

Aktivitas Antimalaria (*Plasmodium falciparum* 3D7) dari Spon Laut *Acanthella* sp.

Fadhli Dzil Ikram^{1)*}, Asep Awaludin Prihanto²⁾, Choiriyatun Hanifah¹⁾, Muhammad Iqbal¹⁾

¹⁾Prog. Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang

²⁾ Prog. Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang

Diterima 17 Maret 2012, direvisi 1 April 2012

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kandidat bioaktif anti multiresisten malaria dari bioaktif spon laut *Acanthella* sp.. Tahap penelitian diawali dengan mengisolasi senyawa dari *Acanthella* sp.. Selanjutnya dilakukan uji antimalaria secara invitro terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7. Pengujian terhadap *P. falciparum* strain 3D7 menggunakan dosis konsentrasi bertingkat dengan kontrol positif digunakan *chloroquin*. Perhitungan penghambatan skizon dilakukan dengan pewarnaan darah dan selanjutnya dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi per 1000 eritrosit. IC50 dihitung menggunakan analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat fraksi aktif menunjukkan penghambatan pertumbuhan *P. Falciparum* dengan nilai IC50 yang berbeda-beda. Nilai terbaik dihasilkan oleh fraksi B dengan IC50 sebesar 0,013 ppm.

Kata kunci: Antimalaria, *Plasmodium falciparum* 3D7, *Acanthella* sp.

ABSTRACT

The objective of the research was to get the bioactive candidates from marine sponge *Acanthella* sp. for anti multiresisten malaria. The first Research was conducted with isolating the active compounds of *Acanthella* sp. In vitro antimalarial test against *Plasmodium falciparum* 3D7 was done with several concentrations with positive control using chloroquinon. The quantification of the Scizon inhibition was performed with blood staining. Afterward, the infected erythrocytes per 1000 erythrocytes was calculated. IC50 was assayed with probit analysis. The result indicated that all four active fractions showed inhibition on growth of *P. Falciparum* with different value on IC50. The best fraction is confirmed by fraction B with IC50 of 0.013 ppm.

Key word: Antimalarial, *Plasmodium falciparum* 3D7, *Acanthella* sp.

PENDAHULUAN

Malaria membunuh lebih satu juta manusia, dimana laju kematian tertinggi antara lain pada anak-anak dibawah umur 5 tahun [1]. Menurut laporan dari WHO, penderita malaria di dunia yang tercatat sampai akhir tahun 2007 berjumlah 500 juta, dan yang meninggal

*Corresponding author :
E-mail: Fadlydzil.ikram@gmail.com

tercatat sebanyak 1 juta penduduk, data ini menunjukkan bahwa malaria merupakan ancaman bagi kesehatan masyarakat dunia [2]. Indonesia menempati urutan ketiga didunia dengan mortalitas malaria yang paling tinggi di Asia Tenggara [3].

Transmisi malaria pada manusia dilakukan oleh nyamuk anopheles betina dengan menginfeksi empat spesies parasit, yaitu: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* and *P. Malariae* dan *P. Falciparum*

adalah penyebab kematian utama pada penderita malaria.

Plasmodium falciparum adalah parasit protozoa yang paling mematikan diantara parasit malaria lainnya dan telah menimbulkan resistensi obat antimalaria seperti *Chloroquin*, kina dan artemisinin. Kejadian ini telah mendorong para peneliti untuk mengembangkan senyawa aktif baru untuk mengendalikan infeksi *P. Falciparum* yang telah resistan.

Beberapa spon laut telah diteliti dan menunjukkan aktivitas terhadap antimalaria. Spon laut adalah salah satu biota yang hidup pada ekosistem terumbu karang. Mereka menghasilkan zat metabolit sekunder yang bersifat toksik bagi predatornya. Metabolit sekunder yang diproduksi adalah *alkaloid*, *steroid*, *terpenoid*, dan *fenol*. Senyawa metabolit sekunder ini merupakan struktur model yang sangat potensial untuk perkembangan obat-obatan baru dibidang farmasi dan agroindustri [4].

Salah satu spon laut yang diketahui mempunyai aktivitas antimalaria adalah *Acanthella* sp. sehingga spon jenis ini sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat antimalaria *P. falciparum* di tengah resistensi obat yang ada. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan memeriksa kemampuan bioaktif spon laut *Acanthella* sp. dalam menghambat pertumbuhan parasit malaria multiresisten (*P. falciparum* 3D7).

METODE PENELITIAN

Sampel. Sampel spon laut *Acanthella* sp. diambil dari perairan laut, Taman Nasional Baluran Situbondo. Metode pengambilan dilakukan dengan *skin diving* tidak menggunakan scuba di kedalaman 2-5 m.

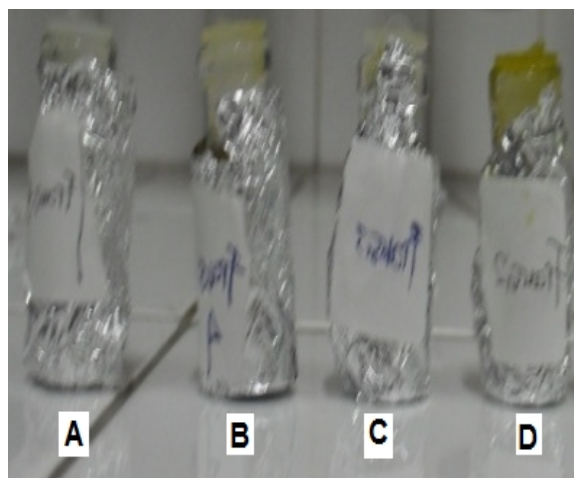
Parasit malaria. Isolat malaria multiresisten *Plasmodium falciparum* 3D7 didapatkan dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Ekstraksi dan isolasi. Prosedur isoasi dilakukan mengikuti metode Rao *et al.*, [5]. dengan beberapa modifikasi. Spon laut *Acanthella* sp. kering seberat 50 gram

dihancurkan kemudian di maserasi dengan aseton 150 ml selama 24 jam. Ekstrak aseton pekat kemudian dipartisi dengan metanol dan kloroform. Ekstrak yang larut dalam metanol (Fraksi A) dan yang tidak larut dalam metanol (Fraksi B) sedangkan ekstrak yang larut dalam kloroform (Fraksi C) dan yang tidak (Fraksi D) (Gambar 1). Dalam proses partisi tersebut fraksi didapatkan dan dikelompokan berdasarkan hasil dari kromatografi lapis tipis.

Kultur dan uji antimalaria. *P. falciparum* 3D7 dikultur secara sinambung mengikuti metode Trager and Jensen [6]. Pengujian antimalaria dilakukan secara in-vitro mengikuti metode Desjardin *et al.*, [7]. Setiap sumuran mikrotiter diisi 100 μ L medium lengkap dengan 1% parasitemia dan 2% hematokrit. Sedangkan konsentrasi sampel dimulai dari 50, 5, 0.5, 0.05, 0.005, dan 0.0005 μ g.ml⁻¹. Setelah diinkubasi 37 °C selama 72 jam hasil dipanen dan dibuat sediaan lapisan darah tipis yang dicat dengan pewarna giemsa. Selanjutnya dihitung persen penghambatan pertumbuhan dari *P. falciparum* 3D7 dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi terhadap 1000 eritrosit dengan pembesaran mikroskop 400X. Penghitungan IC50 menggunakan analisis probit.

Analisis Senyawa aktif. Analisis gugus fungsi senyawa dilakukan dengan spektrum spektrum IR dengan FTIR Shimadzu series 8400.



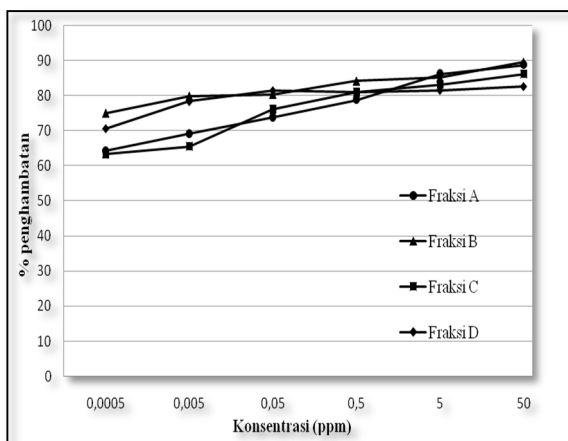
Gambar 1. Fraksi aktif ekstrak *Acanthella* sp.: Fraksi A (A), Fraksi B (B), Fraksi C (C), Fraksi D (D).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak spon laut *Acanthella* sp.. Hasil proses esktraksi spon laut *Acanthella* sp. didapatkan 9 ml fraksi metanol dan 9 ml fraksi kloroform.

Aktifitas antimalarial. Hasil dari uji antimalaria melalui penghambatan skizon menunjukan bahwa 4 fraksi aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi menghambat pertumbuhan parasit pada fase aseksual secara *in vitro* (Gambar 2).

Hasil perhitungan persentase menunjukan bahwa fraksi-fraksi tidak menunjukan angka kematian yang berbeda. Hasil ini diketahui dengan perhitungan skizon yang telah tumbuh dengan membandingkan angka mortalitas yang terjadi pada parasit. Semua fraksi pada konsentrasi terendah tidak ada yang melebihi 10% dalam menghambat pertumbuhan skizon, bahkan pada konsentrasi tertinggi penghambatannya hampir sama. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kesamaan senyawa aktif yang terdapat pada setiap fraksi. Senyawa golongan alkaloid diketahui mampu diekstrak menggunakan aseton [5]. Hal ini juga menunjukan bahwa partisi metanol dan kloroform masih menghasilkan senyawa aktif yang hampir sama.



Gambar 2. Rerata persen penghambatan skizon *P. falciparum* 3D7.

Hasil perhitungan IC50 menunjukan bahwa tiap fraksi mempunyai nilai IC50 yang beragam (Tabel 1). Fraksi B menunjukan angka IC50 yang paling rendah (0,013 ppm).

Hal ini mengindikasikan bahwa hanya dengan konsentrasi yang sangat kecil fraksi B telah menunjukan penghambatan sebesar 50%. Fraksi A menunjukan hasil yang paling tidak baik dalam menghambat *P. falciparum* 3D7. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC50 yang paling tinggi jika dibandingkan dengan fraksi yang lain. Gesseler *et al.*, [8]. menyebutkan bahwa untuk sediaan uji yang memiliki nilai IC 50 < 10 µg/mL termasuk kedalam golongan bahan yang mempunyai aktivitas antiplasmodium yang sangat kuat. Hasil ini mengindikasikan bahwa semua fraksi berpotensi digunakan untuk pengobatan malaria.

Tabel 1. IC50 fraksi terhadap *P. falciparum* 3D7

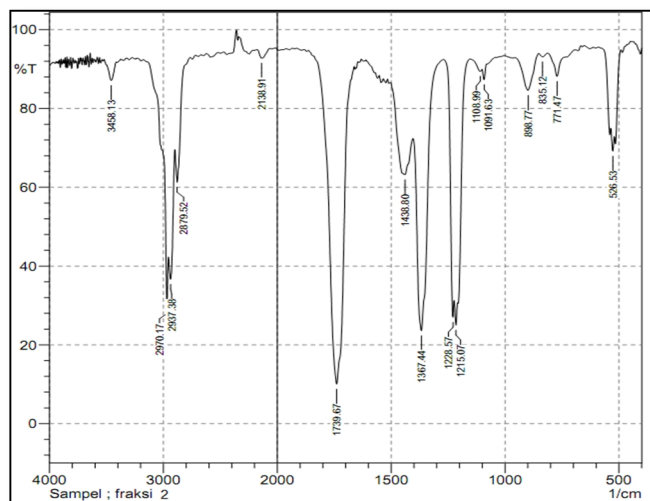
Fraksi	IC50 (ppm)
Fraksi A	0,021
Fraksi B	0,013
Fraksi C	0,018
Fraksi D	0,014

Kemampuan anti plasmodium ini kemungkinan disebabkan senyawa-senyawa terpen yang terdapat dalam *Acanthella* sp. Penelitian Miyaoka *et al.*, [9] menyebutkan bahwa senyawa diterpen yang ditemukan dalam *Acanthella* sp. mempunyai aktivitas antimalaria yang kuat. Selain itu Angerhofer *et al.*, [10] menemukan bahwa senyawa sesquiterpen yang diisolasi dari *Acanthella klethra* mempunyai potensi antimalaria.

Senyawa aktif. Analisis FTIR fraksi B menunjukan bahwa senyawa ini mempunyai gugus fungsional yang beragam (Gambar 3). Spektra tersebut memperlihatkan adanya serapan pada 3458 nm yang mengindikasikan adanya senyawa alkohol, fenol dan ikatan -H. Serapan juga terjadi pada 2970 nm yang mengindikasikan adanya senyawa asam karboksilat sedang. Terdapat juga ikatan senyawa -CH₃ (*bending*) pada 1438 nm dan senyawa aromatik pada 898 nm.

Fraksi B menunjukan hasil gugus fungsional yang konsisten dengan hasil spektra Rao *et al.*, [5]. Diantaranya terdapat pula senyawa alkohol, fenol dan ikatan -H, asam karboksilat sedang dan senyawa aromatik pada

karakter bioaktif antimalaria spon laut genus *Acanthostongylopora*. Berdasarkan gugus fungsinya senyawa ini kemungkinan turunan terpen. Khalihinol yang didapatkan dari *Acanthella* oleh di Miyaoka *et al.*, [9] merupakan turunan terpen dan diketahui mempunyai aktifitas antimalaria.



Gambar 3. Spektra hasil FTIR fraksi B.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi 2 methanol (Fraksi B) adalah fraksi terbaik dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum* 3D7 dan mempunyai potensi sebagai antimultiresisten malaria.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh program PKM-P DIKTI. Ucapan terima kasih kepada drh. Lilik Maslachah, M.Kes. dan Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., SpParK atas bantuannya dalam mendapatkan isolat *Plasmodium falciparum* 3D7.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Saxena S., Neerja Pant, D.C. Jain and R.S. Bhakuni (2003), Antimalarial Agents from Natural Plant Sources, *Current Science*, 85(9): 1314-1329.
- [2] World malaria report (2011), Geneva, World Health Organization, 2011, http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/9789241564403_eng.pdf, Diakses pada tanggal 2 Januari 2012.
- [3] Hiswani (2007), *Gambaran Penyakit dan Vektor Malaria Indonesia*, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- [4] Suparno (2005), *Kajian Bioaktif Spon Laut (Forifera : Demosponiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang dalam Bidang Farmasi Makalah Pribadi Falsafah Sains*, Institut Pertanian Bogor.
- [5] Rao, K. V., NoerKasanah, Subagus Wahyuono, Babu L. Tekwani, Raymon F. Schinazi,§ and Mark T. Hamann (2004). Three New Manzamine Alkaloids, *Jurnal Natural Product.*, Vol:67, 1314-1318.
- [6] Trager, W and Jensen, J.B. (1976), Human malaria parasites in continuous culture, *Science*, 193, 673 - 676.
- [7] Desjardins, R. W., C. J. Canfield, J. D. Haynes, and J. D. Chulay (1979), Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique, *Antimicrob. Agents Chemother*, 16:710-718.
- [8] Gessler, M.C., Nkunya, M.H.N., Mwasumbi, LB., Heinrich, M., and Toner, M. (1994), Screening Tanzanian Medicinal Plants for Antimalarial Activity, *Acta. Trop.*, 55, 65 - 67.
- [9] Miyaoka, H., Shimomura, M., Kimura, H., Yamada, Y. (1998), Antimalarial Activity of Kalihinol A and New Relative Diterpenoids from the Okinawan Sponge *Acanthella* sp., *Tetrahedron*, 54(44): 13467-13474.
- [10] Angerhofer, C.K., Pezzuto, J.M., König, G.M, Wright, A.D, Sticher. O. (1992), Antimalarial activity of sesquiterpenes from the marine sponge *Acanthella klethra*, *J Nat Prod.*, 55(12):1787-1789.