

BAB II STUDI PUSTAKA

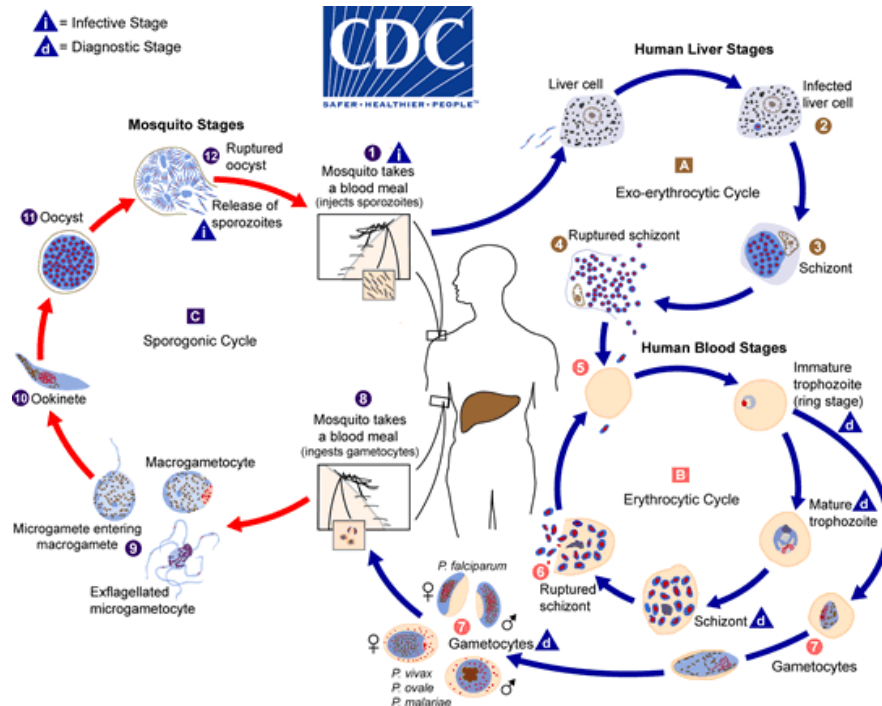
2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Malaria

Indonesia merupakan satu di antara beberapa negara beriklim tropis. Wilayah di Indonesia yang teridentifikasi sebagai daerah endemis malaria terutama terdapat di Indonesia timur (Karyana *et al.*, 2008; WHO, 2015). Indonesia termasuk daerah endemis malaria dan diperkirakan 35% populasi penduduk Indonesia menderita kasus malaria. Kasus malaria di Indonesia berkisar 15 juta dengan tingkat kematian sebanyak 38.000 setiap tahunnya (WHO, 2014).

Malaria merupakan penyakit menular yang disebabkan *Plasmodium sp.* *Plasmodium* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles sp.* betina. Terdapat 5 spesies *Plasmodium* yang diketahui dapat menginfeksi manusia, yaitu: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* dan *Plasmodium knowlesi*. Jenis *Plasmodium* yang dapat mematikan bagi manusia adalah *Plasmodium falciparum*. Siklus hidup *Plasmodium* terjadi tidak hanya di dalam tubuh manusia, akan tetapi juga di dalam tubuh nyamuk (CDC, 2019). Siklus hidup *Plasmodium* pada manusia dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi *Plasmodium* akan menginokulasikan sporozoit pada saat nyamuk tersebut menghisap darah manusia. Sporozoit akan segera menuju sel hati, menginfeksi sel-sel hati dan berkembang menjadi skizon. Skizon hati yang telah matur akan segera pecah dan melepaskan merozoit. Merozoit yang bersirkulasi dalam pembuluh darah akan menginfeksi sel darah merah, yang kemudian terbentuklah trofozoit (bentuk cincin) yang akan berkembang menjadi skizon eritrosit. Skizon eritrosit yang telah matur akan pecah dan melepaskan merozoit kembali untuk selanjutnya menginfeksi sel eritrosit lainnya. Beberapa merozoit yang telah menginfeksi eritrosit selain membentuk stadium trofozoit, akan tetapi ada beberapa yang akan membentuk stadium gametosit jantan (mikrogametosit) dan betina (makrogametosit).



Gambar 2.1. Siklus hidup *Plasmodium* dalam tubuh manusia
(Sumber:(CDC, 2019))

Infeksi *Plasmodium* yang banyak di dalam tubuh manusia akan menimbulkan terjadinya malaria berat yang dapat menimbulkan kematian. Berat ringannya infeksi *Plasmodium* juga dipengaruhi oleh respon imun penderita. Infeksi yang terjadi pada penderita umumnya akan timbul antara 7-15 hari setelah infeksi, yang dipengaruhi jenis *Plasmodium sp.* yang menginfeksi. Gejala yang sering timbul seperti menggigil, demam, berkeringat, anemia, nyeri otot, dan diare (Natadisastra, 2009).

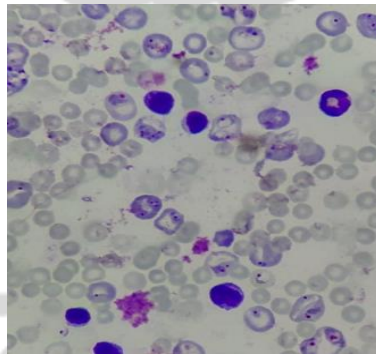
2.1.2. *Plasmodium berghei*

Terdapat empat jenis *Plasmodium sp* yang digunakan untuk model malaria pada rodent yaitu *Plasmodium chabaudi*, *Plasmodium yoelii*, *Plasmodium vinckei* dan *Plasmodium berghei*. Dari keempat spesies tersebut, *P. berghei* yang sering digunakan untuk uji antimalaria. Salah satu rodent yang dapat terinfeksi adalah mencit (*Mus Musculus*) sering digunakan sebagai model penelitian dan pengembangan biologi parasit malaria. Analisis secara molekuler menunjukkan bahwa *P.berghei* memiliki banyak kesamaan dengan *P. falciparum* (Darlina, 2011), selain itu secara morfologi *P. berghei* juga tidak berbeda dengan gambaran *Plasmodium* pada manusia (Gambar 2.2). *P. falciparum* dapat menyebabkan

komplikasi pada malaria sehingga dipergunakan *P. berghei* pada penelitian ini diharapkan memiliki manifestasi klinis seperti *P. falcifarum*.

Siklus hidup *P. berghei* serupa dengan *Plasmodium* yang hidup di dalam tubuh manusia. Parasit akan menginfeksi sel hepar yang kemudian akan menginfeksi eritrosit, selain itu juga akan memberikan tanda seperti anemia dan kerusakan organ-organ seperti paru-paru, hati, limpa (Spaccapelo *et al*, 2010). Berikut adalah klasifikasi taksonomi *P. berghei* :

Regnum	: Animalia
Subregnum	: Protozoa
Filum	: Sporozoa
Kelas	: Sporozoea
Sub Kelas	: Coccidea
Super Ordo	: Eucoccidea
Ordo	: Haemosporida
Famili	: Haemosporidae
Genus	: <i>Plasmodium</i>
Spesies	: <i>Plasmodium berghei</i>



Gambar 2.2 *Plasmodium berghei* pada sel eritrosit
(Sumber: Koleksi Pribadi, 23 Oktober 2019)

2.1.3. Antimalaria

Berdasarkan patogenesis tersebut maka tatalaksana malaria bertujuan untuk mengeradikasi parasit intraseluler yaitu dengan menggunakan obat antimalaria (Fitriany dan Sabiq, 2018). Antimalaria merupakan obat-obat yang digunakan untuk mencegah dan mengobati infeksi *Plasmodium sp*. Penanganan malaria yang dilakukan sejak dini dapat mengurangi morbiditas dan mortalitas

akibat infeksi *Plasmodium sp.* (Kinansi *et al.*, 2017). Tujuan utama pemberian obat antimalaria adalah menghilangkan parasit pada stadium eritrosit (Cui *et al.*, 2015). Obat antimalaria yang ideal adalah obat yang efektif pada semua jenis stadium, memiliki efek samping rendah dan memiliki toksisitas rendah. Obat antimalaria saat ini dapat diperoleh melalui isolasi senyawa dari tanaman atau hasil modifikasi struktur kimia dari senyawa tanaman. Obat yang berasal dari tanaman atau hasil modifikasi struktur adalah obat golongan quinolin yaitu artemisinin dan turunannya.

Salah satu obat yang dapat digunakan untuk mengobati malaria adalah klorokuin. Klorokuin memiliki sifat antiplasmodium yang berkerja pada stadium gametosit, namun kini klorokuin tidak menjadi obat pilihan utama karena telah banyak terjadi resistensi (Antony dan Parija, 2016). Sebagai pengganti klorokuin, WHO merekomendasikan terapi malaria menggunakan *Artemisinin Combination Therapy* (ACT) (WHO, 2018). Artemisinin direkomendasikan dalam pengobatan malaria untuk semua jenis spesies *Plasmodium*. Artemisinin memiliki kemampuan mengeliminasi parasit intraeritrosit tersebut secara cepat terutama jika diberikan dalam bentuk kombinasi.

Penggunaan artemisinin dalam terapi malaria bukan berarti tanpa celah. Hal tersebut dibuktikan dengan beberapa laporan peneliti yang menyatakan bahwa telah terjadi resistensi terhadap ACT. Penelitian Sapirstein *et al.*, (2001) dan Suwandi, (2015) menyebutkan bahwa resistensi terhadap obat artemisinin dapat disebabkan oleh kondisi genetik yang berasal dari parasit. Terdapat beberapa gen yang telah dilaporkan yang berperan sebagai penyebab resistensi terhadap pengobatan malaria. Beberapa gen yang menjadi penyebab resistensi adalah gen PfCRT resistensi terhadap klorokuin dan amodiakuin, gen PfMDR1 resistensi terhadap golongan arilaminoalkohol, kuinolon, dan 4-aminokuinolon dan PfATP6 resistensi terhadap artemisinin. Gen PfARP6 dilaporkan dalam beberapa kasus menjadi dasar timbulnya resistensi terhadap artemisinin.

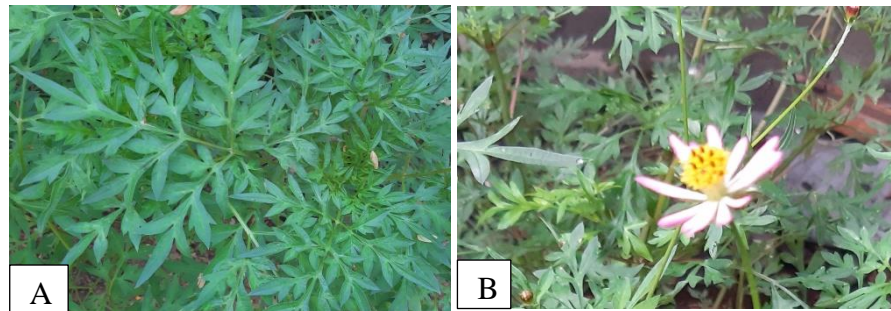
2.1.4. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth)

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai sumber antimalaria. Satu diantaranya adalah tanaman dari famili *Asteraceae*.

Tanaman dari famili ini banyak ditemukan di negara tropis dan sub tropis khususnya Asia tenggara (Botsaris, 2007; Wei *et al*, 2016). Salah satu contoh tanaman dari famili *Asteraceae* ini adalah *C. caudatus* Kunth yang lebih dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai kenikir atau ulam raja. Tanaman ini juga banyak digunakan sebagai bahan tambahan pangan, obat-obatan, parfum (Izza *et al*, 2016) dan juga untuk mengobati penyakit infeksi (Wei *et al*, 2016).

C. caudatus merupakan tanaman semusim atau tahunan dengan ciri batang tegak, berbentuk segi empat, beralur, bercabang banyak, berwarna hijau keunguan dan tingginya dapat mencapai 3 meter. Ciri-ciri daun kenikir yaitu berdaun majemuk, bersilang berhadapan, menyirip, berujung runcing, tepi rata, berwarna hijau tua pada bagian permukaan atas dan berwarna lebih terang, serta sedikit berambut di permukaan bawah daunnya. Bunga kenikir terletak di ujung atas tanaman dengan panjang tangkai bunga sekitar 5-30 cm, mahkota bunga terdiri atas 8 helai dengan panjang 1,5-2 cm, dan berwarna pink (Abdul *et al*, 2015). Berikut adalah klasifikasi ilmiah dari tumbuhan kenikir (Gambar 2.3) (Moshawih *et al*, 2017)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplante
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angios permae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Asterales
Familli	: Asteraceae
Genus	: <i>Cosmos</i>
Spesies	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth



Gambar 2.3. Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) (A) Daun Kenikir
(B) Bunga Kenikir

(Sumber: Koleksi pribadi (13 Agustus 2019))

2.1.4.1. Aktivitas *C. caudatus*

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa *C. caudatus* Kunth dapat berkhasiat sebagai antioksidan, anti diabetes, anti hiperlipidemik (Tandi *et al.*, 2018), dan antiinflamasi (Ajaykumar *et al.*, 2012). Tanaman ini memiliki kandungan senyawa seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, steroid, fenol, alkaloid, dan terpenoid (Nawi *et al.*, 2011; Moshawih *et al.*, 2017). Senyawa tersebut tersebar pada hampir semua bagian dari tumbuhan kenikir dengan komposisi yang berbeda-beda. Pada bagian daun terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid dan asam fenolik, sedangkan pada bagian akar terdapat senyawa *phenylpropane* (Bunawan *et al.*, 2014).

Senyawa yang terkandung dalam daun kenikir dapat bermanfaat untuk menurunkan resiko penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, hipertensi, penyakit kardiovaskular, dan osteoporosis (Moshawih *et al.*, 2017) melalui aktivitas antioksidan khususnya dari senyawa polifenol (Izza *et al.*, 2016). Daun kenikir juga mengandung senyawa fenolik, flavonoid, polifenol, saponin, tanin, alkaloid dan minyak atsiri. Berdasarkan uraian di atas daun kenikir merupakan tanaman yang kaya akan senyawa flavonoid dan antioksidan (Prahartini *et al.*, 2016).

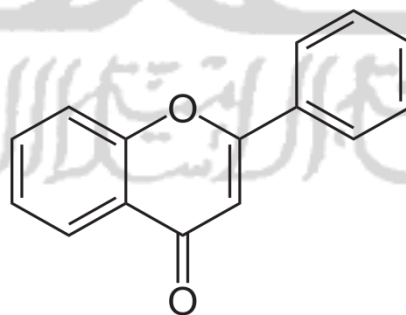
2.1.4.2. Kandungan kimia

Kenikir memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, polifenol (Nawi *et al.*, 2011), saponin, terpenoid, *flavoxanthin*, dan minyak atsiri. Daun kenikir memiliki kandungan senyawa seperti saponin, flavonoid,

polifenol, protein, karbohidrat, serta memiliki kandungan kalsium dan vitamin A yang tinggi. *C. caudatus* memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti asam askorbat, quercetin, proantosianidin, asam klorogenat, dan katekir (Cheng *et al.*, 2015). Pada penelitian ini senyawa flavonoid yang terkandung di dalam tumbuhan kenikir dicurigai dapat dijadikan sebagai salah satu pengobatan antiplasmodium.

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dari suatu tanaman dengan struktur dasar C6-C3-C6 (Gambar 2.6). Senyawa ini banyak ditemukan di dalam tanaman seperti buah-buahan dan sayuran (Panche *et al.*, 2016). Senyawa flavonoid yang terdapat pada berbagai tanaman tersebar pada bagian seperti buah, daun, akar, kulit kayu, batang dan bunga (Raharjo, 2013). Aktivitas senyawa flavonoid diantaranya adalah dengan menghambat peroksida lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas, menghambat kerja enzim (Harborne, 1987), berperan dalam proses degradasi hemoglobin dan menghambat detoksifikasi heme *Plasmodium* (Nindatu *et al.*, 2009)

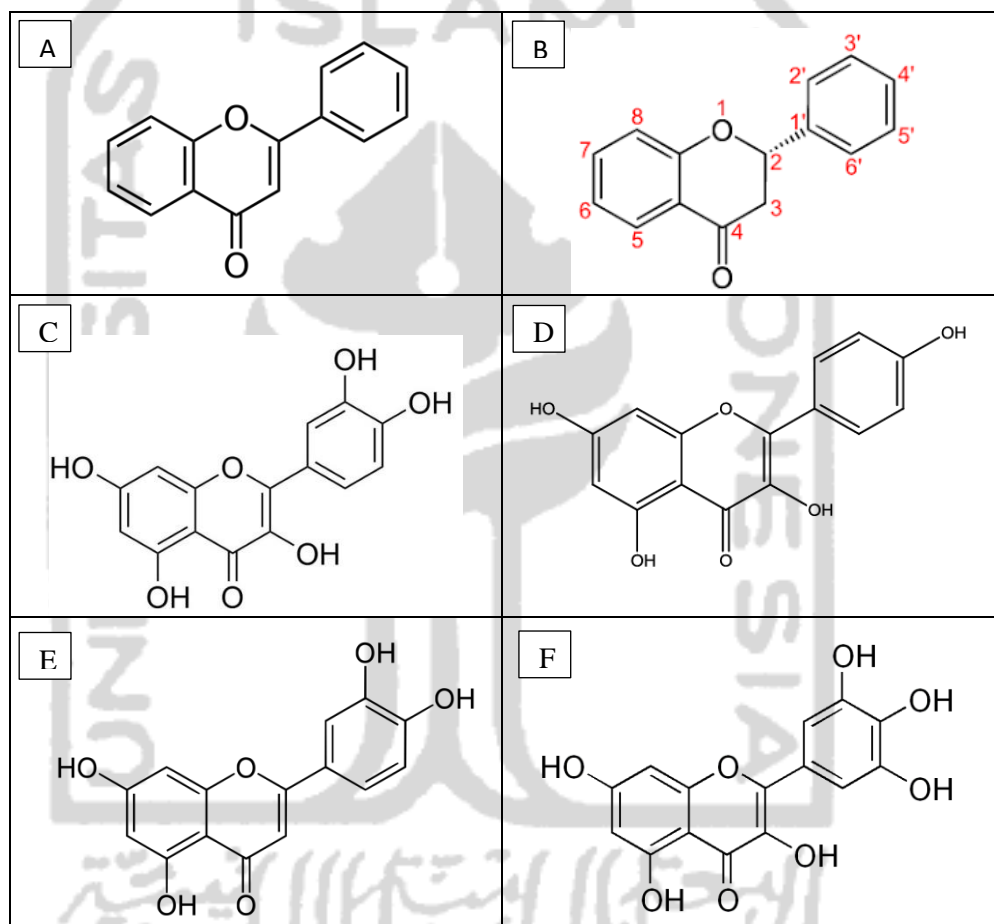
Penelitian Wahyuni *et al.* (2018) menyatakan bahwa kandungan flavonoid di dalam daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) adalah sebanyak 4,33 µg/ml. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Andarwulan *et al.* (2010) yang menyatakan kandungan senyawa flavonoid dalam daun kenikir yaitu sebanyak $52,2 \pm 4,1$ mg/100 g. Penelitian tersebut juga menyatakan bahwa senyawa flavonoid terbanyak dalam daun kenikir adalah kuersetin.



Gambar 2.4 Kerangka dasar Flavonoid
(Sumber: (Wang, Li dan Bi, 2018))

Beberapa senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun kenikir seperti myricetin, kuersetin, kaempferol, luteolin dan apigenin (Gambar 2.7)

juga dapat bermanfaat sebagai antioksidan (Dwiyanti *et al.*, 2014), selain itu senyawa flavonoid juga memiliki aktivitas anti-malaria (Lim *et al.*, 2007; Widyawaruyanti dan Zaini, 2011). Senyawa flavonoid terdiri dari 2 jenis yaitu flavones dan flavanones (Gambar 2.7). Senyawa flavanones mampu menghambat pertumbuhan *P. falciparum* sebesar 100% (Lim, Kim dan Lee, 2007). Senyawa tersebut juga telah terbukti memiliki aktifitas antimalarial baik secara *in-vivo* dan *in-vitro* (Rudrapal dan Chetia (2017); Harapini, *et al* (2007)).



Gambar 2.5. Struktur dasar senyawa flavonoid (A) Flavone, (B) Flavonones, (C) Kuersetin, (D) Keamferol (E) Luteolin, (F) Myricetin
Sumber : (PubChem, 2020)

Beberapa penelitian telah membuktikan senyawa flavonoid memiliki efek sebagai anti-malaria (Lim *et al.*, 2007; Widyawaruyanti dan Zaini, 2011). Kandungan flavonoid yang banyak dalam tanaman obat telah diidentifikasi memiliki aktivitas antimalaria baik secara *in-vivo* dan *in-vitro* (Rudrapal dan Chetia, 2017). Penelitian terdahulu juga menunjukkan bahwa

senyawa flavanoid dapat menghambat pertumbuhan *P. falciparum* sebesar 100% (Lim, Kim dan Lee, 2007). Penelitian Chen *et al.*, (1994) senyawa flavonoid dari akar "*chinese licorice*" mampu menghambat pertumbuhan *P. falciparum* sehingga mampu melindungi mencit pada uji *in vivo*. Penelitian Boonlaksiri *et al.*, (2000) menyatakan salah satu senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan parasit secara *in vitro*. Senyawa bioflavonoid yang memiliki aktivitas antimalaria adalah phloretin dan phlorizin. Senyawa tersebut bekerja melalui 2 mekanisme yaitu dengan menghambat transport nutrisi yang dibutuhkan parasit dan menghambat proses degradasi hemoglobin atau detoksifikasi heme (Widyawaruyanti *et al.*, 2011).

2.1.5. Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh setelah melakukan ekstraksi dari tanaman herbal maupun hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Ditjen POM, 2000). Proses ekstraksi dimulai dari determinasi tanaman, persiapan simplisia, proses pengeringan dan penghalusan simplisia dengan cara digiling. Proses tersebut dilanjutkan dengan pemilihan pelarut polar, semipolar dan non polar untuk menarik senyawa yang diharapkan dari suatu tanaman. Penemuan senyawa aktif yang berasal dari berbagai tanaman dapat mengarah pada proses penemuan obat baru yang menunjukkan aktivitas yang efisien dan dapat berperan dalam pengobatan terhadap berbagai penyakit kronis (Rasdi *et al.*, 2010).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara dingin dan cara panas. Cara dingin menggunakan metode maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas menggunakan metode reflux, soxhlet, digesti, dan destilasi uap. Metode ekstraksi yang banyak digunakan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu proses ekstraksi simplisia yang sederhana, menggunakan pelarut organik dilakukan pada suhu ruangan. Penggunaan metode ini ditujukan agar semua senyawa yang terdapat pada tanaman dapat terekstraksi dengan sempurna, baik senyawa polar, nonpolar dan semi polar (Agoes, 2007). Senyawa polar terdiri dari air, etanol, metanol.

Senyawa semi polar terdiri dari etil asetat, diklorometan' sedangkan senyawa non polar terdiri dari n-heksan, petroleum eter, dan kloroform (Mukhriani, 2014).

2.1.6. Mencit (*Mus musculus*)

Hewan percobaan adalah hewan yang digunakan untuk penelitian biologis maupun biomedis dan dipelihara secara intensif di laboratorium. Salah satu hewan laboratorium yang banyak digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) (Soesanto dan Jonh, 1988). Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan mamalia yang mempunyai ciri fisiologi dan biokomia yang hampir menyerupai manusia. Mencit memiliki kemampuan fisik yang khas/unik, kemampuan tersebut yaitu meloncat, mencit dapat meloncat vertikal hingga 25 cm (Ngatidjan dan Hakim, 2006).

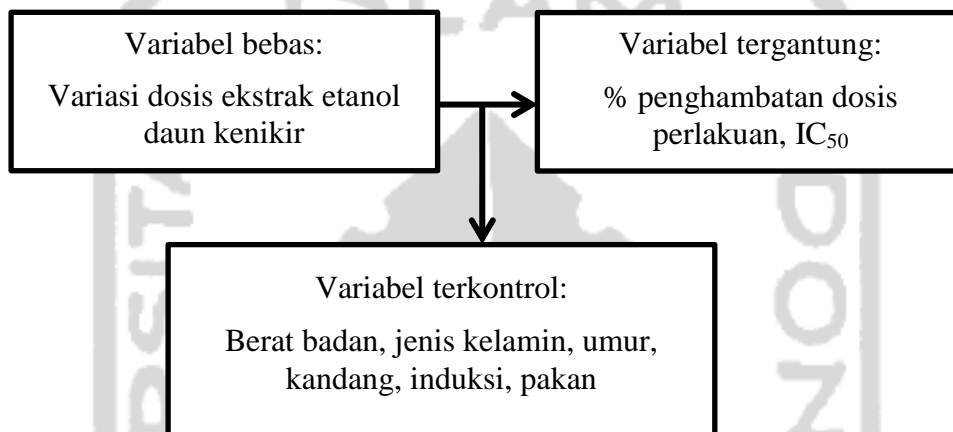
Mencit banyak digunakan sebagai hewan uji karena hewan ini memiliki sistem reproduksi, pernapasan, dan peredaran darah yang menyerupai manusia. Salah satu keuntungan penggunaan mencit sebagai hewan uji karena mencit memiliki sistem reproduksi yang relatif singkat dan keturunan yang dihasilkan juga banyak (Ngatidjan dan Hakim, 2006). Karakteristik mencit yang digunakan alam uji anti *Plasmodium* menggunakan *P. berghei* adalah mencit jantan. Mencit jantan lebih aktif dalam beraktivitas (Oktiansyah, 2015), mencit jantan juga tidak dipengaruhi oleh hormonal sebagaimana mencit betina (Legorreta-Herrera *et al.*, 2018).

2.2. Landasan Teori

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan yaitu sebagai antioksidan, antikanker, antidiabetes, antimikroba, antiinflamasi, hepatoprotektif (Tandi *et al.*, 2018); (Ajaykumar *et al.*, 2012). Tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, pitosterol, terpenoid, alkaloid, tannin, saponin, dan fenilpropanoid (Nawi *et al.*, 2011; Moshawih *et al.*, 2017). Senyawa flavonoid yang dominan dalam daun kenikir yaitu kuersetin dan kaempferol (Andarwulan *et al.* 2010). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid pada tanaman lain memiliki potensi sebagai antiplasmodium baik *in vitro* maupun *in vivo* (Rudrapal dan Chetia (2017); (Lim *et al.*, 2007; Widyawaruyanti dan Zaini, 2011). Penelitian Chen *et al.*, (1994) membuktikan bahwa senyawa flavonoid yang berasal dari akar tanaman *Chinese licorice*

mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium in vivo*. Aktivitas antiplasmodium senyawa flavonoid ini terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu dengan penghambatan peroksidasi lipid, pengurangan radikal bebas, menghambat kerja enzim, menghambat transport nutrisi parasit dan menghambat degradasi hemoglobin atau detoksifikasi heme (Widyawaruyanti *et al* 2011) (Harborne, 1987; Nindatu *et al.*, 2009).

2.3. Kerangka Konsep Penelitian



2.4. Hipotesis

Ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) diduga memiliki aktivitas antiplasmodium terhadap mencit yang diinduksi *Plasmodium berghei*.

