

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit yang ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* betina yang di dalamnya mengandung *Plasmodium*, yaitu makhluk hidup bersel satu yang termasuk ke dalam kelompok *Protozoa*. *Plasmodium* yang terbawa melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina akan berkembang biak dalam sel darah merah manusia (Kementrian Kesehatan RI, 2016). Malaria pada manusia disebabkan oleh empat jenis spesies *Plasmodium* yakni *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* dan *P. vivax* (WHO, 2018). *Plasmodium falciparum* paling bertanggung jawab pada sebagian besar kasus kematian yang disebabkan malaria, terutama di Afrika sub-Sahara (Wirth & Alonso, 2017).

Kasus malaria pada tahun 2017 sebagian besar berada di Wilayah Afrika yakni dengan 92% kasus. Tahun 2017, diperkirakan terdapat 219 juta kasus malaria dengan 435.000 kematian yang terjadi di seluruh dunia (WHO, 2018). Penyakit malaria masih ditemukan di Indonesia, berdasarkan API (*Annual Paracite incidence*), dilakukan stratifikasi wilayah dimana Indonesia bagian Timur masuk dalam stratifikasi malaria tinggi. Papua merupakan provinsi dengan API tertinggi, yaitu 41,31% pada tahun 2018 (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Bahan alam telah dimanfaatkan sebagai dasar sumber pengobatan di seluruh dunia. Negara Asia dan Afrika 80% dari populasi penduduknya bergantung pada obat tradisional untuk kesehatan primer. Survei terbaru telah mengidentifikasi banyak ekstrak dari tanaman yang memiliki aktivitas antiplasmodial. Pada tahun 1820, ilmuwan Prancis Pelletier dan Caventou menemukan kina sebagai antimalaria pertama yang diisolasi dari kulit *Cinchona* yang tumbuh liar di Amerika Selatan, atau tanaman

yang dibudidayakan di Indonesia. Kina digunakan sebagai *template* untuk sintesis klorokuin pada tahun 1940. Kontribusi terbaru berasal dari penelitian artemisinin yang diisolasi dari *Artemisia annua* pada tahun 1972. Artemisinin mewakili struktur baru farmakofor antimalaria yang terdiri dari lakton seskuiterpen endoperoksida (Ginsburg & Deharo, 2011).

Tahun 1973 pertama kali ditemukan kasus resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin di Kalimantan Timur, dan pada tahun 1990 dilaporkan telah terjadi resistensi parasit *P. falciparum* terhadap klorokuin di seluruh Provinsi di Indonesia. Selain itu di beberapa tempat di Indonesia, juga terdapat kasus resistensi *Plasmodium* terhadap *Sulfadoksin-Pirimethamin* (Kemenkes RI, 2013). Resistensi *Plasmodium strain* terhadap semua obat yang tersedia saat ini termasuk artemisinin, menjadi masalah yang darurat sehingga diperlukan penemuan dan pengembangan obat antimalaria baru yang efektif dan tidak resisten. Sehubungan dengan hal tersebut perlu dicatat bahwa bahan alam telah terbukti menjadi sumber berharga dalam penemuan obat antimalaria (Pan *et al.*, 2018). Eksplorasi bahan aktif dari bahan alam, terutama tanaman obat yang secara tradisional digunakan masyarakat untuk mengobati malaria di berbagai daerah endemis menjadi salah satu upaya pendekatan dalam menemukan antimalaria yang baru (Syamsudin, 2008).

Moraceae adalah famili yang terdiri dari sekitar enam puluh genus dan hampir 1.400 spesies, termasuk genus penting diantaranya *Artocarpus*, *Morus*, dan *Ficus* (Laksmiwati & Hakim, 2015). Spesies *Artocarpus* telah banyak digunakan dalam bidang kesehatan sebagai obat tradisional di Asia Tenggara, diantaranya untuk pengobatan radang, demam akibat malaria, bisul, abses, dan diare. *Artocarpus* mengandung senyawa fenolik, termasuk flavonoid isoprenilasi, stilbenoid, dan 2-aryl-benzofuran (Hakim *et al.*, 2006). Berdasarkan literatur, diketahui bahwa

sejumlah spesies dari genus *Artocarpus* menghasilkan senyawa fenolik terprenilasi dengan keunikan struktur flavonoid yang menghasilkan efek fisiologis luas sebagai antimalaria (Laksmiwati & Hakim, 2015).

Artocarpus champeden Spreng atau dikenal dengan cempedak secara tradisional Indonesia digunakan sebagai pengobatan demam akibat malaria (Hakim *et al.*, 2006). Beberapa senyawa aktif diidentifikasi diantaranya adalah flavon isoprenilasi dan *chalcone*, termasuk *morachalcone* sebagai marker aktif senyawa ekstrak etanol *stembark Artocarpus champeden* (Widyawaruyanti & Zaini, 2011). *A. champeden* menghasilkan beberapa senyawa salah satunya heteroflavanon C yang mempunyai potensi paling kuat sebagai antimalaria, uji dengan metode mikroskopis menghasilkan nilai IC_{50} 0,001 μ M (Syamsudin, 2008). Penelitian lain melaporkan bahwa aktivitas antimalaria dari hasil isolasi ekstrak diklorometana akar dan kulit *Artocarpus altilis*, yakni *cycloartocarpin*, *artocarpin* dan *chaplashin*, serta hasil isolasi akar dan batang ekstrak *Artocarpus altilis* yakni *morusin*, *cudaflavone B*, *cycloartobiloxanthone*, *artoinin E* dan *artbiloxanthone*, isolat-isolat tersebut menunjukkan aktivitas antimalaria yang moderat dengan IC_{50} berkisar pada 1,9 – 4,3 μ g/ml (Boonphong *et al.*, 2007). Studi terbaru isolat dari *Artocarpus altilis* yakni senyawa flavonoid golongan *dihydrochalcone* memiliki aktivitas antimalaria, uji dengan metode mikroskopis menunjukkan bahwa isolat tersebut menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* dengan nilai IC_{50} sebesar 1,05 μ M. Sebuah studi *in silico* digunakan untuk memprediksi mekanisme kerja isolat tersebut, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki mekanisme menghambat protease sistein (Hidayati *et al.*, 2020).

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari familia Moraceae, yaitu *Artocarpus sericicarpus*. Pemilihan tanaman ini didasarkan pada pendekatan kemotaksonomi dengan genus *Artocarpus*

yakni *A. champeden* dan *A. altilis*, bahwa tumbuhan dari taksa yang sama mempunyai hubungan kekerabatan yang sangat erat terutama pada taksonomi tingkat familia, genus, dan spesies. Adanya hubungan yang erat dari pendekatan tersebut memungkinkan adanya persamaan senyawa yang terkandung di dalam *A. sericicarpus* dengan *A. champeden* dan *A. altilis* yang diharapkan memiliki aktivitas antimalaria.

Penelitian uji aktivitas antimalaria *A. sericicarpus* secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* galur 3D7 sensitif klorokuin menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* berpotensi aktif sebagai antimalaria dengan rentang nilai persen hambatan rata-rata pertumbuhan parasit dengan uji morfologi yakni $100 \pm 0\%$ pada konsentrasi uji $100 \mu\text{g/mL}$, sedangkan uji dengan ELISA HRP₂ rentang nilai persen hambatan rata-rata pertumbuhan parasit pada konsentrasi uji $100 \mu\text{g/mL}$ adalah $72,3 \pm 0,4\%$. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa kulit batang *A. sericicarpus* mengandung golongan senyawa polifenol, flavonoid, terpenoid, dan antrakuinon (Koesoemawardhani, 2017). Penelitian lain yang belum dipublikasikan, uji dengan *Lactate Dehydrogenase* (LDH) *assay* dan *Malate Quinone Oxydoreductase* (MQO) *assay* pada ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* terhadap *Plasmodium falciparum* diperoleh hasil bahwa ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* aktif sebagai antimalaria dengan nilai IC₅₀ $2,11 \mu\text{g/mL}$ serta mampu menghambat aktivitas enzim MQO dengan nilai IC₅₀ $15,49 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* untuk mengetahui aktivitas antimalaria hasil fraksinasinya.

Pengembangan obat antimalaria terutama spesies yang paling berbahaya yakni *Plasmodium falciparum* dapat dilakukan dengan cara mengeksplorasi target obat. Target obat antimalaria yang pernah diteliti

diantaranya adalah pada lisosom vakuola makanan (*food vacuola*) parasit seperti obat 4-aminokuinolin, jalur folat dalam sitoplasma parasit seperti obat *sulfadoxine pyrimethamine* (SP), alkilasi membran parasit seperti obat artemisin, apikoplast seperti antibiotik tetrasiklin, dan mitokondria seperti obat atovaquone (Winstanley *et al.*, 2004).

Laktat dehidrogenase *Plasmodium* (*pLDH*) merupakan enzim yang memainkan peran penting dalam mengatur glikolisis yang digunakan untuk produksi energi. *pLDH* adalah target utama dalam mendiagnosis tahap eritrositik parasit malaria, karena diekspresikan tinggi selama parasit berada pada tahap darah dan dapat dibedakan dari LDH manusia (Lee *et al.*, 2020). LDH manusia dapat dibedakan dengan *pLDH* menggunakan koenzim 3-asetilpiridin adenin dinukleotida (APAD), hanya *pLDH* yang dapat menggunakan APAD (David J. B. *et al.*, 1993).

Malat kuinon oksidoreduktase *Plasmodium falciparum* (*PfMQO*) merupakan enzim yang terletak di bagian dalam mitokondria. Mitokondria merupakan organel yang terlibat dalam beberapa jalur metabolisme seluler yang penting untuk kelangsungan hidup parasit. *PfMQO* adalah target pengobatan antimalaria yang bekerja pada organel subseluler *Plasmodium* dengan target inhibisi pada siklus eritrositer (Isma, 2017). *PfMQO* merupakan enzim spesifik sebagai target obat di mitokondria *Plasmodium* karena tidak dimiliki manusia, selain itu *PfMQO* dilaporkan terlibat dalam jalur transpor elektron, siklus asam trikarboksilat dan siklus fumarat (Wang *et al.*, 2019). Enzim MQO berfungsi mengubah malat menjadi oksaloasetat. Hasil dari oksidasi malat menjadi oksaloasetat dalam siklus krebs adalah NADH dan H⁺. NADH dibutuhkan sel untuk menghasilkan ATP pada transpor elektron, sehingga jika obat antimalaria dapat menghambat enzim MQO maka hal ini akan mengakibatkan produksi energi untuk pertumbuhan parasit terganggu (Isma, 2017) (Lunev *et al.*, 2016). Pada percobaan

pengembangan obat malaria pada parasit *P. berghei*, MQO memberikan validasi genetik sebagai target obat. Sebuah penelitian, tujuh senyawa dengan IC_{50} di bawah 5 μ M mentargetkan *PfMQO*, empat senyawa diantaranya memberikan hasil bahwa *PfMQO* adalah target obat antimalaria yang potensial (Wang *et al.*, 2019).

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan fraksi aktif antimalaria dari hasil fraksinasi ekstrak diklorometana kulit batang *Artocarpus serisicarpus* dengan target penghambatan pada enzim MQO *Plasmodium falciparum*. Bagian tanaman yang digunakan adalah kulit batang yang kemudian diekstraksi secara bertahap menggunakan metode *ultrasonic assisted extraction* dengan pelarut n-heksana, diklorometana, dan metanol. Ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* yang diperoleh dilakukan fraksinasi gradien menggunakan open kolom kromatografi, yang selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antimalaria dari hasil fraksinasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* dengan target penghambatan pada enzim MQO *Plasmodium falciparum*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah hasil fraksinasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericicarpus* mempunyai aktivitas antimalaria dengan target penghambatan pada enzim *Malate Quinone Oxidoreductase Plasmodium falciparum* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mendapatkan fraksi aktif antimalaria dari hasil fraksinasi ekstrak diklorometana kulit batang *Artocarpus serisicarpus* dengan target penghambatan pada enzim MQO *Plasmodium falciparum*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Melakukan fraksinasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericarpus* untuk mendapatkan fraksi aktif antimalaria.
2. Melakukan uji aktivitas antimalaria terhadap hasil fraksinasi ekstrak diklorometana kulit batang *A. sericarpus* dengan target penghambatan pada enzim MQO *Plasmodium falciparum*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan informasi mengenai aktifitas antimalaria hasil fraksinasi ekstrak diklorometana *A. sericarpus* dalam menghambat enzim MQO *Plasmodium falciparum*.
2. Menemukan alternatif terapi farmakologis herbal antimalaria sebagai bentuk dukungan kepada pemerintah dan global dalam mengeliminasi malaria.