

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Kebanyakan kasus malaria terjadi di daerah tropis dan subtropis di belahan dunia, seperti Afrika Sub-Sahara, Asia, dan Amerika. Kasus malaria masih menjadi beban kesehatan global, dimana setiap tahunnya lebih dari 400.000 orang meninggal dunia. Kelompok yang paling rentan terhadap kasus ini terjadi pada anak-anak dengan usia di bawah 5 tahun, yaitu pada tahun 2019 sekitar 67% (274.000) dari semua kasus kematian di dunia. Secara global, pada tahun 2019 kasus malaria terjadi sekitar 229 juta kasus dan 409.000 orang meninggal. Sebagian besar kasus (82%) dan kematian (94%) terjadi di daerah Afrika, diikuti dengan Asia Tenggara (total kasus 10% dan kematian 3%) (WHO, 2020).

Malaria merupakan infeksi eritrosit oleh parasit protozoa dari genus *Plasmodium* yang menyerang manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina (Andromeda *et al.*, 2020). Terdapat lima jenis spesies *Plasmodium* yaitu *falciparum*, *vivax*, *malariae*, *ovale*, dan *knowlesi* (Sinha *et al.*, 2017). Penyakit malaria tidak dapat diidentifikasi secara akurat hanya dengan suatu rangkaian kriteria klinis, karena tanda dan gejalanya (demam, menggigil, sakit kepala, dan anoreksia) tidak spesifik dan umum terjadi pada banyak penyakit dan kondisi (WHO,2015).

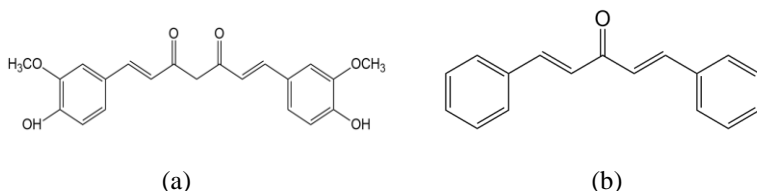
World Health Organization (2020) telah merekomendasikan penggunaan terapi kombinasi artemisinin (*ACTs*) sebagai terapi lini pertama di semua negara terdampak malaria dan injeksi artesunat untuk malaria berat. Pengobatan yang efektif untuk penyakit malaria menjadi komponen terpenting dalam upaya pengendalian dan pemberantasan malaria. Tetapi dengan adanya kemunculan resistensi terhadap penggunaan kombinasi obat,

termasuk artemisinin dan obat sejenisnya mengancam upaya global untuk mengurangi kasus malaria. Resistensi obat dapat berpengaruh pada kegagalan terapi, yang mengakibatkan kerentanan pasien terhadap komplikasi dan pada akhirnya akan meningkatkan biaya perawatan (Andromeda *et al.*, 2020). Kondisi seperti ini, akan mendesak kebutuhan senyawa pengobatan baru yang mudah didapatkan, mudah dikelola dan memberikan biaya yang relatif lebih murah (Martins *et al.*, 2002). Salah satu sumber yang mudah untuk dijangkau adalah menggunakan pengobatan dari tumbuhan. Dalam sejarah manusia sejak zaman dahulu, tumbuhan telah banyak digunakan sebagai obat untuk menghindari gangguan serangga. Bahkan hingga saat ini di berbagai belahan dunia, termasuk beberapa negara di Afrika, Amerika, dan Asia menggunakan berbagai tumbuhan sebagai sarana untuk mencegah penularan penyakit termasuk malaria (Karunamoorthi, 2012; Martins *et al.*, 2002).

Salah satu tanaman obat yang dapat dikembangkan untuk terapi malaria adalah kurkumin, sumber utama polifenol dari *Curcuma longa* L. Kandungan fenol pada kurkumin memiliki efek anti-inflamasi, antikarsinogenik, antioksidan, antiapoptotik dan modulasi angiogenesis. Selain itu, kurkumin memiliki efek anti malaria terhadap berbagai jenis spesies *Plasmodium* melalui berbagai mekanisme seperti meningkatkan ROS (*Reactive oxygen species*) melalui penghambatan pembentukan β -hematin dan fagositosis eritrosit yang terinfeksi parasit, serta mengganggu organel *Plasmodium* (Andromeda *et al.*, 2020). Kurkumin dengan konsentrasi 5 μM mampu mengurangi jumlah parasit (*parasite clearance*) sebesar 50% pada siklus hidup pertama parasit dalam kultur *in vitro*. Sedangkan, pada konsentrasi kurkumin 35 μM dan 50 μM mampu mengurangi jumlah parasit sebesar 70-90% dalam waktu 48 jam (sesuai dengan satu siklus hidup *P. falciparum*). Konsentrasi kurkumin 5 μM memiliki parasitemia yang tetap

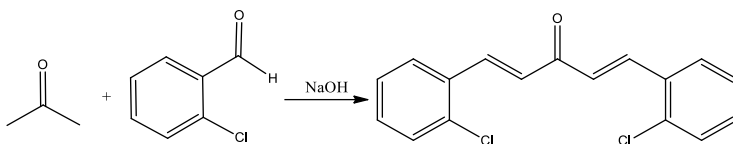
konstan setelah siklus hidup pertama parasit dibandingkan dengan kurkumin pada konsentrasi yang lebih tinggi (Chakrabarti *et al.*, 2013). Dalam penelitian Bukhari *et al.* (2013) mengatakan bahwa adanya gugus β -diketon pada kurkumin mempercepat metabolisme oleh enzim aldo-keto reductase di liver, oleh karena itu mengurangi efektivitas aktivitas kurkumin.

Manohar *et al.* (2013) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa analog monokarbonil dengan struktur yang mirip kurkumin memiliki kemampuan untuk memerangi strain *Plasmodium falciparum* yang sensitif dan resisten terhadap klorokuin. Kurkumin dan dibenzalaseton memiliki struktur yang hampir sama dilihat dari adanya gugus karbonil dan gugus metilen, sehingga dapat dikatakan bahwa dibenzalaseton memiliki aktivitas yang hampir sama dengan kurkumin (Handayani *et al.*, 2010). Senyawa dibenzalaseton merupakan senyawa analog dari kurkumin dengan nama IUPAC [1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dione]. Pengujian *in vitro* aktivitas antimalaria terhadap senyawa dibenzalaseton menunjukkan adanya aktivitas sebagai antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain K1 resisten terhadap klorokuin dengan nilai IC_{50} 32 μ M (Franco *et al.*, 2012). Dibenzalaseton sebagai analog dengan struktur mirip kurkumin menarik untuk dikembangkan dan dengan adanya aktivitas farmakologi pada dibenzalaseton maka di dalam penelitian ini digunakan turunan benzaldehida untuk menghasilkan senyawa baru dalam upaya memberikan manfaat dalam bidang kesehatan. Kemiripan struktur antara kurkumin dan dibenzalaseton (DBA) dapat dilihat pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1 Struktur kimia (a) senyawa kurkumin dan (b) DBA

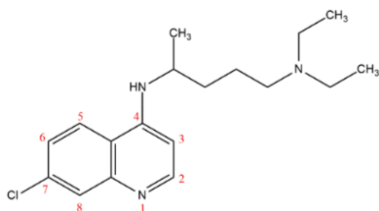
Berdasarkan permasalahan tersebut, pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton yang selanjutnya akan dilakukan pengujian *in vitro* aktivitas antimalaria. Sintesis senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dapat diperoleh dengan cara mereaksikan 2-klorobenzaldehida dan aseton dalam suasana basa (katalis NaOH). Reaksi ini terjadi berdasarkan reaksi kondensasi Claisen-schmidt melalui 3 tahap yaitu pembentukan ion karban, adisi nukleofil pada karbonil dan eliminasi. Reaksi sintesis senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dapat dilihat pada Gambar 1.2. Karakteristik dan sifat fisikokimia senyawa hasil sintesis akan dianalisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, titik leleh, spektroskopi inframerah, dan spektroskopi resonansi magnet inti.



Gambar 1.2 Reaksi sintesis senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton

Dalam penelitian Aher *et al.* (2011) menyatakan bahwa gugus kloro merupakan salah satu molekul aktif pada beberapa obat antimalaria seperti klorokuin, pironaridin, akridinedion, dan lain-lain. Klorokuin adalah 4-aminoquinoline sintesis yang sering dipakai sebagai terapi antimalaria dan merupakan pilihan dalam pengobatan malaria *Plasmodium falciparum* eritrosit, kecuali strain yang resisten (Whalen, 2015). Mekanisme kerja dari klorokuin secara khusus mengikat heme, mencegah polimerisasi heme menjadi hemozoin/ pigmen (Whalen, 2015). Pada struktur klorokuin (Gambar 1.3), gugus kloro pada posisi tujuh dan gugus amino pada posisi empat dari aromatik heterosiklik memiliki peranan penting dalam membentuk kompleksitas klorokuin dengan senyawa heme toksik (*ferriprotoporphyrin IX*) yang terbentuk ketika parasit mencerna

hemoglobin, sehingga menghambat pembentukan kristal hemozoin yang dibutuhkan parasit (Aguiar *et al.*, 2018). Gugus 7-kloro dapat membentuk ikatan elektrostatik dengan gugus 2-amino guanin yang bersifat khas sehingga membentuk kompleks klorokuin-DNA (Siswandono, 2016). Dengan adanya substituen kloro pada senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton diharapkan bahwa turunan dibenzalaseton tersebut dapat memiliki aktivitas sebagai antimalaria yang ditinjau dari adanya aktivitas antimalaria pada senyawa dibenzalaseton dan gugus aktif kloro pada obat antimalaria klorokuin.



Gambar 1.3 Struktur klorokuin

Terdapat sejumlah metode pengujian aktivitas antimalaria secara *in vitro* yang digunakan untuk mendeteksi antimalaria yaitu pada *blood stage*, *liver stage*, *gametosit stage* dan metode skrining (Sinha *et al.*, 2017). Dalam penelitian ini pengujian *in vitro* aktivitas antimalaria dilakukan menggunakan metode uji WHO mikroskopis *microtest* dengan pewarnaan Giemsa. Metode mikroskopis Giemsa merupakan “*gold standar*” yang ditetapkan oleh WHO dan dianggap sebagai instrumen diagnostik yang paling cocok untuk pengendalian malaria karena lebih murah, dapat membedakan spesies malaria dan menghitung parasit (Wongsrichanalai *et al.*, 2007). Selain itu, metode mikroskopis ini lebih sederhana, membutuhkan volume darah yang kecil, tidak memerlukan peralatan yang canggih, dan dapat diandalkan untuk aplikasi di lapangan (Sinha *et al.*, 2017). Jenis *Plasmodium* yang digunakan

pada uji ini adalah *Plasmodium falciparum* strain 3D7. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar 2010, *Plasmodium falciparum* merupakan spesies yang paling banyak ditemukan di Indonesia yaitu sekitar 86,4% (KEMENKES, 2011). Selain itu, adanya resistensi pada parasit malaria khususnya *P. falciparum* terhadap obat antimalaria merupakan masalah yang paling serius dalam ilmu malaria modern (Mohamed *et al.*, 2014). Pengujian ini menggunakan klorokuin sebagai kontrol positif dan DMSO (dimetil sulfoksida) sebagai kontrol negatif. Senyawa dibenzalaseton juga dilakukan pengujian aktivitas antimalaria untuk mengetahui pengaruh dari penambahan substituen kloro pada senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton. Kultur parasit dibuat menjadi sediaan lapisan tipis darah dengan pewarnaan Giemsa 20% kemudian dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 1000 eritrosit normal di bawah mikroskop untuk menentukan persen pertumbuhan dan persen penghambatan. Berdasarkan data persen penghambatan dilakukan analisis statistik dengan analisis probit program SPSS versi 20 untuk mengetahui nilai IC_{50} . Konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}) didefinisikan sebagai konsentrasi bahan uji yang dapat menghambat parasit sebanyak 50% yang dibandingkan dengan kontrol positif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dapat disintesis pada kondisi optimum melalui reaksi kondensasi Claisen-schmidt serta berapa persentase rendemen hasil sintesis?
2. Apakah senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton memiliki aktivitas antimalaria dengan metode uji mikroskopis pewarnaan Giemsa dan berapa nilai IC_{50} ?

3. Bagaimana aktivitas antimalaria senyawa 2,2-diklorodibenzalaseton dibandingkan dengan senyawa dibenzalaseton ditinjau dari IC_{50} ?
4. Bagaimana aktivitas antimalaria senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dibandingkan dengan klorokuin ditinjau dari nilai IC_{50} ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan kondisi optimum sintesis senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton melalui reaksi kondensasi Claisen-schmidt serta persentase rendemen hasil sintesis.
2. Menentukan aktivitas antimalaria dari senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dengan metode uji mikroskopis pewarnaan Giemsa beserta nilai IC_{50} .
3. Membandingkan aktivitas antimalaria antara senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dengan dibenzalaseton ditinjau dari nilai IC_{50} .
4. Membandingkan aktivitas antimalaria antara senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dengan klorokuin ditinjau dari nilai IC_{50} .

1.4 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan masalah di atas, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dapat disintesis melalui reaksi kondensasi Claisen-schmidt.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang penelitian sintesis senyawa 2,2'-diklorodibenzalaseton dan aktivitasnya terhadap parasit *P. falciparum* sehingga dapat digunakan dalam pengembangan pengobatan malaria di Indonesia.