

**PENGEMBANGAN EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber Cassumunar Roxb.*)  
TERSTANDAR MENJADI GRANUL EFERVESEN SEBAGAI TERAPI AJUVAN  
UNTUK MENCEGAH KOMPLIKASI PADA MALARIA**

Peneliti : Yunita Armiyanti<sup>1</sup>, Wiwien Sugih Utami<sup>1</sup>, Lidya Ameliana<sup>2</sup>  
Mahasiswa Terlibat : Risqi Mahardhika Rahmawati<sup>1</sup>, Pungky Setya Arini<sup>1</sup>, Devita  
Prima Nurmasari<sup>1</sup>, Denis Nur Kholida<sup>2</sup>  
Sumber Dana : DIPA DP2M Desentralisasi : Tahun Anggaran 2013  
No.337/UN25.3.1/LT.6/2013  
Kontak Email : yunitaarmi@yahoo.co.id  
Diseminasi : Publikasi Presentasi Oral pada Konferensi Internasional di  
Malaysia (*Annual Conference in Tropical Medicine and  
Parasitology*) pada tanggal 5-7 Maret 2014

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi, Universitas Jember

**ABSTRAK**

Penyakit malaria sampai saat ini masih menjadi masalah yang utama dalam skala Internasional maupun Nasional. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa berdasarkan *World malaria report* tahun 2011, pada tahun 2010 kasus malaria di dunia mencapai 216 juta dan diperkirakan 655 ribu orang meninggal (WHO, 2011). Pada malaria berat terjadi overproduksi sitokin pro-inflamasi seperti *Tumour Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin-1* (IL-1), *Interferon- $\gamma$*  (IFN- $\gamma$ ) dan radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Intermediate* (ROI), *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), *Nitric Oxide* (NO) oleh sel-sel fagosit dan sel endotel yang teraktivasi. Pengeluaran mediator di atas sebenarnya bertujuan untuk membunuh parasit, namun karena sifat radikal bebas yang tidak spesifik dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sekitarnya ( Lou *et al.*, 2001). Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai terapi ajuvan baru yang diharapkan dapat mencegah terjadinya komplikasi malaria yang berakibat fatal. Tujuan penelitian ini adalah

untuk menguji kemampuan ekstrak Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) sebagai imunostimulan serta melihat efek sinergi dengan obat antimalaria standar yaitu Artemisinin secara *in vivo*, sehingga dapat digunakan sebagai terapi ajuvan malaria.

Sejumlah 30 ekor mencit Balb/C jantan dibagi dalam 5 kelompok masing-masing terdiri atas 6 ekor mencit. Dua kelompok (K1 dan K2) distimulasi dengan ekstrak Bangle dosis 22,6 mg per mencit selama dua minggu. Selanjutnya K1 sampai dengan K4 diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. Setelah diinfeksi *Plasmodium berghei*, tiap hari diperiksa derajat parasitemianya. Terapi Artemisinin diberikan pada K2 dan K3 apabila hasil pemeriksaan hapusann darah menunjukkan infeksi positif dengan dosis 0,728 mg per mencit. Lama pemberian terapi selama 4 hari, merujuk pada regimen dosis Artemisinin yang diberikan secara peroral 3,2 mg/kg BB/hari. Pada hari kelima setelah pemberian Artemisinin, semua mencit diambil makrofag peritonealnya untuk diukur aktivitas makrofag dan diambil serumnya untuk diukur kadar NO, MDA dan TNF- $\alpha$ . Kelompok 5 merupakan kelompok kontrol negatif karena terdiri dari mencit normal dan tidak mendapat perlakuan bangle maupun artemisinin. Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok hewan coba yang diberi ekstrak bangle terjadi peningkatan aktivitas makrofag dan peningkatan kadar NO serta MDA dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pengukuran kadar TNF- $\alpha$ .menunjukkan pemberian ekstrak Bangle dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dibandingkan dengan kontrol positif dan kadar TNF- $\alpha$  paling rendah didapatkan pada kelompok yang distimulasi dengan Bangle dan diterapi dengan Artemisinin. Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian ekstrak Bangle pada kasus malaria dapat berperan sebagai imunostimulan dengan meningkatkan aktivitas makrofag dan menurunkan sitokin proinflamasi.

Kata kunci: Bangle, imunostimulan, makrofag, TNF- $\alpha$ , ajuvan, malaria

## EXECUTIVE SUMMARY

### **PENGEMBANGAN EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) TERSTANDAR MENJADI GRANUL EFERVESEN SEBAGAI TERAPI AJUVAN UNTUK MENCEGAH KOMPLIKASI PADA MALARIA**

Peneliti : Yunita Armiyanti<sup>1</sup>, Wiwien Sugih Utami<sup>1</sup>, Lidya  
Ameliana<sup>2</sup>

Mahasiswa Terlibat : Risqi Mahardhika Rahmawati<sup>1</sup>, Pungky Setya Arini<sup>1</sup>,  
Devita Prima Nurmasari<sup>1</sup>, Denis Nur Kholida<sup>2</sup>

Sumber Dana : DIPA DP2M Desentralisasi : Tahun Anggaran 2013  
No.337/UN25.3.1/LT.6/2013

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi, Universitas Jember

#### **Latar Belakang dan Tujuan**

Penyakit malaria sampai saat ini masih menjadi masalah yang utama dalam skala Internasional maupun Nasional. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa berdasarkan *World malaria report* tahun 2011, pada tahun 2010 kasus malaria di dunia mencapai 216 juta dan diperkirakan 655 ribu orang meninggal (WHO, 2011). Pada malaria berat terjadi overproduksi sitokin pro-inflamasi seperti *Tumour Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin-1* (IL-1), *Interferon- $\gamma$*  (IFN- $\gamma$ ) dan radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Intermediate* (ROI), *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), *Nitric Oxide* (NO) oleh sel-sel fagosit dan sel endotel yang teraktivasi. Pengeluaran mediator di atas sebenarnya bertujuan untuk membunuh parasit, namun karena sifat radikal bebas yang tidak spesifik dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan sekitarnya ( Lou *et al.*, 2001). Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai terapi ajuvan baru yang diharapkan dapat mencegah terjadinya komplikasi malaria yang berakibat fatal. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan ekstrak Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) sebagai

imunostimulan serta melihat efek sinergi dengan obat antimalaria standar yaitu Artemisinin secara *in vivo*, sehingga dapat digunakan sebagai terapi ajuvan malaria.

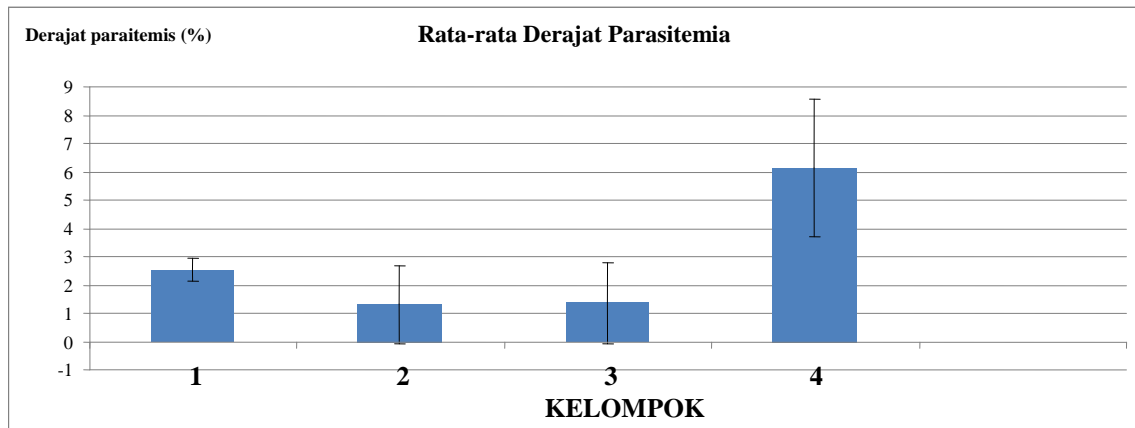
### **Metode Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post test controlled design*, yang menggunakan binatang percobaan sebagai subyek penelitian. Rancangan penelitian meliputi tiga kelompok perlakuan (K1-K3), satu kelompok kontrol positif (K4) dan satu kelompok kontrol negatif (K5). Perlakuan berupa pemberian ekstrak Bangle pada dua kelompok mencit (K1 dan K2) selama dua minggu untuk stimulasi dan K2 selanjutnya diterapi dengan Artemisinin dan tetap diberi ekstrak Bangle. Dosis ekstrak Bangle yang diberikan adalah 22,6 mg per mencit selama dua minggu Selanjutnya semua kelompok kecuali kelompok kecuali kontrol negatif diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* strain ANKA dan dihitung derajat parasitemianya selama empat hari berturut-turut. Satu kelompok perlakuan (K3) hanya diterapi dengan Artemisinin. Dosis Artemisinin yang diberikan adalah 0,728 mg per mencit. Lama pemberian terapi selama 4 hari, merujuk pada regimen dosis Artemisinin yang diberikan secara peroral 3,2 mg/kg BB/hari. Pada hari kelima setelah pemberian Artemisinin, semua mencit diambil makrofag peritonealnya untuk diukur aktivitas makrofag (kecuali K5 ) dan diambil serumnya untuk diukur kadar NO, MDA dan TNF- $\alpha$ . Kelompok 5 merupakan kelompok kontrol negatif karena terdiri dari mencit normal dan tidak mendapat perlakuan Bangle maupun Artemisinin.

### **Hasil Penelitian**

Hasil penelitian ini meliputi derajat parasitemia, kapasitas fagositosis makrofag dan kadar NO, MDA, serta TNF- $\alpha$  yang merupakan parameter-parameter untuk mengetahui efek ekstrak bangle sebagai imunostimulan dan senyawa anti sitokin proinflamasi. Rata-rata hasil penghitungan derajat parasitemia menunjukkan pada kelompok I yang distimulasi dengan ekstrak Bangle selama 2 minggu sebelum diinfeksi dan tetap diberi ekstrak Bangle setelah diinfeksi selama 4 hari menunjukkan derajat parasitemia yang rendah (  $2,54 \pm 0,40$ ). Pada kelompok 2 yang distimulasi dengan ekstrak Bangle dan diterapi artemisinin menunjukkan derajat parasitemia yang paling rendah, (  $1,32 \pm 1,39$ ). hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan kelompok 3 yang hanya diterapi artemisinin (  $1,37 \pm 1,43$ ). Ketiga kelompok tersebut

mempunyai derajat parasitemia yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan kontrol ( $6,14 \pm 2,42$ ). Uji Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok control positif dimana nilai  $p < 0,05$ . Secara lebih jelas dapat dilihat pada Gambar diagram di bawah ini.

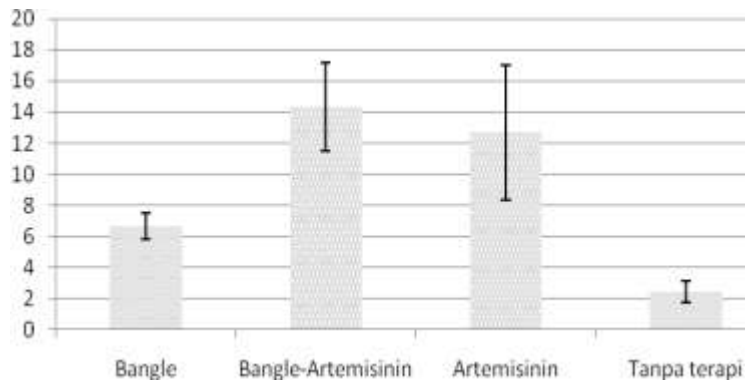


Gambar 1.1 Rata-rata Derajat Parasitemia Mencit yang Diinfeksi *P.berghei* pada Berbagai Kelompok

Keterangan:

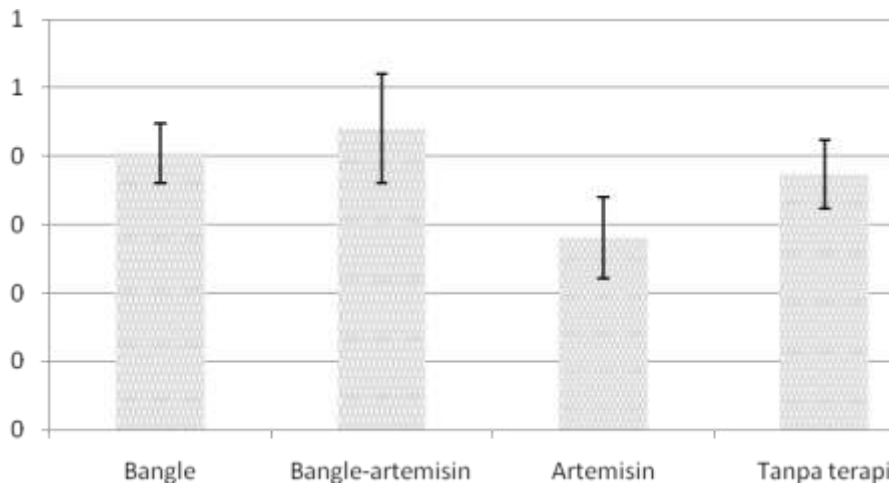
- K 1 : mencit distimulasi dengan ekstrak bangle dosis 22,6 mg/25gBB/hari kemudian diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi ekstrak bangle dosis 22,6 mg/25gBB/hari.
- K 2 : mencit distimulasi dengan ekstrak bangle dosis 22,6 mg/25gBB/hari kemudian diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi ekstrak bangle dosis 22,6 mg/25gBB/hari dan artemisinin dosis 0,728 mg/25gBB/hari
- K 3 : mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi artemisinin dosis 0,728 mg/25gBB/hari (kontrol positif)
- K 4 : mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan tidak diterapi

Rerata kapasitas fagositosis makrofag pada kelompok 1 adalah 6,7 %, kelompok 2 adalah 16,68%, kelompok 3 adalah 14,08 % dan pada kelompok 4 adalah 3,21 %. Hasil analisis lebih lanjut dengan uji Man Whitney didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok 1 (Bangle) dan 2 (Bangle-Artemisinin), kelompok 1 (Bangle) dengan 4 (kontrol positif), kelompok 2 (Bangle-Artemisinin) dengan 4 (kontrol positif) dan kelompok 3 (artemisinin) dengan 4 (kontrol positif). Hasil tersebut menunjukkan ekstrak Bangle berperan sebagai imunostimulan karena mampu meningkatkan kapasitas fagositosis makrofag. Hasil pengukuran kapasitas fagositosis makrofag bila disajikan dalam bentuk grafik didapatkan seperti pada Gambar 1.2.



Gambar 1.2 Rata-rata Kapasitas Fagositosis Makrofag.

Rerata produksi *Nitric Oxide* pada kelompok 1 adalah 0.421  $\mu\text{M}$ , kelompok 2 adalah 0.440  $\mu\text{M}$ , kelompok 3 adalah 0,281  $\mu\text{M}$  dan pada kelompok 4 adalah 0,374  $\mu\text{M}$ , seperti pada Gambar 1.3 di bawah ini.

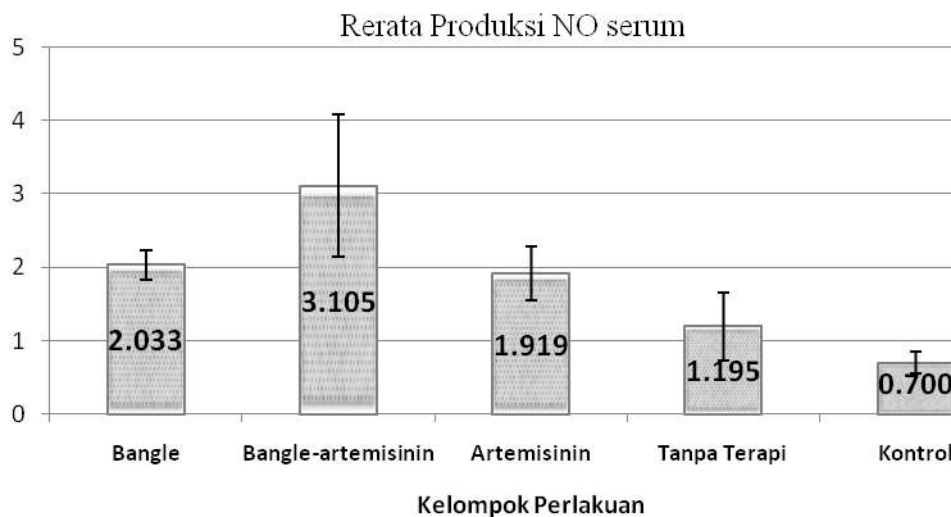


Gambar 1.3.Rata-rata Produksi NO makrofag dengan satuan  $\mu\text{M}$ .

Pada diagram tersebut terlihat kelompok Bangle-Artemisinin memproduksi NO makrofag paling tinggi sedangkan kelompok terapi artemisinin memproduksi NO makrofag paling rendah. Uji Man Whitney menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok 1 (Bangle) dengan kelompok 3 (artemisinin), kelompok 2 (Bangle-Artemisinin)

dengan kelompok 3 (artemisinin) dan antara kelompok 3 (artemisinin) dengan kelompok 4 (kontrol positif). Hasil tersebut tidak berbeda dengan hasil uji kapasitas fagositosis makrofag, yaitu kombinasi ekstrak Bangle dengan artemisinin mempunyai kadar NO yang paling tinggi dibandingkan dengan pemberian ekstrak Bangle maupun artemisinin secara tunggal. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktifitas makrofag yang meningkat dengan pemberian ekstrak Bangle juga akan meningkatkan produksi NO oleh makrofag yang diperlukan untuk eliminasi parasit malaria.

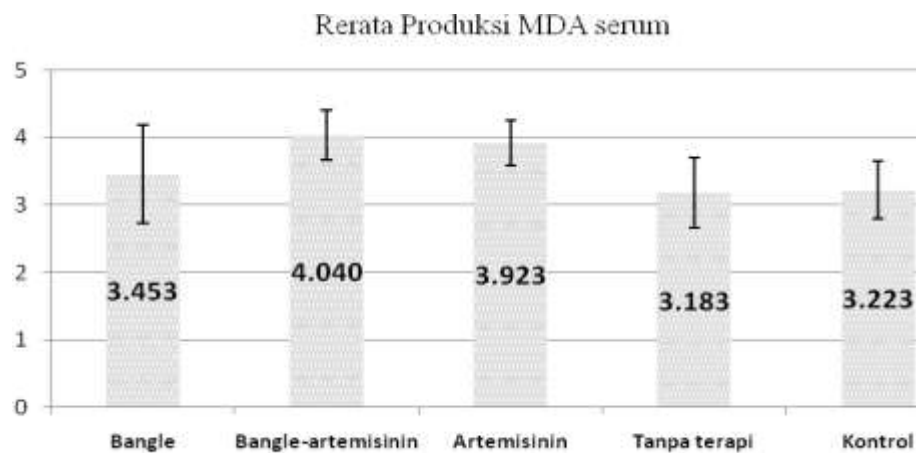
Rerata produksi NO serum pada kelompok 1 adalah 2,033 $\mu$ M, kelompok 2 adalah 3,105 $\mu$ M, kelompok 3 adalah 1,919 $\mu$ M, kelompok 4 adalah 1,195 $\mu$ M, dan kelompok 5 adalah 0,700 $\mu$ M. Data disajikan dalam Gambar 1.4.



Gambar 1.4 Diagram Hasil Pengukuran Kadar NO Serum dengan satuan  $\mu$ M

Analisis NO serum dengan *Independent T-Test* dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar NO serum antara kelompok 2 (Bangle-artemisinin) dengan kelompok 4 (kontrol positif) dan kelompok 5 (kontrol negatif). Hasil ini sama dengan hasil pengukuran NO supernatan kultur makrofag, yaitu pada kelompok kombinasi ekstrak Bangle dengan artemisinin kadar NOnya paling tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa secara in vivo produksi NO oleh makrofag pada mencit yang distimulasi dengan ekstrak Bangle juga meningkat, sehingga kemampuan mengeliminasi parasit juga meningkat seperti yang ditunjukkan oleh tabel derajat parasitemia.

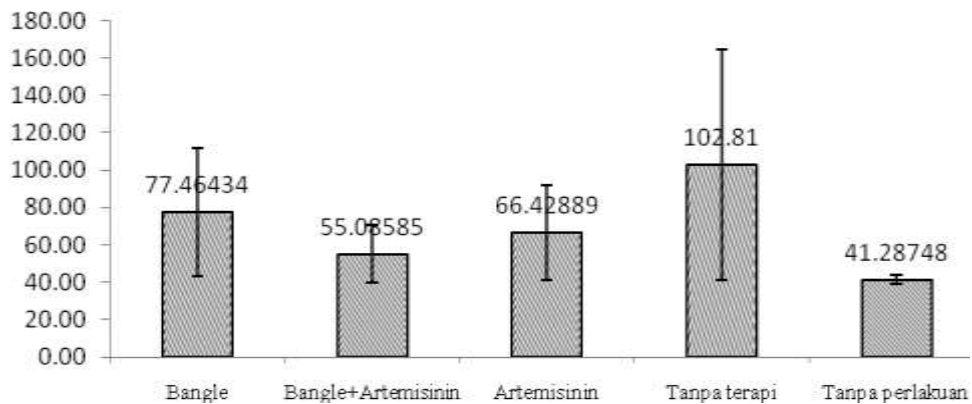
Rerata produksi MDA serum pada kelompok 1 adalah 3,453  $\mu\text{mol/L}$ , kelompok 2 adalah 4,040  $\mu\text{mol/L}$ , kelompok 3 adalah 3,923  $\mu\text{mol/L}$ , kelompok 4 adalah 3,183  $\mu\text{mol/L}$ , dan kelompok 5 adalah 3,223  $\mu\text{mol/L}$ . Hasil pengukuran produksi MDA serum menunjukkan kadar yang paling tinggi pada kelompok 2 yaitu kelompok hewan coba yang distimulasi dengan ekstrak Bangle dan diterapi dengan artemisinsin, seperti tampak dalam bentuk grafik di bawah ini, meskipun secara statistik dengan uji *Independent T-Test* tidak ada perbedaan yang signifikan ( $p>0,05$ ).



Gambar 1.5 Grafik Hasil Pengukuran Kadar MDA Serum

Pada hasil penelitian didapatkan bahwa rerata kadar  $\text{TNF-}\alpha$  serum pada kelompok 1 adalah  $77,46 \pm 33,96 \mu\text{g/ml}$ , kelompok 2 adalah  $55,08 \pm 15,19 \mu\text{g/ml}$ , kelompok 3 adalah  $85,56 \pm 22,43 \mu\text{g/ml}$ , kelompok 4 adalah  $102,81 \pm 61,76 \mu\text{g/ml}$ , dan kelompok 5 adalah  $41,29 \pm 2,28 \mu\text{g/ml}$ . Pada diagram ini terlihat kadar  $\text{TNF-}\alpha$  serum kelompok tanpa terapi paling tinggi sedangkan kelompok tanpa perlakuan paling rendah, meskipun uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antarkelompok ( $p \geq 0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Bangle dapat menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi dan pemberiaan dengan Artemisinin memberikan efek yang lebih kuat. Hasil pengukuran rerata  $\text{TNF-}\alpha$  serum dalam bentuk grafik didapatkan seperti pada Gambar 1.6.





Gambar 1.6 Rerata kadar TNF- $\alpha$  serum dalam satuan pg/ml.

Kata kunci: Bangle, imunostimulan, makrofag, TNF- $\alpha$ , ajuvan, malaria

### Kesimpulan

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak bangle juga dapat menurunkan derajat parasitemia, sehingga kemungkinan mempunyai aktivitas antimalaria juga.
2. Pemberian ekstrak Bangle dapat meningkatkan kapasitas fagositosis makrofag dan produksi NO makrofag, sehingga ekstrak Bangle berpotensi sebagai imunostimulan yang bisa dimanfaatkan sebagai terapi ajuvan pada penyakit malaria.
3. Pemberian ekstrak bangle juga dapat meningkatkan kadar MDA dan NO serum yang menunjukkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh mencit yang penting untuk eliminasi parasit.
4. Produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$  dapat diturunkan dengan pemberian ekstrak Bangle.
5. Kombinasi pemberian ekstrak Bangle dengan obat antimalaria Artemisinin menunjukkan efek yang sinergi dengan adanya penurunan derajat parasitemia, TNF- $\alpha$  dan peningkatan kapasitas fagositosis serta produksi NO yang penting untuk eliminasi parasit.

## Daftar Pustaka

- Arafah E., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., Wresdiyati T., Sidik. 2004. Pengaruh Perlindungan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb*) terhadap kerusakan hati tikus yang diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol XV, No.3
- Chairul, Praptiwi, Chairul S.M. 2009. Phagocytosis Effectivity Test of Phenylbutenoid Compounds Isolated from Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) Rhizome. *B i o d i v e r s i t a s*. Volume 10, Number 1, January 2009
- Fitri, L.E., Rosyidah, H., Sari N.P., Endarti, E. 2009., Effect of N-Acetyl Cysteine Administration To The Degree of Parasitemia And Plasma Interleukin-12 Level Of Mice Infected With *Plasmodium berghei* And Treated With Artemisinin. *Med J Indones*. Vol.18, No.1, January - March 2009
- Jeenapongsa R, Yoovathaworn K, Sriwatanakul KM, Pongprayoon U, Sriwatanakul K. 2003. Anti-inflammatory activity of (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene from *Zingiber cassumunar Roxb.* *J Ethnopharmacol.* 2003 Aug;87(2-3):143-8.
- Lou J., Lucas R., Grau G.E., 2001. Pathogenesis of Cerebral Malaria : Recent Experimental Data and Possible Applications for Human. *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (4) : 810-820.
- WHO. 2011. Malaria. Diakses tanggal 30 desember 2011 dari <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>
- World Health Organization (WHO), 2003. WHO Report Meeting on Antimalarial Drug Development. Manila. <http://www.wpro.who.int/malaria/docs/shanghai>.