

Aktivitas Antimalaria Berbasis Penghambatan β -Hematin dalam Ekstrak Air Daun Jung Rahab (*Baeckea frutecens* L)

Yatri Hapsari^{1,*}, Gede Adhi Mahayoga², Wien Kusharyoto¹, Partomuan Simanjuntak^{1,2}

¹Puslit Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jl. Raya Bogor-Jakarta Km.46, Cibinong 16911

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jakarta

*Penulis korespondensi: yatri0703@yahoo.com

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v7.n1.19131>

Abstrak: Malaria merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp.* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk betina Anopheles. Jung rahab (*Bruckea frutescens* L) diketahui memiliki aktivitas dalam menekan pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria berbasis penghambatan β -hematin dalam ekstrak air daun jung rahab. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah ekstraksi daun jung rahab dengan air, kromatografi kolom, skrining hasil fraksinasi kolom, Kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif dan identifikasi senyawa kimia berdasarkan interpretasi spektra FT-IR dan GCMS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria berdasarkan interpretasi spektra FTIR dan GCMS adalah kariofilen.

Kata kunci: jung rahab, *Bruckea frutescens*, antimalaria, β -hematin

Abstract: Malaria is an infectious disease caused by *Plasmodium sp* involving female anopheles masquitos during its transmission. Jung rahab (*Bruckea frutescens* L) was already known to have antimalaria activities in suppressing *Plasmodium falciparum* growth. The aim of this research is to find out antimalaria activity based on β -hematin inhibition and chemical separation of jung rahab water extract. This research was conducted through several steps, water extraction of jung rahab leaves, column chromatography, column fractions antimalarial screening, preparative TLC and compound identification using FTIR and GCMS. Results of this research showed that compound that has antimalarial activity based on FTIR and GCMS spectra was caryophyllene.

Keywords: jung rahab; *Bruckea frutescens*; antimalarial; β -hematin

PENDAHULUAN

Sejak tahun 2000 terdapat kemajuan besar dalam melawan penyakit malaria di dunia. Endemik malaria sendiri pada 2016 turun menjadi 91 dari 108 negara pada tahun 2000. Walaupun ada kemajuan pesat dalam penanganannya, malaria masih memberikan dampak buruk bagi kehidupan masyarakat. Perkembangan terbaru menyatakan ada 212 juta kasus di dunia yang bertanggung jawab terhadap 429 ribu kematian, dimana sebagian besar kasus diderita balita di Afrika (WHO 2016). Di Indonesia, kasus positif malaria dari tahun 2011 hingga 2015 mengalami penurunan jumlah kasus paling banyak terjadi di Indonesia bagian timur (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI 2016).

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Plasmodium sp.* melalui perantara nyamuk Anopheles. Terdapat empat jenis plasmodium yang diketahui menyebabkan malaria pada manusia yaitu, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, dan *P. malariae*.

Kebanyakan kasus di Indonesia lebih sering ditemukan adalah *P. falciparum* dan *P. vivax* dimana *P. falciparum* secara klinis lebih berat dan sering menyebabkan kematian (Mutiah 2012). Parasit *P. falciparum* merupakan parasit yang cenderung resisten terhadap obat malaria dibandingkan jenis lainnya. Dikarenakan resistensi *P. falciparum* terhadap obat-obatan malaria yang digunakan dalam penanganan penyakit malaria mengakibatkan masalah tersendiri bagi daerah endemik yaitu tingginya tingkat kematian akibat penyakit ini (Simamora & Fitri 2007).

Pada penyakit malaria dikenal resistensi obat lebih dari satu obat antimalaria yang dikenal dengan *multi drug resistant* (MDR), dimana resistensi obat merupakan kemampuan parasit tetap bertahan hidup ketika sudah diberikan dosis yang sesuai pengobatan standar (Simamora & Fitri 2007). Di daerah Papua, yang merupakan daerah endemik malaria, tiga jenis obat malaria yaitu, klorokuin, piremetamin dan

sulfadoxin mengalami resistensi dalam mengobati pasien malaria (Kinansi dkk. 2017). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari sumber obat malaria baru, salah satunya melalui tanaman. Pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional terutama untuk pengobatan malaria sudah dilakukan oleh masyarakat lokal, namun masih banyak yang belum diteliti secara ilmiah.

Kuinin dan kuinidin diisolasi dari batang tanaman Cinchona dan artemisinin diisolasi dari tanaman *Artemisia annua*. Ketiga senyawa ini telah diteliti memiliki aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* yang resisten. (Subeki 2008). Jung rahab (*Baeckea frustecens* L.) yang memiliki bau aromatik merupakan tanaman dari famili Myrtaceae yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Asia Tenggara. Tanaman ini dibuat teh untuk menurunkan demam di Cina (Razmavar *et al.* 2014). Tanaman ini banyak digunakan untuk menangani penyakit reumatik, demam, sakit kepala, influenza dan sakit perut oleh masyarakat lokal. Penelitian sebelumnya telah diketahui adanya aktivitas antibakteri, antifungal, antiplasmodial, antimalarial, antitumor dan immunomodulator (Nisa *et al.* 2016). Ekstrak air daun jung rahab diketahui tergolong ke dalam aktivitas yang kuat karena memiliki aktivitas inhibisi diatas 80% secara *in vitro* terhadap *P. falciparum* (Murnigsih *et al.* 2005).

Walaupun ekstrak air daun jung rahab diketahui memiliki aktivitas antimalaria yang kuat, akan tetapi mekanismenya dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum* belum diketahui. Salah satu mekanisme obat malaria adalah melalui penghambatan hemozoin. Dalam skala laboratorium digunakan β -hematin, yang merupakan senyawa yang analog dengan hemozoin. Penelitian sebelumnya

menunjukkan bahwa penghambatan pembentukan β -hematin merupakan target ideal untuk pencarian obat malaria (Huy *et al.* 2007). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi air, fraksinasi, skrining antimalaria dan identifikasi senyawa dengan KG-SM dan FTIR.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

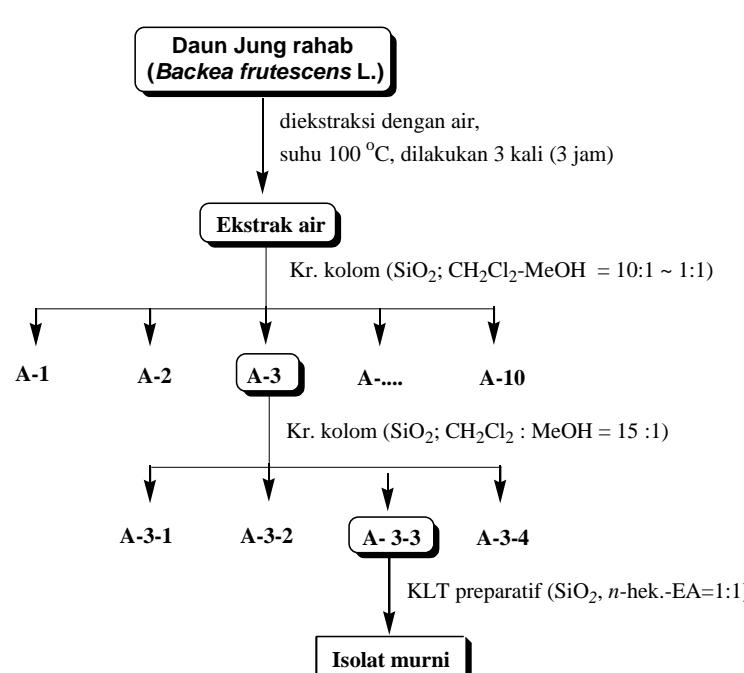
Daun jung rahab (*Baeckea frutescens* L), klorokuin sulfat (sebagai control positif), hemin klorida, tween 20 (Merck), aquades, buffer natrium asetat (Sigma-Aldrich), Silika gel 60 (Merck), DMSO 10%, diklorometan teknis dan metanol teknis. Alat yang digunakan antara lain adalah spektroskopi massa (MS) Agilent 7890A, kromatografi gas (KG) Agilent 5975C dan FT-IR Shimadzu.

Cara Kerja

Tahap penelitian dilakukan dengan mengekstraksi simplisia daun jung rahab dengan air, kemudian ekstrak kental air yang diperoleh diisolasi dan dimurnikan dengan kromatografi kolom dan KLT preparatif serta diidentifikasi dengan menginterpretasi data spektra kromatografi gas-spektrometri masa (KG-SM) dan Fourier Transfer Infra Red (FT-IR).

Ekstraksi Simplisia

Simplisia daun jung rahab sebanyak 500 gram direbus dengan 1000 mL air hingga susut setengahnya. Proses ini diulangi hingga empat kali. Air rebusan dipekatkan dengan menggunakan penangas air sehingga diperoleh ekstrak kental air sebanyak 50,86 gram.



Gambar 1. Skema isolasi dan pemurnian senyawa aktif dari daun Jung rahab

Kromatografi Kolom

Ekstrak kental air dianalisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mencari fasa gerak yang sesuai untuk proses kromatografi kolom. Isolasi dan pemurnian dilakukan berdasarkan panduan uji hemazoin terhadap hasil fraksinasi kromatografi kolom (SiO_2 ; (i) $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH} = 10: \sim 1:1$; (ii) $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{: MeOH} = 15:1$) dan KLT preparatif (SiO_2 ; n -heksan-etilasetat = 1:1) hingga diperoleh isolat murni. Skema kerja dapat dilihat pada Gambar 1.

Uji Aktivitas Antimalaria Berdasarkan penghambatan polimerisasi β -hematin

Sampel yang berupa fraksi yang diperoleh dibuat konsentrasi 1000 ppm sebanyak 20 μL lalu dicampur dengan 90 μL Tween 20 22,2 ppm dan 90 μL larutan hemin klorida 111,1 μM dalam buffer asetat pH 4,8 dalam mikroplate 96 sumuran. Lalu diinkubasi dalam inkubator selama 3 jam pada suhu 37°C, selanjutnya diukur dengan *elisa reader* pada panjang gelombang 405 dan 620 nm sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Huy *et al.* (2007) yang dimodifikasi. Persentase hambatan dihitung dengan persamaan (1) dan (2).

$$f = \frac{\text{Ak-As}}{\text{Ak-Am}} \dots (1)$$

$$\% \text{ hambatan} = (1-f) \times 100\% \dots (2)$$

dengan:

- f : fraksi perubahan hemin klorida menjadi β -hematin
 Ak : Absorbansi hemin klorida
 As : Absorbansi sampel setelah ditambahkan ke dalam hemin klorida dan Tween 20
 Am : Absorbansi hemin klorida dan Tween 20

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia daun jung rahab sebanyak 500 g direbus dengan menggunakan air sebanyak 1 L diulang empat kali dan dipekatkan dengan penangas air dan diperoleh ekstrak kental air sebanyak 50,86 g (10,17%). Ekstraksi simplisia dengan perebusan dilakukan berdasarkan cara masyarakat dalam memanfaatkan daun tanaman jung rahab sebagai obat tradisional.

Kromatografi kolom pertama secara gradien menggunakan diklorometan:metanol mulai 10:1 sampai 1:1 hingga diperoleh 10 fraksi (A.1-10). Kemudian fraksi yang diperoleh diuji aktivitasnya untuk penghambatan polimerisasi β -hematin. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi A.3 memiliki aktivitas paling tinggi (Tabel 1). Kemudian fraksi yang A.3 dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi kolom secara isokratik dikarenakan senyawa-senyawa dalam fraksi lebih sederhana dan diperoleh 4 fraksi. Keempat fraksi (A.3.1-A.3.4) ini

diuji aktivitas penghambatan β -hematin dan diperoleh nilai paling tinggi pada fraksi A.3.3 (Tabel 2). Fraksi 3 hasil kromatografi kolom kedua memiliki aktivitas penghambatan pembentukan polimerisasi β -hematin tertinggi (29,02%) dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif (fasa diam = SiO_2 ; fasa gerak = n -heksan:etil asetat = 1:1). Isolat murni kemudian diambil data spektra FT-IR dan KG-SM untuk menentukan senyawa kimia.

Tabel 1. Uji aktivitas antimalaria berbasis penghambatan β -hematin hasil kromatografi kolom pertama.

No	Fraksi	Hambatan (%)
1	A.1	13,3
2	A.2	2,50
3	A.3	25,30
4	A.4	23,90
5	A.5	19,70
6	A.6	15,50
7	A.7	14,70
8	A.8	16,20
9	A.9	3,20
10	A.10	10,90

Tabel 2. Uji aktivitas antimalaria berbasis penghambatan β -hematin hasil kromatografi kolom kedua.

No	Fraksi	Hambatan (%)
1	A.3.1	10,82
2	A.3.2	10,33
3	A.3.3	29,02
4	A.3.4	4,76

Pencarian nilai IC_{50} dengan menghubungkan antara variasi konsentrasi ekstrak air daun jung rahab dan persen hambatan terhadap ekstrak air daun jung rahab, isolat A.3.3 serta klorokuin sulfat sebagai kontrol positif berturut-turut adalah 51,5; 872,2 dan 156,75 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut aktivitas ekstrak air daun jung rahab lebih tinggi dibandingkan kontrol positifnya yaitu klorokuin sulfat, sedangkan aktivitas isolat A.3.3 paling rendah dibandingkan keduanya. Isolat A.3.3 mengalami penurunan aktivitas antimalaria dapat disebabkan oleh efek sinergisme, dimana senyawa-senyawa yang bila

bergabung akan meningkatkan aktivitas biologis dibandingkan ketika dipisahkan. Klorokuin sulfat sebagai kontrol positif digunakan karena merupakan obat standar yang digunakan untuk pencegahan dan pengobatan malaria klinis dan pengobatan radikal (Tjitra 1997). Salah satu mekanisme obat antimalaria adalah dengan mengganggu pencernaan hemoglobin oleh parasit dengan jalan menghambat pembentukan hemozoin. Hemozoin merupakan senyawa penting bagi pertumbuhan Plasmodium sehingga bila

dihambat akan menyebabkan parasit mati (Simamora & Fitri 2007). Senyawa klorokuin sulfat termasuk obat golongan kuinolin yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki mekanisme penghambatan hemozoin secara struktur identik terhadap β -hematin yang merupakan kristal heme hasil sintesis. Menghambat pembentukan hemozoin merupakan langkah yang baik dalam upaya skrining obat antimalaria (Nhien *et al.* 2011).

Tabel 3. Kandungan senyawa fraksi A.3.3 berdasarkan KG-SM

No	Waktu Retensi (Menit)	Area (%)	Qual (%)	Kemungkinan senyawa menurut database Willey09	Perkiraan struktur molekul
1	9.054	10,89	80	1,1,6,6,tetrametildispiro[2.1.2.1]oktan-4,8-dion	
2	10.020	12,76	99	Kariofilen (<i>Caryophyllene</i>)	
3	12.379	16.76	99	Patchouli alkohol	
4	14.055	8.22	98	Ester metilheksadekanoat	
5	19.645	12.88	91	Bis(2-etilheksil) ftalat	

Identifikasi Senyawa Kimia Berdasarkan Interpretasi Data FT-IR dan KG-SM

Hasil analisis spektra IR terhadap isolat A.3.3 menunjukkan adanya vibrasi ulur alkana (-CH) dan alkena (-CH=) pada daerah bilangan gelombang 952 dan 1631 cm^{-1} , dan tidak adanya gugus hidroksil dan karbonil (data tidak ditampilkan).

Pada kromatogram diperoleh beberapa peak (puncak) dan beberapa diantaranya memiliki nilai kemiripan diatas 90% menurut database willey09 (Tabel 3).

Hasil analisis spektra infra merah (FT-IR) dan kromatografi gas-spektrometri massa (KG-SM), isolat A.3.3 diduga senyawa kimia kariofilen (caryophyllene). Kariofilen merupakan minyak esensial dan termasuk ke dalam golongan seskuiterpen yang memiliki aktivitas biologis seperti antiinflamasi yang dapat menghambat terjadinya luka mukosa lambung, juga sebagai anastesi lokal dan memiliki aktivitas antimalaria terhadap *P. falciparum* yang sensitif terhadap klorokuin dan *P. berghei*. Bahkan kariofilen memiliki aktivitas antimalaria yang lebih baik ketika dikombinasikan dengan nanoteknologi (Ghelardini *et al.* 2001; Kamaraj *et al.* 2017; Tambe *et al.* 1996). Hasil dari penelitian ini dapat menunjukkan bahwa mekanisme antimalaria dalam ekstrak air daun jeng rahab yang mengandung kariofilen adalah dengan menghambat pembentukan β -hematin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak air daun jeng rahab memiliki aktivitas sebagai antimalaria berdasarkan pada penghambatan pembentukan β -hematin, dengan nilai IC_{50} lebih tinggi dibandingkan dengan klorokuin sulfat sebagai kontrol positif dan isolat hasil fraksinasi. Salah satu senyawa yang berperan dalam penghambatan pembentukan β -hematin adalah kariofilen berdasarkan hasil interpretasi dari FTIR dan KG-SM.

DAFTAR PUSTAKA

- Ghelardini, C., Galeotti, N., Mannelli, L.D.C., Mazzanti, G. & Bartolini, A. (2001). Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. *Il Farmaco*. 56(5-7): 387-389.
- Huy, N.T., Uyen, D.T., Maeda, A., Oida, T., Harada, S. & Kamei, K. (2007). Simple colorimetric inhibition assay of heme crystallization for high-throughput screening of antimalarial compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51(1): 350-353.
- Kamaraj, C., Balasubramani, G., Siva, C., Raja, M., Balasubramanian, V., Raja, R.K., Tamilselvan, S., Benelli, G. & Perumal, P. (2017). Ag nanoparticles synthesized using β -caryophyllene isolated from *Murraya koenigii*: antimalarial (*Plasmodium falciparum* 3D7) and anticancer activity (A549 and HeLa cell lines). *Journal of Cluster Science*. 28(3): 1667-1684.
- Kinansi, R.R., Mayasari, R. & Pratamawati, D. A. (2017). Pengobatan malaria kombinasi artemisinin (ACT) di provinsi Papua Barat tahun 2013. *BALABA: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*. 13(1): 43-54.
- Murnigsih, T., Matsuura, H., Takahashi, K., Yamasaki, M., Yamato, O., Maede, Y., Kataoka, K., Suzuki, M., Kobayashi, S. & Yoshihara, T. (2005). Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *Journal of Veterinary Medical Science*. 67(8): 829-831.
- Mutiah, R. (2012). Penyakit malaria dan mekanisme kerja obat-obat antimalaria. *Alchemy*. 2(1): 80-91.
- Nhien, N.T.T., Huy, N.T., Uyen, D.T., Deharo, E., Le Hoa, P.T., Hirayama, K., Harada, S. & Kamei, K. (2011). Effect of inducers, incubation time and heme concentration on IC_{50} value variation in anti-heme crystallization assay. *Tropical Medicine and Health*. 39(4): 119-126.
- Nisa, K., Ito, T., Kodama, T., Tanaka, M., Okamoto, Y., Asakawa, Y., Imagawa, H. & Morita, H. (2016). New cytotoxic phloroglucinols, baeckenones D-F, from the leaves of Indonesian *Baeckea frutescens*. *Fitoterapia*. 109: 236-240.
- Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. (2016). Infodatin Malaria. Tersedia di laman: <http://www.pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/InfoDatin-Malaria-2016.pdf> (diakses: 1 Agustus 2019)
- Razmavar, S., Abdulla, M.A., Ismail, S.B. & Hassandarvish, P. (2014). Antibacterial activity of leaf extracts of *Baeckea frutescens* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed Research International*. 2014: 521287.
- Simamora, D. & Fitri, L.E. (2007). Resistensi obat malaria: mekanisme dan peran obat kombinasi obat antimalaria untuk mencegah. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 23(2): 82-91.
- Subeki, S. (2008). Potency of the Indonesian medicinal plants as antimalarial drugs. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*. 13(1): 25-30.
- Tambe, Y., Tsujiuchi, H., Honda, G., Ikeshiro, Y. & Tanaka, S. (1996). Gastric cytoprotection of the non-steroidal anti-inflammatory sesquiterpene, β -caryophyllene. *Planta Medica*. 62(5): 469-470.
- Tjitra, E. (1997). Tinjauan hasil uji coba pengobatan dan pencegahan malaria di beberapa tempat indonesia, 1986-1995. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 25(3-4): 1-25.
- WHO. (2016). World Malaria Report. Tersedia di laman: <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report/en/>