anopheles*. Nyamuk *Anopheles* betina akan terinfeksi dengan *gametocyte* (bentuk *sexual plasmodium*) saat menggigit seorang penderita malaria. *Gametocyte* akan berkembang dalam tubuh nyamuk menjadi *sporozoite* lebih kurang 6-12 hari, yang selanjutnya dapat ditularkan kepada manusia lain melalui gigitannya. Ada empat jenis spesies parasit malaria di dunia yang dapat menginfeksi sel darah merah manusia, yaitu^{13,14} (1) *Plasmodium falciparum*, (2) *Plasmodium*

vivax, (3) *Plasmodium malariae*, (4) *Plasmodium ovale*.

Siklus parasit malaria pada gambar 1. Ketika nyamuk *anopheles* betina (yang mengandung parasit malaria) menggigit manusia, akan keluar sporozoit dari kelenjar ludah nyamuk lalu masuk ke dalam darah dan jaringan hati. Dalam siklus hati parasit malaria membentuk stadium skizon jaringan dalam sel hati (stadium ekso-eritrositer). Setelah sel hati pecah, akan keluar merozoit yang masuk ke eritrosit membentuk stadium skizon dalam eritrosit (stadium eritrositer). Didalam siklus sirkulasi darah mulai membentuk troposit muda sampai skizon tua/matang sehingga eritrosit pecah dan keluar merozoit. Sebagian besar Merozoit masuk kembali ke eritrosit dan sebagian kecil membentuk gametosit jantan.²

Siklus Pada Nyamuk *Anopheles* Betina. Betina yang siap untuk diisap oleh nyamuk malaria betina dan melanjutkan siklus hidupnya di tubuh nyamuk (stadium sporogoni). Didalam lambung nyamuk, terjadi perkawinan antara sel gamet jantan (mikro gamet) dan sel gamet betina (makro gamet) yang disebut zigot. Zigot berubah menjadi ookinet, kemudian masuk ke dinding lambung nyamuk berubah menjadi ookista. Setelah ookista matang kemudian pecah, keluar sporozoit yang berpindah ke kelenjar liur nyamuk dan siap untuk ditularkan ke manusia.²

Plasmodium falciparum pada siklus hidupnya, akan bermultiplikasi dan menghancurkan hemoglobin sel hospes di vakuola makanan untuk kebutuhan nutrisi. Proses penghancuran hemoglobin ini menghasilkan molekul hem yang toksik yaitu ferriprotoporphyrin IX (FPIX). Parasit malaria intraeritrositik mampu mendegradasi molekul hem menjadi sesuatu yang tidak berbahaya yang disebut hemozoin.



Gambar 1. Siklus hidup parasit *Plasmodium sp.*

Suatu polimer yang identik dengan hemozin adalah β -hematin. β -hematin dapat dibentuk secara *in vitro* dari hematin dalam suasana asam. β -hematin yang terbentuk diukur absorbansinya menggunakan Elisa Reader. Penghambatan polimerisasi hem didapat dengan membandingkan absorbansi pada kelompok perlakuan dengan kadar β -hematin pada kurva.¹⁵

Kemampuan antiplasmodium dalam menghambat polimerisasi hem berhubungan langsung dengan kemampuannya sebagai antimalaria, walaupun diketahui bahwa mekanisme kerja antiplasmodium tidak hanya melalui penghambatan polimerisasi hem saja. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem sebenarnya merupakan kerja satu atau dua mekanisme, yaitu (1) terjadi interaksi antara senyawa terpenoid, fenol dan sterol dengan sistem elektronik hem, (2) ekstrak daun kapur terdiri dari senyawa-senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan ion besi hem.^{16,17} Melihat hal tersebut, mekanisme kerja ekstrak daun kapur tua (*H. aculeatus*) dalam menghambat polimerisasi hem adalah berinteraksinya senyawa fenolik dengan sistem elektronik hem dan gugus hidroksil yang berikatan dengan ion besi hem.¹⁷

Hasil uji profil fitokimia pada daun kapur memperlihatkan adanya kandungan dari senyawa flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan fenol. Aktivitas antimalaria suatu tanaman diduga karena adanya kandungan senyawa terpenoid yang dimiliki. Hasil penelitian menyatakan bahan senyawa bioaktif terpenoid yang diekstrak dari tanaman *Diospyros rubra* dapat berfungsi sebagai antimalaria. Senyawa triterpenoid yang diekstrak dari tanaman *Erythrina variegata* diketahui memiliki aktivitas antimalaria. Ekstrak heksana daun tanaman *Azadirachta indica* A Juss, mampu menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium berghei* sebesar 78,35%. Fraksi-fraksi ini diperoleh dari ekstrak tanaman yang ternyata mengandung senyawa triterpenoid, steroid dan fenolik.¹⁸

Penelitian lain menemukan kandungan senyawa fraksi (FG2, FG3, FG4) pada strain FCR3. menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi bahan uji, semakin rendah pula persentase penghambatan pertumbuhan *Plasmodium*. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi bahan uji yang diberikan, maka semakin besar pula pertumbuhan *Plasmodium* dihambat. Aktivitas antiplasmodium bahan alam dikategorikan sebagai berikut: aktivitas tinggi bila $IC_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$, aktivitas menjanjikan jika $IC_{50} = 5-15 \mu\text{g/mL}$, aktivitas moderat jika $IC_{50} = 15-50 \mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif jika $IC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kategori tersebut, FG2, FG3 dan FG4 memiliki aktivitas menjanjikan sehingga berpotensi untuk dikembangkan dalam pencarian dan penemuan senyawa aktif antimalaria.¹⁸

Uji aktivitas antimalaria *in vitro* menunjukkan bahwa terdapat tiga sampel dari ekstrak batang *Eucalyptus globules* (*Myrtaceae*), ekstrak batang *Fraxinus griffithi* (*Meliaceae*) dan ekstrak daun *Piper sulcatum*

(*Piperaceae*) mempunyai aktivitas antimalaria yang baik dengan nilai IC50 berturut-turut 0,55; 0,33 dan 0,20 µg/ml. Hal ini didukung dengan adanya laporan bahwa senyawa golongan alkaloid, terpenoid dan flavonoid mayoritas berperan sebagai antimalaria.¹⁸

Pada uji fitokimia senyawa daun kapur penelitian oleh Turalely dengan menggunakan berbagai pereaksi kimia seperti pada tabel 1. Hasil analisis fitokimia ekstrak daun kapur menunjukkan bahwa ekstrak heksan mengandung senyawa metabolit sekunder steroid, ekstrak etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, steroid dan flavanoid sedangkan ekstrak metanol mengandung senyawa metabolit

sekunder fenolik, steroid, saponin dan flavanoid.¹²

Persentase kematian sel vero akibat pemberian ekstrak heksan daun kapur semakin besar dengan bertambahnya konsentrasi bahan uji selama inkubasi 24 jam. Pada konsentrasi 250 µg/ml baru memperlihatkan efek membunuh sel vero yang berarti bahwa pada konsentrasi tersebut telah memperlihatkan efek toksisitas sel normal. IC50 ekstrak heksan adalah 667,74 µg/ml dan pada konsentrasi 1000 µg/ml menunjukkan efek toksisitas mendekati 100%. Berbeda dengan ekstrak metanol. Efek membunuh sel normal oleh ekstrak metanol mulai ditunjukkan pada konsentrasi 62,5 µg/ml. Namun pada

Tabel 1. Hasil uji fitoimia ekstrak daun kapur (*H. Aculeatus*)¹²

Jenis Pereaksi	Golongan senyawa	Hasil uji fitokimi		
		EH	EEA	EM
Dragendrof	Alkaloid	+	+	+
FeCl ₃ 1%	Fenolik (polifenol)	-	+	+
5% KOH	Antrakuinon	-	-	-
Alkoholosis Lieberman - Burchard	Steroid	+	+	+
Air hangat (ekstrak dipanaskan dan dikocok)	Saponin	-	-	+
2ml HCl 2N, 2 ml ekstrak dan serbuk Zn, campuran dikocok	Flavanoic	-	+	+

EH = ekstrak heksan, **EEA** = ekstrak etil asetat dan **EM** = ekstrak metanol

konsentrasi 1000 µg/ml, efek toksisitas sel sebanyak 50% belum diperlihatkan.¹⁹

Ringkasan

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp* dan ditularkan oleh nyamuk *Anopheles sp.* Terapi pengobatan memerangi parasit *Plasmodium sp* yang

menyebabkan malaria terus menerus terhalang oleh munculnya resistensi obat. *Plasmodium* memiliki 2 siklus, yakni siklus di hati dan sirkulasi darah manusia. Tanaman *Harmsioplanax aculeatus* digunakan secara luas oleh masyarakat Maluku untuk mengobati malaria. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem tanaman *Harmsioplanax aculeatus* sebenarnya

merupakan kerja satu atau dua mekanisme, yaitu (1) terjadi interaksi antara senyawa terpenoid, fenol dan sterol dengan sistem elektronik hem, (2) ekstrak daun kapur terdiri dari senyawa-senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan ion besi hem. Tanaman Hasil uji profil fitokimia pada daun kapur memperlihatkan adanya kandungan dari senyawa flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan fenol. Aktivitas antimalaria suatu tanaman diduga karena adanya kandungan senyawa terpenoid yang dimiliki.

Simpulan

Tanaman *Harmsioplanax aculeatus* memiliki senyawa triterpenoid, steroid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan fenol. Senyawa tersebut terbukti sebagai antimalaria pada *Plasmodium sp.*

Daftar Pustaka

1. Anonim. WHO Expert Committee on Malaria, Twentieth Report, World Health Organization Technical Report Series 892, Geneva. Geneva: WHO. 2000
2. Harijanto PN. Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganan. Jakarta: EGC. 2000
3. Harijanto PN. Malaria. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid III, edisi IV. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 2006:1754-60.
4. Hott A, Casandra D, Sparks KN, Morton LC, Castanares GG, Rutter A, dkk. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* parasites exhibit altered patterns of development in infected erythrocytes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(6):3156-67.
5. WHO. World Malaria Report 2014. Geneva: World Health Organization; 2015.
6. Irawati N, Kurniawan B, Suwandi JF, Hasmiwati, Tjong DH, Kanedi M. Determination of the Falciparum Malaria Resistance to Artemisinin-based Combination Therapies in Pesawaran, Lampung, Indonesia. *Asian Journal of Epidemiology.* 2017; 10(1):19-25.
7. Kurniawan B, Irawati N, Suwandi, JF, Tjong DH. Study Of The K13 Gene Polymorphisms In *Plasmodium falciparum* In Pesawaran, Lampung, Indonesia. *Pak. J. Biotechnol.* 2018; 15 (4) 871-874.
8. Aziz R, Kurniawan B, Mutiara H, Suwandi JF. Identifikasi Gen *Plasmodium falciparum* Glutamate Rich Protein (PfgIurp) dari Penderita Malaria di Wilayah Kerja Puskesmas Hanura Kabupaten Pesawaran Provinsi Lampung. *J Majority.* 2018; 7(2): 108-111
9. Suwandi JF. Wijayanti MA, Mustofa. Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Antiplasmodium Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens*) In Vitro. *Prosiding. Lampung: Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II, Universitas Lampung.* 2008. 4:113-120.
10. Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarial From Nature. *Article of Bioorganic & Medical Chemistry. Department of Medicinal Chemistry. National Institute of Pharmaceutical Education and Research, India.* 2009
11. Mustofa. Obat Antimalaria Baru: Antara Harapan dan Kenyataan. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada. 2009:9.
12. Turalely R. Fraksi Antiplasmodium Paling Aktif Dari Daun Kapur (*Harmsioplanax aculeatus* Harms) Dan Identifikasi Beberapa

- Kandungan Senyawanya
Menggunakan GC-MS. Tesis.
Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta. 2011:23-25
13. Gunawan S. Epidemiologi Malaria. Dalam: Harijanto PN (editor). Malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan. Jakarta: EGC, Hal: 1-15, 2000.
 14. Rampengan TH. Malaria Pada Anak. Dalam: Harijanto PN (editor). Malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan. Jakarta: EGC, Hal: 249-60, 2000.
 15. Wijaya F, Salenus J, Marantika J. Potensi ekstrak metanol daun kapur (*harmisoplanax aculeatus*, harms) sebagai obat antimalaria. 2016
 16. Bassilico N, Pagani E, Monti D, Olliaro P dan Taramelli D. A Microtitre based Method for Measuring the Haem Polymerization Inhibitory Activity (HPIA) of Antimalarial Drugs. J. Antimicrob. Chemother. 1998;42: 55-60.
 17. Syarif RA. Aktivitas antiplasmodium fraksi larut eter ekstrak metanol daun kembang bulan (*tithonia diversifolia* (hemsley) a. gray) pada plasmodium falciparum secara in vitro. Tesis. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. 2007
 18. Suci LR, dan Bachtiar I. Triterpenoid fraction antimalarial activity test from methanol extract made by leaf artocarpus camansi against plasmodium berghei by in vivo. natural B. 2013;2(2), 196-199.
 19. Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS. Antimalarial Agents from Plant Sources. Current Science. 2008;8 (9):1314-1329.