

**AKTIVITAS ANTIMALARIA PENGHAMBATAN POLIMERISASI
HEME EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) DAN
DAUN PEPAYA (*Carica papaya*)**

**M. Arifuddin*, Mahfuzun Bone, Rolan Rusli, Hadi Kuncoro,
Islamuddin Ahmad, Laode Rijai**
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda

*Email: marifuddin@farmasi.unmul.ac.id

Artikel diterima: 26 November 2018; Disetujui: 4 Maret 2019

ABSTRAK

Dalam upaya pencarian sumber obat baru dari tumbuhan sebagai antimalaria berbasis pengetahuan etnobotani secara turun temurun, maka dilakukan pengujian penghambatan polimerisasi heme dari ekstrak etanol 70% daun Pepaya (*Carica papaya*) dan daun Jambu Biji (*Psidium guajava*). Data yang diperoleh dihitung IC_{50} dengan menggunakan SPSS 22 diperoleh bahwa ekstrak etanol 70% daun Pepaya (*Carica papaya*) dan daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) memiliki aktivitas sebagai antimalaria masing-masing sebesar 7.914 dan 8.794 mg/ml serta berpotensi untuk dikembangkan dalam penelitian lebih lanjut sebagai antimalaria.

Kata kunci: Ekstrak Etanol, *Carica papaya*, *Psidium guajava*, antimalaria, heme

ABSTRACT

*In an effort to find new sources of medicinal plants as antimalarials based on ethnobotany knowledge from generation to generation. Therefore, tested the inhibition of heme polymerization from 70% ethanol extract of papaya leaves (*Carica papaya*) and Guava (*Psidium guajava*) leaves. The data obtained were calculated by IC_{50} using SPSS 22 obtained that 70% ethanol extract of Pepaya leaves (*Carica papaya*) and Jambu Biji leaves (*Psidium guajava*) had antimalarial activities of 7,914 and 8,794 mg/ml respectively and their had the potential to be developed in more research further as antimalarial.*

Keywords: Ethanol extract, *Carica papaya*, *Psidium guajava*, antimalarial, heme

PENDAHULUAN

Malaria selain disebabkan oleh *P. falciparum* juga *P. vivax* yang terjadi di empat negara, yakni Ethiopia, India, Indonesia, dan Pakistan dengan angka kejadian mencakup lebih dari 80% dari

perkiraan kasus yang ada (Kumari & Ghildiyal, 2014). Angka kejadian malaria di indonesia masih didominasi di kawasan timur indonesia, yakni terlihat dari angka kesakitan malaria (*Annual Paracite Incidence /API*) per 1.000 penduduk

dengan provinsi tertinggi yaitu papua (31,93), papua barat (31,29), nusa tenggara timur (7,04), maluku (5,81), dan maluku utara (2,77) (Kemenkes, 2016). Menurut WHO (2017), dilaporkan banyak kasus malaria di indonesia masih banyak disebabkan oleh *P. falciparum* (55%), *P. vivax* (44%) dan kebanyakannya ditularkan oleh nyamuk jenis Anopheles seperti *A. sundaicus*, *A. balabacensis*, *A. maculatus*, *A. farauti*, dan *A. Subpictus* (WHO, 2017).

Di berbagai belahan dunia, chloroquine masih digunakan sebagai terapi awal malaria. Namun di Indonesia telah dilaporkan terjadi resistensi dalam pengobatan malaria (Surjadjaja *et al*, 2016). Oleh karena itu, pencarian senyawa sebagai sumber obat baru yang berasal dari tumbuhan merupakan salah satu pendekatan dalam kemoterapi. Dimulai dari identifikasi pengetahuan tentang tanaman obat dalam suatu masyarakat yang berkembang selama beberapa generasi sebelum dilakukan pengembangan modifikasi senyawa kimia yang telah diketahui aktivitasnya sebagai upaya untuk meningkatkan aktivitas kerjanya

seperti dalam pengobatan malaria dari kina dan turunan dari artemisinin (Rosenthal, 2003).

Dalam pengetahuan etnobotani, Suku Dayak Kenyah yang mendiami daerah Apo Kayan di Kalimantan Timur dan suku dayak Pesaguan yang terletak di daerah Serengkah, Kalimantan Barat serta masyarakat dusun Serambai kecamatan Kembayan kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat menggunakan Pepaya (*Carica papaya*) sebagai pengobatan (Leaman *et al*, 1995); (Sari *et al*, 2014); (Due *et al*, 2013). Menurut Abdillah, masyarakat sei kepayang, Sumatera Utara menggunakan Pepaya (*Carica papaya*) dan Jambu Biji (*Psidium guajava*) sebagai obat Malaria dan hasil pengujian ekstrak daun Pepaya dan ekstrak daun Jambu Biji sebagai antimalaria pada *Plasmodium berghei* diperoleh masing-masing IC50 0.177 dan 0.625 µg/ml (Abdillah *et al*, 2014); (Abdillah *et al*, 2015).

Salah satu upaya untuk mengatasi malaria didasarkan pada perawatan yang tepat untuk pasien sehingga diperlukan ketersediaan obat-obatan yang mendukung hal

tersebut. Hal ini menjadi tantangan tersendiri dalam penemuan senyawa obat sebagai antimalaria. Oleh karena itu, perlu upaya yang intensif dalam pencarian pengobatan malaria dari sumber bahan alam.

Berdasarkan hal tersebut sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antimalaria dari daun Pepaya (*Carica papaya*) dan daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dalam penghambatan polimerisasi heme.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah daun Pepaya (*Carica papaya*) dan daun Jambu Biji (*Psidium guajava*), etanol 70%, Tablet Kina (kinina sulfat), aquadest, natrium hidroksida, asam asetat glasial, Dimetil sulfoksida (DMSO), Hematin dan aluminium foil.

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian adalah blender, neraca analitik (*Precisa XB 4200 C*®, *Precisa XT 220 A*®), toples, pipet tetes, batang pengaduk, gelas kimia (*Pyrex*®), gelas ukur (*Pyrex*®), labu

ukur (*Pyrex*®), tabung reaksi (*Pyrex*®), rotary evaporator (*Buchi*), cawan porselin, kaca arloji, spatula, rak tabuk reaksi, tabung eppendorf, mikroplate 96 sumuran dan sentrifugator

Prosedur Pengujian Penelitian

Pengambilan sampel penelitian

Dilakukan pengambilan sampel penelitian berupa daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dan daun Pepaya (*Carica papaya*) di daerah Samarinda, Kalimantan Timur. Masing-masing sampel penelitian dilakukan sortasi kering dan basah. Setiap sampel dipotong kecil-kecil hingga diperoleh ukuran yang sesuai dan dilakukan penimbangan. Pengeringan dalam oven menggunakan suhu 50°C selama beberapa hari hingga betul-betul kering.

Pembuatan simplisia

Hasil simplisia yang kering dibuat serbuk sesuai derajat kehalusan yang diinginkan menggunakan blender. Kemudian, ditimbang masing-masing simplisia sebelum dimasukkan dalam wadah toples untuk dilakukan ekstraksi.

Metode ekstraksi

Dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% selama 5 hari dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh pelarut ekstraksinya bening (tidak berubah). Maserat yang diperoleh kemudian dirotavapor hingga diperoleh ekstrak kental

Pengujian penghambatan polimerisasi heme

Pengujian penghambatan polimerisasi heme menggunakan metode Basilico (1998) yang telah dimodifikasi. Dilakukan pembuatan konsentrasi uji pada masing-masing 20; 10; 5; 2,5; 1,25 mg/ml dengan terlebih dahulu menimbang 20 mg masing-masing ekstrak yang dilarutkan dalam 1 ml sebagai larutan stok uji (100 μ l DMSO dan 900 μ l aquadest) dan selanjutnya dibuat masing-masing konsentrasi yang diinginkan.

Pembuatan kurva baku hematin dimulai dari pembuatan larutan hematin 1 mM dalam NaOH 0,2 M yang selanjutnya dibuat konsentrasi larutan baku hematin 125; 62,5; 31,25; 15,625 dan 7,8125 mM dengan menambahkan larutan hematin 1 mM dalam NaOH 0,1 N masing-masing

sebanyak 400 μ l. Pengujian penghambatan polimerisasi heme dengan mengambil 100 μ l hematin 1 mM dalam NaOH 0,2 M kemudian ditambahkan 50 μ l masing-masing konsentrasi uji setiap ekstrak dan 50 μ l asam asetat glasial hingga mencapai pH 2,6 dalam tabung eppendorf dan diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Selanjutnya, disentrifugasi dengan 800 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dicuci dengan 200 μ l DMSO dan proses sentrifugasi dan pencucian dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah proses pencucian terakhir, endapannya ditambahkan 200 μ l NaOH 0,1 M dan diambil 100 μ l dimasukkan dalam mikroplate 96 sumuran masing-masing 3 replikasi dan diukur serapannya pada elisa reader 405 nm. Dicatat nilai absorbansi yang diperoleh.

Analisis Data

Data yang diperoleh dihitung analisis probit (IC_{50}) dengan menggunakan program SPSS 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia dari ekstrak etanol 70% daun jambu biji dan daun

pepaya masing-masing mengandung tanin, terpenoid, kuinon, alkaloid dan flavonoid (Arifuddin, 2018). Beberapa senyawa alkaloid, terpen, flavonoid, kuinon, xanton, kumarin, peptida, fenol dan lignan telah dilaporkan sebagai antimalaria (Sebisubi, 2011). Termasuk juga, senyawa diterpenoids, flavonoid, polifenol, saponin, alkaloid, kaempferol, dan acetogenin diketahui memiliki aktivitas antimalaria (Somsak *et al*,

2016). Sehingga dalam pendekatan senyawa kandungan, masing-masing ekstrak berpotensi sebagai antimalaria.

Mekanisme antimalaria dengan menghambat pembentukan hemozoin dianggap cara yang ampuh dalam merancang penemuan obat antimalaria untuk menanggulangi malaria yang telah resistan terhadap beberapa obat (Afshar *et al*, 2018); (Joshi *et al*, 2017).

Tabel 1. Hasil penghambatan polimerisasi heme ekstrak etanol 70% daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Konsentrasi	Kadar Hemozoin	Penghambatan	% Penghambatan	IC ₅₀ (mg/ml)
1.25	134.924	0.279	27.905	7.914
2.5	125.633	0.329	32.870	
5	86.219	0.539	53.930	
10	65.949	0.648	64.761	
20	23.438	0.875	87.476	

Tabel 2. Hasil penghambatan polimerisasi heme ekstrak etanol 70% daun Pepaya (*Carica papaya*)

Konsentrasi	Kadar Hemozoin	Penghambatan	% Penghambatan	IC ₅₀ (mg/ml)
1.25	131.827	0.296	29.560	8.794
2.5	127.886	0.317	31.666	
5	142.948	0.236	23.618	
10	36.810	0.803	80.331	
20	7.953	0.958	95.750	

Eritrosit pada bagian vakuola sel yang terinfeksi malaria akan mengalami peningkatan produksi ferriprotoporphyrin IX (heme) yang digunakan sebagai sumber makanan yang berasal dari penggunaan hemoglobin oleh parasit selama dalam butir sel darah merah (*intraerthrocytic*). Heme yang terbentuk bersifat toksik karena dapat mempengaruhi metabolisme sel dengan cara menghambat enzim, membran *peroxidizing* dan menghasilkan radikal bebas oksidatif. Oleh karena itu, parasit mengubah heme tersebut menjadi hemozoin (β -hematin) yang dikenal sebagai pigmen malaria dalam vakuola parasit. Tanpa adanya aktivitas oksigenase heme dalam mendetoksifikasi heme, maka parasit akan mengoksidasi dalam pembentukan Hemozoin. Proses ini disebut dengan polimerisasi heme (Francis *et al*, 1997); (Rathore *et al*, 2006); (Tripathi *et al*, 2001); (Chong, 2003).

Oleh karena itu, senyawa-senyawa yang bekerja sebagai antimalaria dalam jalur penghambatan polimerisasi heme

akan menghalangi pembentukan hemozoin yang tidak toksik bagi parasit dari heme (Fe^{2+}) yang mengalami dimerisasi menjadi hematin(Fe^{3+}). Hasil penghambatan tersebut akan merusak membran sel parasit akibat dari terganggunya enzim protease parasit (O'Neill *et al*, 2010). Enzim protease bagi parasit tersendiri sangat penting karena membantu mendegradasi hemoglobin sehingga dapat menghasilkan sumber makanan selama hidup pada inangnya (Tripathi *et al*, 2001).

Penggunaan kristal hematin dalam pengujian ini yang didasarkan pada kemiripan morfologi dari kristal murni β -hematin dan hemozoin dari *P. falciparum* yang diamati pada *Field emission in lens scanning electron microscopy* (FEISEM) termasuk mempunyai struktur ikatan hidrogen pada dimer yang sama (Chong, 2003).

Dilaporkan klorokuin dan sejumlah antimalaria quinolin lainnya seperti amodiakuin, kuinidin, dan kuinin mempunyai kemampuan dalam penghambatan β -hematin (Egan *et al*, 2005). Dalam mekanisme penghambatan ferriprotoporphyrin IX (heme), aktivitas quinidine lebih kuat

daripada klorokuin yang mungkin disebabkan oleh quinidin memiliki afinitas yang lebih tinggi dari kristal ferriprotoporphyrin IX (heme) (Chong, 2003).

Hasil dalam pengujian penghambatan polimerisasi heme diketahui ekstrak daun Jambu Biji dan daun Pepaya sangat berpotensi sebagai antimalaria sesuai tabel 1 dan 2. Ada kemungkinan bila dilakukan pemisahan lebih lanjut kedua ekstrak tersebut, dapat diperoleh senyawa yang berpotensi sebagai antimalaria.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian penghambatan polimerisasi heme, kedua sampel tersebut, ekstrak etanol 70% daun Pepaya (*Carica papaya*) dan daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) memiliki aktivitas sebagai antimalaria dan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antimalaria.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih banyak diucapkan kepada Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan

Pendidikan Tinggi atas pembiayaan penelitian ini dengan nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2018 dan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman yang telah memberikan izin untuk menggunakan fasilitas Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian FARMAKA TROPIS serta ketua Departemen Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada atas penggunaan fasilitas Laboratorium hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, S., Tambunan, R., Sinaga, Y. and Farida, Y. (2014). Ethno-botanical survey of plants used in the traditional treatment of malaria in Sei Kepayang, Asahan of North Sumatera. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, pp.S104-S107.
- Abdillah, S., Tambunan, R., Farida, Y., Sandhiutami, N. and Dewi, R. (2015). Phytochemical screening and antimalarial activity of some plants traditionally used in Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(6), pp.454-457.
- Afshar, F.H., Delazar, A., Asnaashari, S., Vaez, H., Zolali, E., Asgharian, P. (2018). Screening

- of Anti-Malarial Activity of Different Extracts Obtained from Three Species of *Scrophularia* Growing in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(2): 668-676
- Arifuddin, M., Bone., M. (2018). Skrining Fitokimia Dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Tumbuhan Antimalaria Asal Indonesia. *Jurnal Sains dan Kesehatan*
- Basilico, N. (1998). A microtitre-based method for measuring the haem polymerization inhibitory activity (HPIA) of antimalarial drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42(1), pp.55-60.
- Chong, C. R., Sullivan, D. J. (2003). Inhibition of heme crystal growth by antimalarials and other compounds: implications for drug discovery. *Biochemical Pharmacology*, 66(11), 2201-2212. doi:10.1016/j.bcp.2003.08.009
- Due R., Symaswisna Dan Marlina, R. (2013). Etnobotani Tumbuhan Obat Suku Dayak Pesaguan Dan Implementasinya Dalam Pembuatan *Flash Card* Biodiversitas. Artikel Penelitian. Program Studi Pendidikan Biologi Fkip Untan Pontianak.
- Egan, Timothy J., Kanyile K. Ncokazi. Quinoline Antimalarials Decrease the Rate of β -Hematin Formation. *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 99, no. 7, 2005, pp. 1532-1539., doi:10.1016/j.jinorgbio.2005.04.013.
- Francis S.E., Sullivan D.J., Goldberg D.E. (1997). Hemoglobin metabolism in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Annu Rev Microbiol* 51: 97-123.
- Joshi, S., Munshi, R., Talele, G., Shah, R. (2017). An experimental *in vitro* study to evaluate the antimalarial activity of select homeopathy preparations. *International Journal of Medical and Health Research*, Volume 3, Issue 7, Page No. 65-68.
- Kumari, M., & Ghildiyal, R. (2014). Clinical Profile of *Plasmodium vivax* Malaria in Children and Study of Severity Parameters in relation to Mortality: A Tertiary Care Centre Perspective in Mumbai, India. *Malaria Research and Treatment*, 2014, 1-6. doi:10.1155/2014/765657
- Kemenkes RI. (2016). Profil Kesehatan Indonesia 2015. Jakarta. <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/profil-kesehatan-Indonesia-2015.pdf>
- Leaman, D., Arnason, J., Yusuf, R., Sangat-Roemantyo, H., Soedjito, H., Angerhofer, C. and Pezzuto, J. (1995). Malaria remedies of the Kenyah of the Apo Kayan, East Kalimantan, Indonesian Borneo: A quantitative assessment of local consensus as an indicator of biological efficacy. *Journal of*

- Ethnopharmacology*, 49(1), pp.1-16.
- O'Neill, P. M., Barton, V. E., Ward, S. A. (2010). The Molecular Mechanism of Action of Artemisinin—The Debate Continues. *Molecules*, 15(3), 1705-1721.
doi:10.3390/molecules15031705
- Rathore D., Jani D., Nagrakatti R., Kumar S. (2006). Heme detoxification and anti-malarial drugs – known mechanisms and future prospects. *Drug Discov Today Ther Strateg* 3: 153-158.
- Rosenthal, P. J. (2003). Antimalarial drug discovery: Old and new approaches. *Journal of Experimental Biology*, 206(21), 3735-3744.
doi:10.1242/jeb.00589
- Tripathi A.K., Gupta A., Garg S.K., Tekwani B.L. (2001). In vitro β -hematin formation assays with plasma of mice infected with *Plasmodium yoelii* and other parasite preparations comparative inhibition with quinoline and endoperoxide antimalarials. *Life Sci* 69: 2725-33.
- Sari, R.Y., Wardenaar, E. dan Muflihati. 2014. Etnobotani Tumbuhan Obat Di Dusun Serambai Kecamatan Kembayan Kabupaten Sanggau Kalimantan Barat. *Jurnal Hutan Lestari*, Vol 2, No 3.
- Sebisubi FM, Tan GT. 2011. Natural products with antimalarial activity, in *Phytochemistry and Pharmacognosy* section, Chemical Sciences, Engineering and Technology Resources. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO. EOLSS Publishers. Oxford, UK.
(<http://www.eolss.net>).
- Somsak, V., Polwiang, N., Chachiyo, S. 2016. *In Vivo* Antimalarial Activity of *Annona muricata* Leaf Extract in Mice Infected with *Plasmodium berghei*. *Journal of Pathogens*. Volume 2016, Article ID 3264070, 5 pages.
doi.org/10.1155/2016/3264070
- Surjadjaja, C., Surya, A., & Baird, J. K. (2016). Epidemiology of *Plasmodium vivax* in Indonesia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(6 Suppl), 121-132. doi:10.4269/ajtmh.16-0093
- WHO. (2017). World Malaria Report 2016. World Health Organization. Geneva. Available at: <http://www.who.int/entity/malaria/publications/world-malaria-report-2016/WMR-2016-profiles.pdf> [Accessed 1 Jul. 2017].