

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Amebiasis lazim terjadi di seluruh negara berkembang dengan ekosistem tropis, yang mencapai prevalensi 50% populasi umum dan diperkirakan menyebabkan lebih dari 100.000 kematian per tahun. Pasien biasanya dapat mengalami gejala simtomatik seperti nyeri perut dan diare, serta mengeluarkan feses berdarah, namun penyakit ini dapat menyebar ke hati dan organ lain yang mengakibatkan kematian (Abhyankar *et al.*, 2012).

Diperkirakan lebih dari satu miliar orang telah terinfeksi salah satu penyakit tropis yang terabaikan tersebut. Amebiasis disebabkan oleh *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), protozoa dari keluarga Endomoebidae, terkait dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi dan telah menjadi masalah kesehatan masyarakat utama di seluruh dunia. Oleh karena itu, dianggap sebagai parasitosis ketiga yang penting secara medis setelah malaria dan schistosomiasis (Tanyuksel and Petri, 2003). Berdasarkan laporan Depkes RI, diperkirakan jumlah prevalensi akibat infeksi amebiasis di Indonesia sebesar 10% dengan 30 kasus berujung pada kematian setiap tahunnya (Depkes RI, 2015).

E. histolytica hidup endemik di daerah tropis dan sub-tropis, hal itu menyebabkan tingginya tingkat infeksi di negara-negara berkembang seperti di Amerika Latin, Asia dan Afrika, di mana kondisi sanitasi yang buruk, ledakan populasi dan kontrol tempat penampungan air yang tidak baik, sangat

meningkatkan perkembangan infeksi penyakit tersebut (Pinilla *et al.*, 2008). Amuba memiliki dua tahap dalam siklus hidupnya, yaitu *the cyst* yang merupakan tahap infeksi, dan *the trophozoite* yang merupakan fase invasif (Lejeune *et al.*, 2009).

Metronidazol selama beberapa dekade telah menjadi obat yang paling efektif dalam pengobatan amebiasis, walaupun diketahui efek sampingnya dan kemanjuran yang rendah terhadap pembawa kista asimtomatik. Selain itu, resistensi oleh *E. histolytica* terhadap pengobatan metronidazol pada amebiasis juga telah dilaporkan di beberapa negara. Oleh karena itu, perkembangan obat baru untuk antiamuba yang efektif dengan efek samping yang kecil masih sangat dibutuhkan pada saat ini (Ali and Nozaki, 2007).

Pada dua dekade terakhir, penggunaan obat berbasis bahan alam tidak hanya terbatas di negara-negara berkembang, namun juga di negara-negara maju. Berdasarkan survei yang dilakukan Barnes *et al.*, (2008), perubahan paradigma ini antara lain disebabkan peningkatan pengetahuan masyarakat mengenai kelebihan obat herbal dari pada obat sintesis (obat modern). Alasan paling umum masyarakat beralih untuk menggunakan obat herbal adalah bahwa obat herbal tersebut lebih terjangkau, serta memiliki efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan obat sintesis, namun dengan tingkat potensi yang hampir sama. Saat ini produk bahan alam dan turunannya diperkirakan mewakili sekitar 50% dari semua obat yang telah beredar di pasaran selama beberapa dekade terakhir. Oleh karena itu, perlu dikembangkan pencarian senyawa obat yang berasal dari bahan alam (Newman and Cragg, 2012).

Beberapa senyawa bahan alam seperti golongan alkaloid, kuasinoid, terpenoid, flavonoid, iridoid, dan senyawa fenolik lainnya yang berasal dari tumbuhan telah dilaporkan menunjukkan aktivitas melawan pertumbuhan *E. histolytica* dan protozoa lainnya. Mayoritas senyawa tersebut telah diuji secara *in vitro* dan beberapa diantaranya juga telah diuji secara *in vivo*. Senyawa-senyawa bahan alam tersebut diisolasi dari berbagai jenis tanaman. Menurut hasil beberapa penelitian, suatu senyawa bahan alam dikatakan potensial sebagai antiamuba bila memiliki nilai konsentrasi penghambatan (IC_{50}) $<50 \mu\text{g/mL}$ untuk isolat dan $<100 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak (Singh *et al.*, 2009).

Beberapa senyawa golongan flavonoid seperti apigenin, epicatecin, quercetin dan geranin telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antiamuba dengan nilai $IC_{50} <50 \mu\text{g/mL}$ (Calzada *et al.*, 2017). Selain itu senyawa flavonoid lain seperti kaempferol dan luteolin yang diisolasi dari *Morinda morindoides* (Rubiaceae) juga dilaporkan memiliki aktivitas antiamuba dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar $7,9 \mu\text{g/mL}$ dan $17,8 \mu\text{g/mL}$ (Cimanga *et al.*, 2006). Senyawa golongan santon seperti α -mangostin yang diisolasi dari *Garcinia mangostana* (Clusiaceae) telah dilaporkan memiliki aktivitas yang baik sebagai antiamuba dengan nilai IC_{50} sebesar $8,9 \mu\text{g/mL}$ (Al-Massarani *et al.*, 2013).

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang sangat besar, hal itu ditunjukkan dengan luasnya jumlah hutan yang ada di Indonesia. Salah satu hutan yang cukup besar dan memiliki keanekaragaman flora yang besar di Indonesia adalah hutan Kebun Raya Balikpapan yang terletak di Kalimantan

Timur. Telah banyak dilakukan eksplorasi tanaman dari daerah Balikpapan untuk menemukan potensi keberagaman tanaman obat yang tersedia di sana.

Pada penelitian pendahuluan telah dilakukan skrining terhadap 22 spesies tanaman dari Kebun Raya Balikpapan. Dari hasil skrining 22 spesies tanaman tersebut diperoleh ekstrak dari kulit batang tanaman *Cratoxylum sumatranum* (Jack) Bl. atau biasa disebut *C. sumatranum* dari suku Hypericaceae yang menunjukkan aktivitas tertinggi sebagai antiamuba. Ekstrak diklorometana dari kulit batang tanaman *C. sumatranum* memiliki aktivitas yang kuat terhadap penghambatan pertumbuhan sel dari *E. histolytica*, hal tersebut ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar 22,07 $\mu\text{g/mL}$, CC_{50} sebesar 29,69 $\mu\text{g/mL}$, dan selective index (SI) 1,34 (Wardana *et al.*, 2018). Karena nilai SI dari ekstrak diklorometana lebih tinggi dari pada ekstrak heksana, maka ekstrak diklorometana kulit batang *C. sumatranum* sangat potensial untuk dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai bahan pengembangan obat antiamuba yang baru.

Berdasarkan pada pendekatan kemotaksonomi, tanaman dari suku Hypericaceae memang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas yang sangat baik sebagai antioksidan, antibakteri dan juga bersifat toksik terhadap berbagai mikroba (Seo *et al.*, 2002). Beberapa penelitian juga telah melaporkan bahwa tanaman dari suku Hypericaceae ini memiliki potensi sebagai antiamuba. Seperti yang telah dilaporkan oleh Moundipa *et al.* (2005), bahwa ekstrak metanol dari tanaman *Harungana madagascariensis* yang berasal dari suku Hypericaceae memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan dari *E. histolytica* dengan IC_{50} sebesar 82,05 $\mu\text{g/mL}$.

Genus *Cratoxylum* adalah salah satu jenis tanaman tropis dari suku Hypericaceae yang banyak tumbuh di kawasan hutan tropis. Secara etnomedisin genus *Cratoxylum* telah banyak digunakan sebagai tanaman obat oleh masyarakat lokal. Rebusan daun dari *C. arborescens* dengan nama lokal Geronggang dan *C. formosum* dengan nama lokal Mampat, banyak digunakan oleh masyarakat di kawasan Asia Tenggara untuk pengobatan dan pencegahan ulkus lambung (Sidahmed *et al.*, 2013; Sripanidkulchai *et al.*, 2010). Tanaman *C. cochinchinense* dengan nama lokal Huang niu mu telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional Vietnam, bagian kulit kayu, akar dan daun digunakan untuk pengobatan demam, batuk, perut kembung, diare, sakit perut, kudis dan eksim, sementara bagian rantingnya digunakan untuk mengobati kudis, luka bakar dan cedera (Nguyen *et al.*, 2011).

Beberapa hasil penelitian telah melaporkan dari berbagai genus *Cratoxylum* seperti *C. formosum*, *C. arborescens*, *C. cochinchinense*, *C. maingayi* dan *C. sumatranum* memiliki kandungan senyawa kimia berupa antrakuinon, benzofenon, flavonoid, santon dan triterpenoid, pada hasil metabolit sekudernya (Seo *et al.*, 2002). Beberapa senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki berbagai bioaktivitas seperti senyawa formosanton yang diisolasi dari *C. formosum* memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan (Boonsri *et al.*, 2006). Senyawa golongan santon seperti cochichinon dan celebisanon yang diisolasi dari tanaman *C. cochinchinense* dan *C. maingayi* memiliki aktivitas sebagai antimalaria dan sitotoksik terhadap sel kanker paru-paru (Laphookhieo *et al.*, 2009).

Tanaman *Cratoxylum sumatranum* (Jack) Bl. dengan nama lokal Mentialing adalah tanaman endemik yang banyak tumbuh di daerah Kalimantan dan Sumatera. Tanaman *C. sumatranum* telah dilaporkan banyak mengandung senyawa santon dan benzofenon. Menurut Tantapakul *et al.* (2016), kandungan senyawa benzofenon dan santon pada tanaman *C. sumatranum* memiliki aktivitas yang sangat baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Keberadaan berbagai kandungan senyawa kimia pada *C. sumatranum* sangat perlu dikaji lebih dalam untuk menentukan secara spesifik kandungan senyawa aktifnya. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi kandungan senyawa aktif dari ekstrak diklorometana kulit batang tanaman *C. sumatranum* dari Kebun Raya Balikpapan. Proses isolasi dan identifikasi senyawa aktif yang akan dilakukan pada penelitian didasarkan pada konsep *bioassay guided isolation*. Dimana senyawa aktif yang akan ditentukan dari tanaman tersebut didasarkan pada bioaktivitasnya sebagai antiamuba (Sarker *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini uji aktivitas sebagai antiamuba akan ditentukan secara *in vitro* berdasarkan pengujian *cell-based assay* dan *enzymatic assay*. Pengujian *cell-based assay* didasarkan pada kemampuan dari senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan sel *E. histolytica*. Sedangkan pengujian *enzymatic assay* didasarkan pada kemampuan dari senyawa aktif dalam menghambat kerja enzim NAD kinase. Enzim NAD kinase adalah enzim yang bertanggung jawab untuk sintesis pembentukan $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ dari

NAD⁺/NADH pada proses metabolisme sel *E. histolytica*. Pada *E. histolytica*, enzim NAD kinase memainkan peran penting dalam memelihara terjadinya reaksi redoks intraseluler dan membantu parasit dalam menanggapi stres oksidatif dari lingkungan sekitarnya (Jeelani *et al.*, 2013). Diharapkan nantinya senyawa aktif yang diperoleh dari hasil isolasi ekstrak kulit batang tanaman *C. sumatranum* mampu memberikan aktivitas sebagai antiamuba berdasarkan pengujian *cell-based* dan *enzymatic* untuk dapat mengetahui mekanisme kerjanya.

1.2 Rumusan Masalah

Sesuai dengan latar belakang diatas, adapun rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Senyawa aktif antiamuba apakah yang terkandung pada kulit batang tanaman *C. sumatranum* (Jack) Bl. ?
2. Bagaimana potensi senyawa aktif dari kulit batang tanaman *C. sumatranum* (Jack) Bl. sebagai antiamuba berdasarkan pengujian *cell-based assay* dan *enzymatic assay* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Umum :

Tujuan umum dari penelitian ini adalah menemukan senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antiamuba dari kulit batang tanaman *C. sumatranum* (Jack) Blume.

Tujuan Khusus :

1. Mengidentifikasi struktur senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antiamuba pada kulit batang tanaman *C. sumatranum* dengan konsep *bioassay guided isolation*.
2. Mengetahui nilai IC_{50} dan CC_{50} aktivitas antiamuba dari senyawa aktif yang terkandung pada kulit batang tanaman *C. sumatranum*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam kulit batang tanaman *C. sumatranum* yang memiliki aktivitas sebagai antiamuba berdasarkan pengujian *cell-based* dan *enzymatic*. Sehingga dapat dikembangkan menjadi kandidat obat baru dari bahan alam untuk pengobatan penyakit amebiasis.