

# **EFFECT OF ANTIMALARIA HERBAL SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees) ON MORPHOLOGY CHANGES OF DEVELOPMENT AND PARASITE *Plasmodium Falciparum***

Erika Maria Resi

## **ABSTRACT**

*The emergence of resistance of Plasmodium that infect humans against malaria eradication Artemisinin add to the difficulty. Therefore it is necessary to search for new antimalarial drugs derived from natural or synthetic materials other than the vaccine have not been successful.*

*The results of fractionation or isolation of the ethanol extract of bitter herbs (*Andrographis paniculata* Nees) and ethanol extracts obtained andrographolide compound which is the main active substance of bitter herbs belonging to the lactone.*

*Test antimalarial activity of ethanol extract and andrographolide compounds against Plasmodium falciparum in vitro studies suggest that andrographolide compound said to have anti-malarial activity as compared to active ethanol extract with IC<sub>50</sub> values of 0.220 µg/ml .*

*Test the effect of andrographolide compounds bitter herbs (*Andrographis paniculata* Nees) on the development and morphology of the parasite stages of *P. falciparum* in vitro studies suggest that there are barriers to the development stage of the parasitic stage and schizont stage trophozoite to schizont stage into ring -stage parasites grow and cause an abnormal morphology.*

*The conclusion of this study is that the antimalarial herb bitter (*Andrographis paniculata* Nees) especially andrographolide compound said to have anti-malarial activity as in vitro , causing developmental delays or obstacles stage parasites grow and cause an abnormal morphology. Therefore antimalarial bitter herbs in this compound andrographolide potentially be used as an antimalarial drug that is new blood schizonticidal.*

*Keywords : bitter herbs, antimalarial activity, the development stage, the morphology of the parasites*

## **PENDAHULUAN**

Malaria merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi yaitu bayi,

balita, ibu hamil, selain itu malaria secara langsung menyebabkan anemia dan dapat menurunkan produktifitas kerja. Penyakit ini juga masih endemis di sebagian besar wilayah Indonesia (Buletin

Epidemiologi Malaria di Indonesia, 2011).

*The world malaria report* (2011) melaporkan bahwa setengah dari penduduk dunia berisiko terkena malaria. Transmisi malaria di Indonesia juga masih terjadi, laporan riset kesehatan dasar menunjukkan hingga tahun 2011, terdapat 374 Kabupaten endemis malaria. Jumlah kasus malaria di Indonesia 256.592 orang dari 1.322.451 kasus suspek malaria yang diperiksa sediaan darahnya, dengan *Annual Parasite Incidence* (API) 1,75 per seribu penduduk artinya bahwa setiap 1000 penduduk di daerah endemis terdapat 2 orang terkena malaria.

Timbulnya resistensi *Plasmodium* yang menyerang manusia terhadap *Artemisinin* menambah kesulitan pemberantasan malaria. Oleh karena itu perlu mencari obat antimalaria baru yang berasal dari bahan alam maupun sintesis selain vaksin yang belum berhasil.

Golongan senyawa dari tumbuhan yang bersifat antimalaria telah banyak antara lain alkaloid, lakton, terpenoid,

*xanton* dan *flavonoid* (Saxena, 2003; Ignatushchenko et al., 1997).

*Andrographis paniculata* Nees atau dikenal dengan nama daerah sambiloto merupakan tanaman obat yang secara empiris digunakan sebagai antimalaria. Tanaman ini mempunyai kandungan utama senyawa golongan diterpen lakton andrografolida sebesar  $\pm 2,5\%$  dalam simplisia kering, sedangkan dalam ekstrak etanol sebesar  $\pm 10,69\%$  (Ekasari, 1998; Adlan, 1997). Suatu obat atau bahan obat dikatakan memiliki aktivitas antimalaria sangat kuat (sangat aktif) bila memiliki nilai  $IC_{50} < 0,1 \mu\text{g/mL}$ , kuat (aktif) bila nilai  $IC_{50}$  sebesar  $0,1 - 1,0 \mu\text{g/mL}$ , dikatakan memiliki aktifitas baik hingga sedang bila nilai  $IC_{50}$  sebesar  $1,1 - 10 \mu\text{g/mL}$ . Lalu dikatakan memiliki aktifitas lemah sebagai antimalaria bila nilai  $IC_{50}$  sebesar  $11 - 25 \mu\text{g/mL}$  dan dianggap sangat lemah bila nilai  $IC_{50}$  sebesar  $26 - 50 \mu\text{g/mL}$ . Kemudian apabila nilai  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$  maka dapat digolongkan ekstrak tidak aktif atau inaktif sebagai antimalaria (Omar, 2007).

Pemberian obat antimalaria pada eritrosit yang terinfeksi parasit dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perubahan morfologi parasit (Philipson, 1991). Perubahan morfologi tersebut dapat dikaitkan dengan mekanisme dan target dari obat malaria dalam membunuh parasit (Fidock, 2003).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antimalaria ekstrak etanol dan senyawa andrografolida dari herba sambiloto secara *in vitro* terhadap tahapan perkembangan stadium dan perubahan morfologi parasit *P. falciparum* yang diamati dengan mikroskop cahaya

### **SUBYEK DAN METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96%, ekstrak etanol deklorofil dan senyawa andrografolida herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Ekstrak etanol dan senyawa andrografolida herba sambiloto ini kemudian di uji aktivitasnya secara *in vitro*.

Dan pengaruhnya terhadap tahapan perkembangan stadium dan perubahan morfologi parasit *P. falciparum* diamati dengan mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan pada jam ke-24, 48 dan 72 jam setelah inkubasi.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa andrografolida aktif sebagai antimalaria dengan nilai  $IC_{50}$  0,220  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan dengan ekstrak etanol yang memiliki aktifitas baik - sedang. Pengaruh ekstrak etanol dan senyawa andrografolida terhadap perkembangan stadium dan perubahan morfologi parasit menunjukkan adanya hambatan perkembangan stadium dan perubahan morfologi parasit. Pada kontrol negatif yang tidak diberi bahan uji jam ke-0 menunjukkan stadium cincin, jam ke-24 sudah berkembang menjadi stadium skizon, jam ke-48 berkembang menjadi stadium cincin selanjutnya pada jam ke-72 menunjukkan stadium skizon. Sedangkan pada ekstrak etanol

dan senyawa andrografolida dan kontrol positif menunjukkan gambaran yang berbeda. Pada jam ke-0 kontrol positif, ekstrak etanol dan senyawa andrografolida berada pada stadium cincin, jam ke-24 sebagian berada pada stadium skizon dan sebagian lagi masih berada pada stadium trophozoit. Pada jam ke-48, ekstrak etanol berada pada stadium skizon sedangkan untuk senyawa andrografolida berada pada stadium trophozoit. Pada jam ke-72, ekstrak etanol berada pada stadium skizon sedangkan untuk senyawa andrografolida berada pada stadium trophozoit. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan adanya hambatan perkembangan stadium parasit pada stadium trophozoit dan skizon.

Pengamatan terhadap morfologi parasit menunjukkan bahwa pada jam ke-24 terhadap kultur yang di beri ekstrak dan senyawa andrografolida herba sambiloto telah terlihat adanya efek pada morfologi parasit malaria *P. falciparum* dimana pada stadium cincin dengan sitoplasma menebal, trophozoit

sitoplasma menebal dengan sedikit pigmen berwarna gelap sedangkan pada stadium skizon sitoplasma berwarna gelap, tidak mempunyai inti dan parasit telah terdegradasi/mati. Pada masa inkubasi 48 jam, stadium cincin dengan sitoplasma menebal dan parasit tidak membentuk cincin, stadium trophozoit dengan sitoplasma tipis dan stadium skizon dengan sitoplasma mengecil dan hanya terdapat inti, parasit telah terdegradasi/mati. Sedangkan pada masa inkubasi 72 jam, stadium cincin tanpa sitoplasma, stadium trophozoit dengan sitoplasma tipis dan skizon dengan sitoplasma mengecil, solid/rapat dan parasit telah terdegradasi/mati. Pada kontrol negatif tanpa pemberian bahan uji, biakan *P. falciparum* berkembang dengan morfologi yang normal.

Gambaran terhadap perkembangan stadium dan perubahan morfologi parasit dapat digunakan sebagai salah satu informasi mekanisme kerja suatu senyawa aktif malaria terhadap *P. falciparum* (Hoppe et al., 2004).

Hambatan perkembangan pembentukan trophozoit menjadi skizon dapat menghambat lepasnya sporozoit-sporozoit baru yang akan menginfeksi eritrosit baru. Trophozoit merupakan stadium dimana metabolisme dan pengambilan nutrisi oleh parasit paling tinggi. Adanya hambatan perkembangan parasit pada stadium trophozoit dapat terjadi hambatan pengambilan nutrisi, hal ini dapat menyebabkan kematian parasit. Sedangkan hambatan perkembangan pada stadium skizon menjadi cincin dapat menghambat pecahnya merozoit-merozoit tersebut untuk menginfeksi eritrosit-eritrosit yang baru. Merozoit dalam eritrosit selanjutnya mengalami pertumbuhan dan pembelahan menjadi bentuk cincin dan selanjutnya berkembang menjadi trophozoit. Untuk hal ini parasit melakukan metabolisme aktif dengan jalan mengingesti sitoplasma eritrosit inang dan menghidrolisis sekitar 60-80% hemoglobin menjadi asam amino untuk memenuhi kebutuhan nutrisinya. Oleh karena itu hambatan pada stadium trophozoit

dan skizon akan menyebabkan pertumbuhan dan maturasi dari parasit menjadi terhambat sehingga mempengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan dari parasit dan dapat menyebabkan kematian parasit.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian terhadap antimalaria herba sambiloto maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol mempunyai aktivitas antimalaria baik-sedang sedangkan senyawa andrografolida mempunyai aktivitas aktif sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum* yang menghambat perkembangan stadium parasit pada stadium trophozoit dan skizon dan menyebabkan parasit bertumbuh dengan morfologi yang abnormal. Oleh karena itu antimalaria herba sambiloto dalam hal ini senyawa andrografolida potensial untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria yang berefek skizontosida darah.

### **Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai target biokimiawi antimalaria herba sambiloto terutama pada senyawa andrografolida sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria baru yang berefek skizontosida darah.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

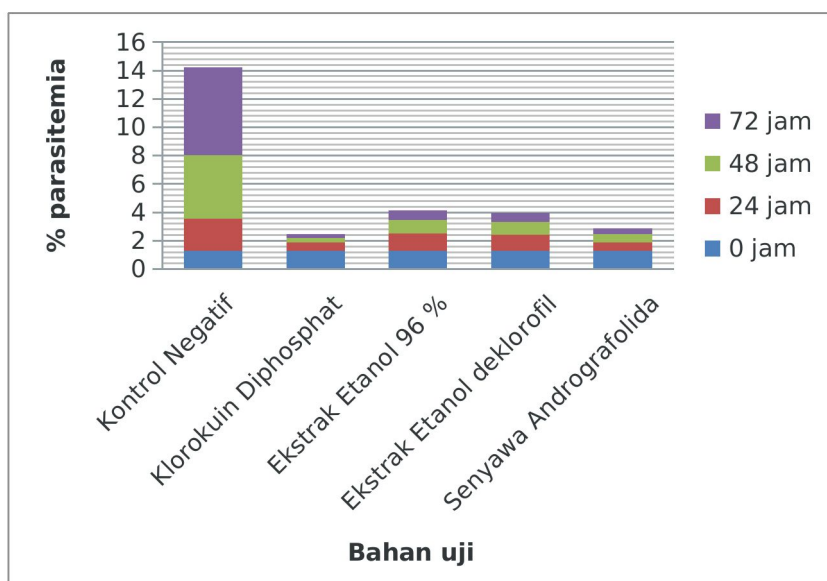
- Adlan, M., 1997. Standarisasi Ekstrak Etanol Herba Sambiloto dengan Parameter Kadar Andrographolida secara Densitometri, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
- Ekasari W, 1998. Penetapan Kadar Andrographolida Dalam Simplisia Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata Nees*) dan Produk Obat Tradisionalnya untuk Data Standarisasi, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
- Fidock DA, Rosenthal PJ, Croft SL, Brun R, Nwaka S, 2004. Antimalarial Drug Discovery; Efficacy Models For Compound Screening, Nature Reviews, Drug Discover, Vol.3. p 509-520
- Ignatushchenko MV, Winter RW, Baechinger HP, Hinrichs DJ, Riscoe MK, 1997. Xanthenes as antimalarial agents; studies of a possible mode of action. FEBS Letters 409:67-70
- Kemenkes, 2011. Buletin Epidemiologi Malaria di Indonesia
- Omar Wann A., et al., 2007. In Vitro and In Vivo Antiplasmodial Properties Of Some Malaysian Plants Used In Traditional Medicine. Infectious Disease Journal of Pakistan, Volume 16 Issue 04
- Saxena S, Pant N, Jain D C, Bhakuni R S, 2003. Antimalarial agents from plant sources. Current science, vol.85,no.9,10 november 2003 : 1314-29

## Lampiran 1

**Tabel 5.6 Hasil pengamatan efek antimalaria herba sambiloto terhadap pertumbuhan dan tahapan perkembangan parasit *P. falciparum* strain 3D7 menggunakan mikroskop cahaya pada inkubasi 24, 48 dan 72 Jam**

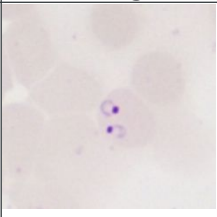
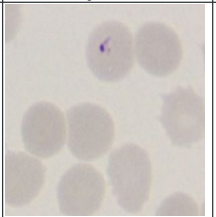
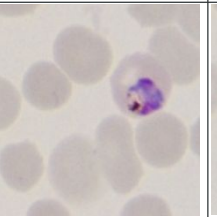
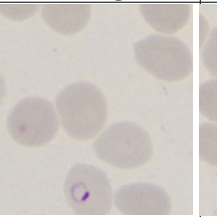
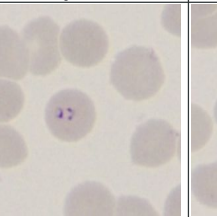
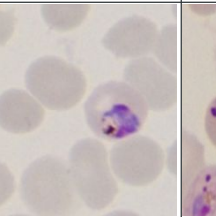
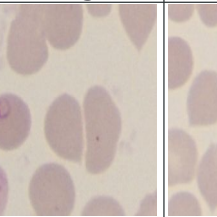
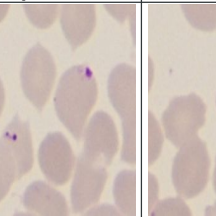
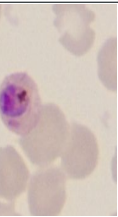
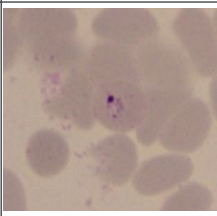
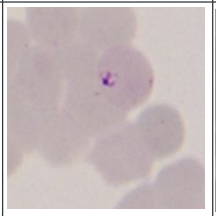
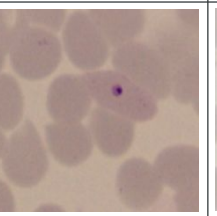
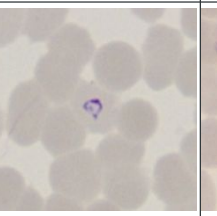
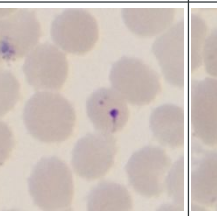
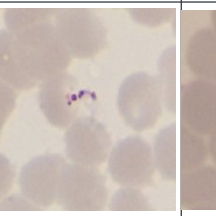
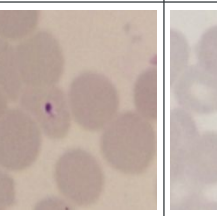
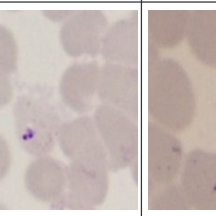

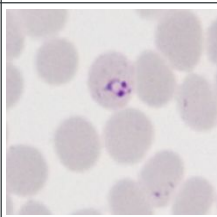
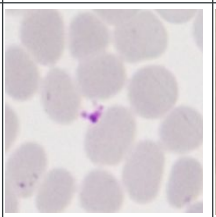
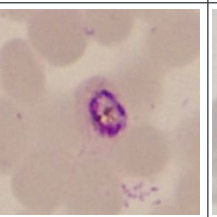
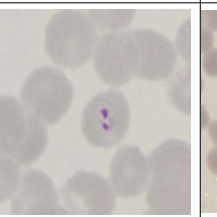
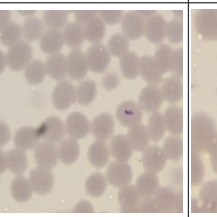
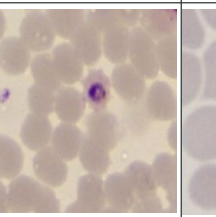
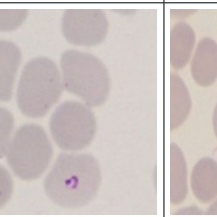
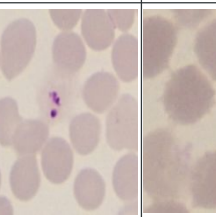
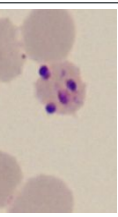
Bahan Uji	Waktu Inkubasi	Stadium Parasit			% Parasitemia	% Pertumbuhan	% Hambatan
		R	T	S			
Kontrol Negatif	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	2	5	106	2,26	1,00	0
	48 jam	217	2	5	4,48	3,22	0
	72 jam	20	6	284	6,20	4,94	0
Klorokuin Diphosphat	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	5	16	8	0,58	0	74,34
	48 jam	3	5	9	0,34	0	92,41
	72 jam	1	5	7	0,26	0	95,81
Ekstrak Etanol 96%	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	4	14	44	1,24	0	45,13
	48 jam	5	10	32	0,94	0	79,02
	72 jam	2	10	23	0,70	0	88,71
Ekstrak Deklorofil Etanol	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	7	23	28	1,16	0	48,67
	48 jam	4	15	25	0,88	0	80,36
	72 jam	2	17	12	0,62	0	90,00
Senyawa Andrografolida	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	1	10	20	0,62	0	72,57
	48 jam	2	21	6	0,58	0	87,05
	72 jam	1	13	5	0,38	0	93,87

R = Ring (cincin), T = Trophozoit, S = Skizon

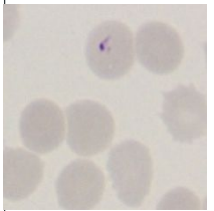
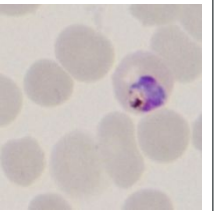
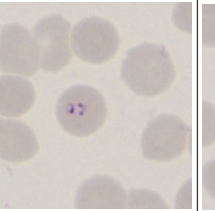
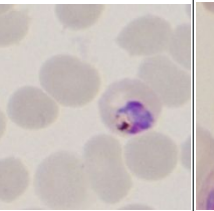
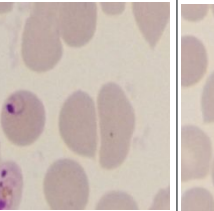
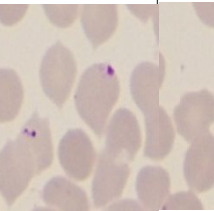
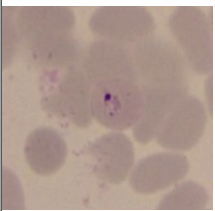
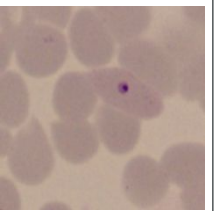
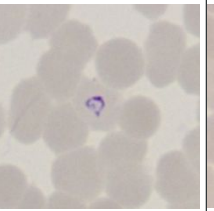
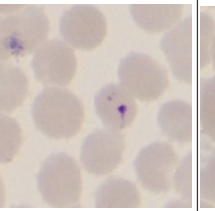
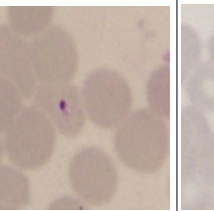
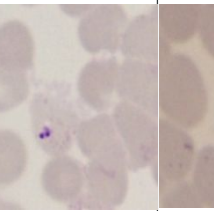
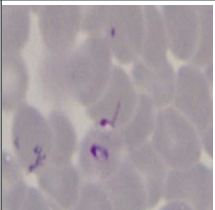
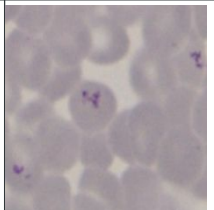
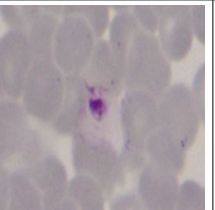
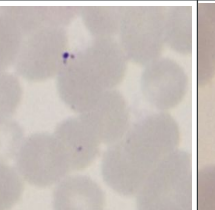
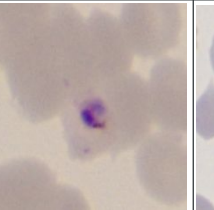
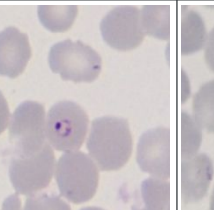
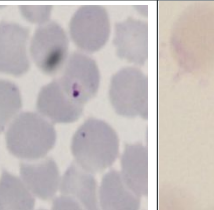
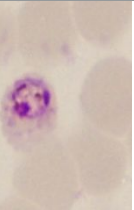


Gambar 5.5 Grafik Tingkat parasitemia bahan uji

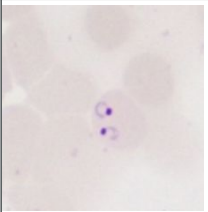
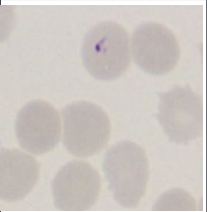
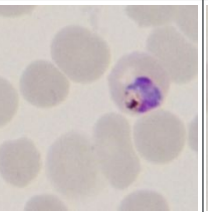
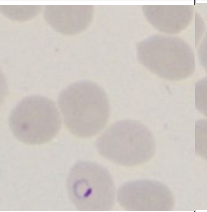
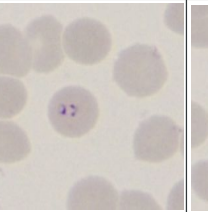
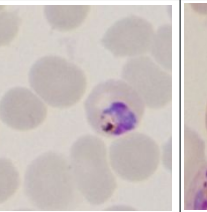
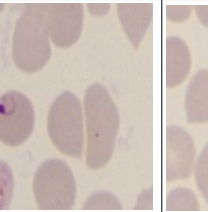
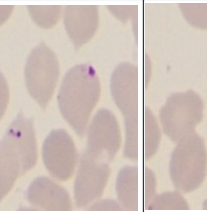
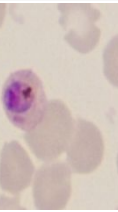
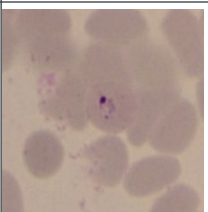
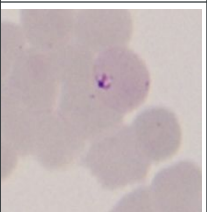
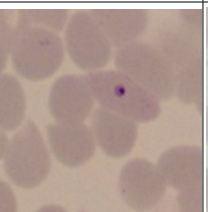
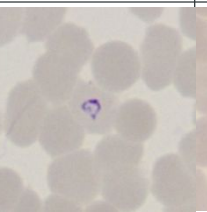
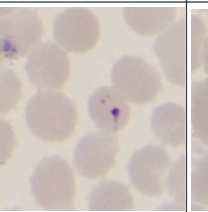
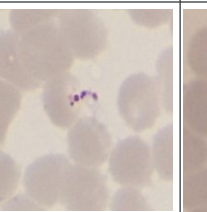
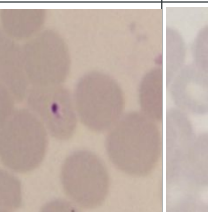
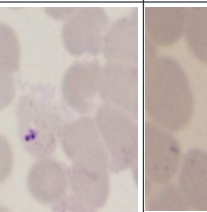

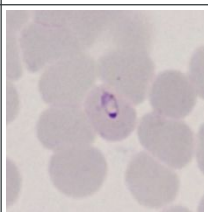

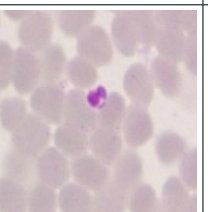
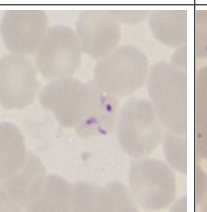
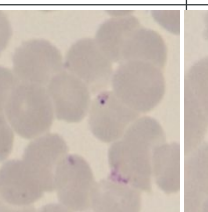
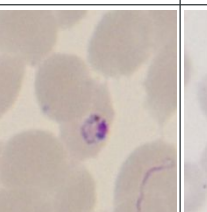
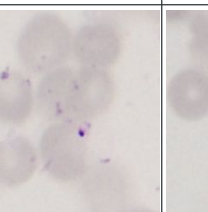
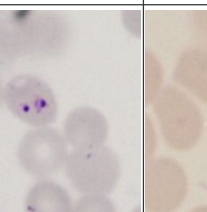



Bahan Uji	Waktu pengamatan								
	24 jam			48 jam			72 jam		
	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon
Kontrol Negatif									
Klorokuin									
Esktrak Etanol 96%									

Gambar 5.7 Efek ekstrak etanol 96% herba sambiloto pada konsentrasi 2,287 µg/mL terhadap morfologi parasit *P. falciparum* strain 3D7 setelah diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam

Bahan Uji	Waktu pengamatan								
	24 jam			48 jam			72 jam		
	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon
Kontrol Negatif									
Klorokuin									
Esktrak Etanol Deklorofil									

Gambar 5.9 Efek ekstrak etanol deklorofil herba sambiloto pada konsentrasi 1,812 µg/mL terhadap morfologi parasit *P. falciparum* strain 3D7 setelah diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam

Bahan Uji	Waktu pengamatan								
	24 jam			48 jam			72 jam		
	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon
Kontrol Negatif									
Klorokuin									
Senyawa Andrografolida									

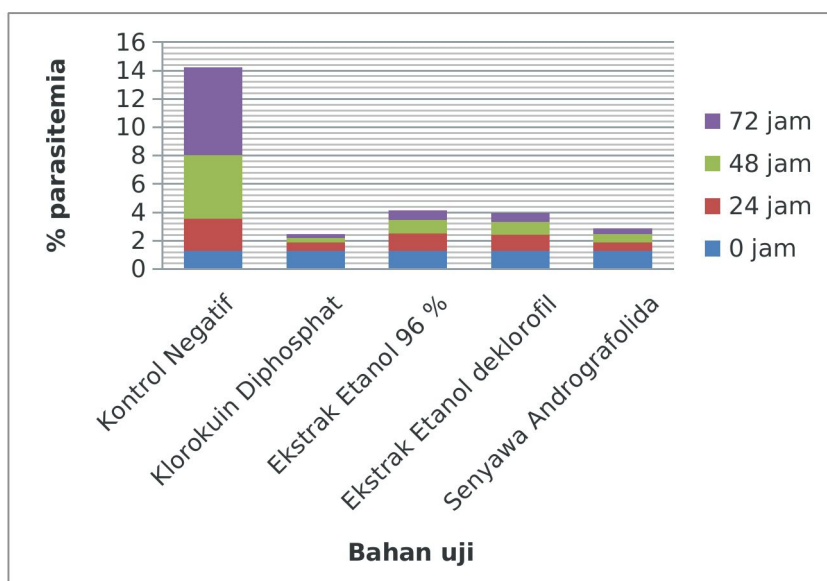
Gambar 6.1 Efek senyawa andrografolida herba sambiloto pada konsentrasi 0,220 µg/mL terhadap morfologi parasit *P. falciparum* strain 3D7 setelah diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam

## Lampiran 1

**Tabel 5.6 Hasil pengamatan efek antimalaria herba sambiloto terhadap pertumbuhan dan tahapan perkembangan parasit *P. falciparum* strain 3D7 menggunakan mikroskop cahaya pada inkubasi 24, 48 dan 72 Jam**

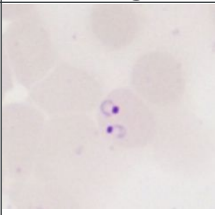
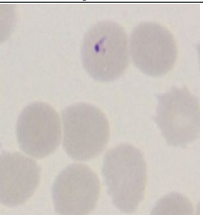
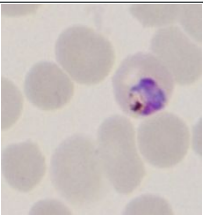
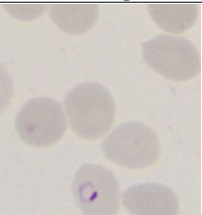
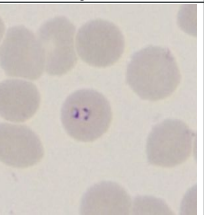
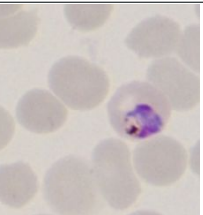
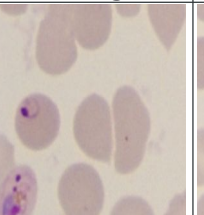
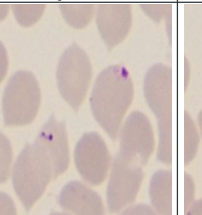
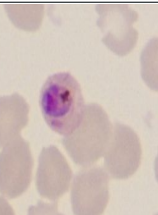
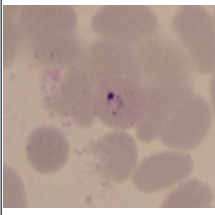
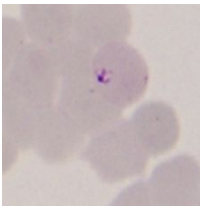
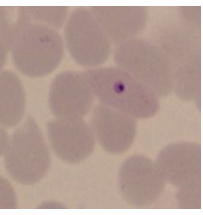
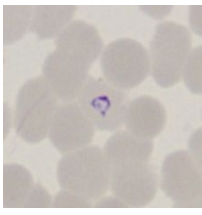
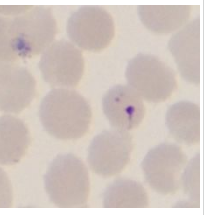
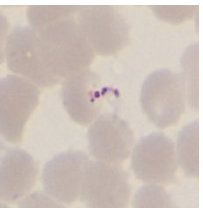
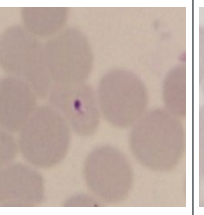
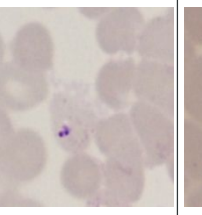
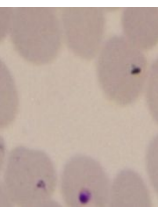
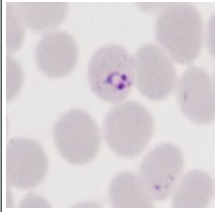
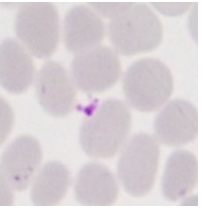
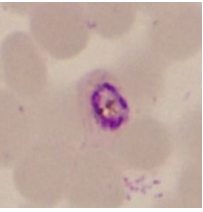
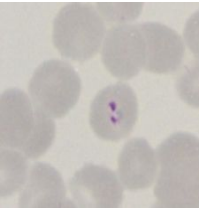
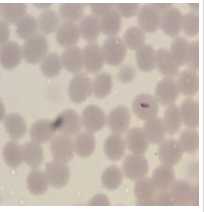
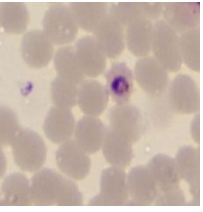
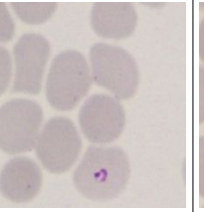
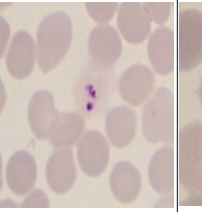
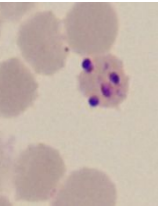
Bahan Uji	Waktu Inkubasi	Stadium Parasit			% Parasitemia	% Pertumbuhan	% Hambatan
		R	T	S			
Kontrol Negatif	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	2	5	106	2,26	1,00	0
	48 jam	217	2	5	4,48	3,22	0
	72 jam	20	6	284	6,20	4,94	0
Klorokuin Diphosphat	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	5	16	8	0,58	0	74,34
	48 jam	3	5	9	0,34	0	92,41
	72 jam	1	5	7	0,26	0	95,81
Ekstrak Etanol 96%	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	4	14	44	1,24	0	45,13
	48 jam	5	10	32	0,94	0	79,02
	72 jam	2	10	23	0,70	0	88,71
Ekstrak Etanol Deklorofil	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	7	23	28	1,16	0	48,67
	48 jam	4	15	25	0,88	0	80,36
	72 jam	2	17	12	0,62	0	90,00
Senyawa Andrografolida	0 jam	57	4	2	1,26	0	0
	24 jam	1	10	20	0,62	0	72,57
	48 jam	2	21	6	0,58	0	87,05
	72 jam	1	13	5	0,38	0	93,87

R = Ring (cincin), T = Trophozoit, S = Skizon

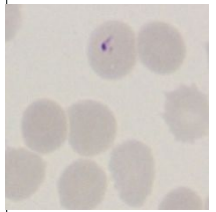
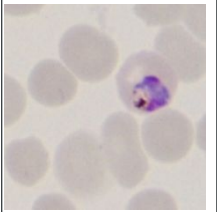
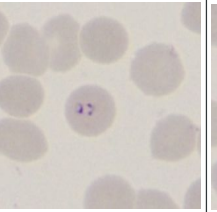
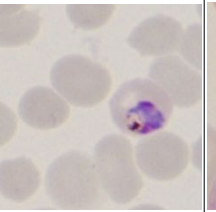
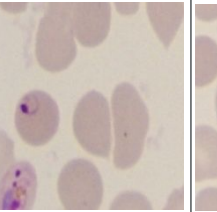
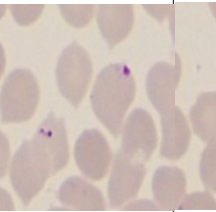
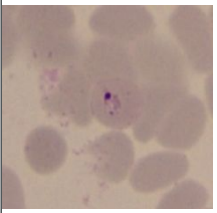
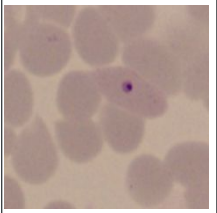
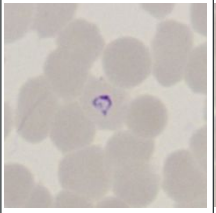
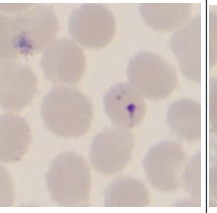
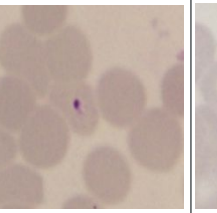
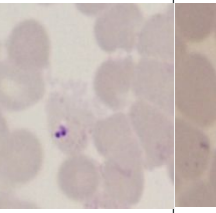
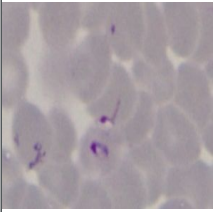
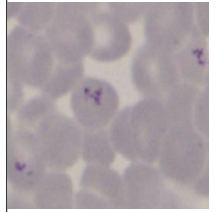
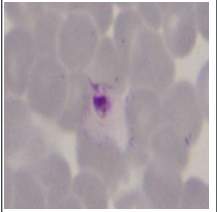
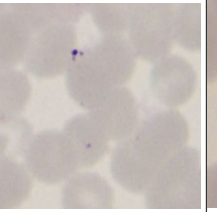
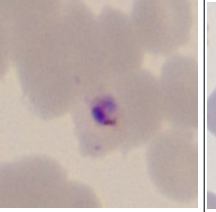
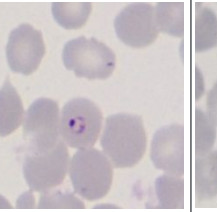
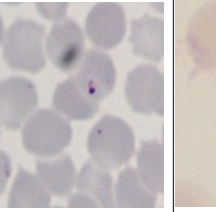
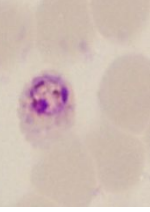


Gambar 5.5 Grafik Tingkat parasitemia bahan uji



Bahan Uji	Waktu pengamatan								
	24 jam			48 jam			72 jam		
	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon
Kontrol Negatif									
Klorokuin									
Esktrak Etanol 96%									

Gambar 5.7 Efek ekstrak etanol 96% herba sambiloto pada konsentrasi 2,287 µg/mL terhadap morfologi parasit *P. falciparum* strain 3D7 setelah diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam

Bahan Uji	Waktu pengamatan								
	24 jam			48 jam			72 jam		
	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon
Kontrol Negatif									
Klorokuin									
Esktrak Etanol Deklorofil									

Gambar 5.9 Efek ekstrak etanol deklorofil herba sambiloto pada konsentrasi 1,812 µg/mL terhadap morfologi parasit *P. falciparum* strain 3D7 setelah diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam

Bahan Uji	Waktu pengamatan								
	24 jam			48 jam			72 jam		
	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon	Ring	Tropozoit	Skizon
Kontrol Negatif									
Klorokuin									
Senyawa Andrografolida									

Gambar 6.1 Efek senyawa andrografolida herba sambiloto pada konsentrasi 0,220 µg/mL terhadap morfologi parasit *P. falciparum* strain 3D7 setelah diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam