

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Malaria merupakan salah satu penyakit yang dapat mengancam kehidupan yang disebabkan oleh parasit dan ditularkan melalui gigitan nyamuk betina *Anopheles*. Menurut WHO (*World Health Organization*) pada tahun 2019 terdapat 229.000.000 kasus malaria yang berujung pada 409.000 kematian. Etiologi malaria disebabkan karena infeksi dari parasit *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, atau *P. ovale*) yang dibawa oleh nyamuk betina *Anopheles* dan eritrosit dari protozoa parasit tersebut akan menyerang tubuh inang. Inkubasi dari parasit bervariasi mulai dari 7-30 hari, dimana singkatnya waktu inkubasi diduga *P. falciparum*, bila semakin panjang diduga *P. malariae* (CDC, 2020). Gejala awal dari infeksi malaria umumnya identik dengan infeksi virus pada umumnya seperti demam, sakit kepala, mual, hingga gagal ginjal akut (Andromeda *et al.*, 2020).

Obat-obatan tradisional memegang peranan penting dalam proses pengobatan malaria, hal ini dikarenakan mudahnya dalam pengembangan hingga mudah didapatnya. Sebanyak 67% obat antimalaria di pasaran merupakan pengembangan dari bahan alam seperti kandungan artemisinin dari *Artemisia annua* dan kuinin dari *Cinchona officinalis*. Meskipun efektif dalam mengobati malaria, artemisinin dan derivat lainnya memiliki keterbatasan pada waktu paruh yang rendah, harga yang tidak murah, dan kurang aman untuk pasien hamil (Suresh dan Halder, 2018). Pengobatan malaria dibedakan menjadi 3, yakni sebagai profilaksis, pengobatan parasit *P. falciparum*, dan pengobatan parasit non-falciparum. Beberapa obat yang umum digunakan sebagai agen antimalaria adalah golongan kuinolin (kloro-

kuin, kuinin, primaquine), antifolate (pyrimethamine, proguanil, dan sulfadoksin), turunan artemisinin, dan hidroksinaftakuinon (atovakuin) (Saifi *et al.*, 2013).

Resistensi antimalaria oleh WHO (*World Health Organization*) didefinisikan sebagai kemampuan parasit untuk bertahan hidup atau berkembang biak setelah pemberian dan absorpsi dari obat antimalaria pada dosis yang direkomendasikan atau lebih tinggi. Pada zaman ini, antimalaria resisten bukanlah hal yang jarang. Resistensi terhadap pengobatan tersebut dapat disebabkan karena adanya perubahan struktur, fungsi, dan kuantitas dari protein yang memediasi perubahan genetik parasit *Plasmodium* (Shibeshi *et al.*, 2020). Faktanya kasus antimalaria resisten ditemukan pertama kali pada tahun 1979 di daerah Afrika dan Asia Tenggara terhadap klorokuin. Pada tahun 1946, klorokuin merupakan sintesis 4-aminokuinolin dengan gugus Cl (kloro) sebagai gugus aktif dan ditetapkan sebagai agen antimalarial atau *drug of choice* untuk terapi antimalaria (Saifi *et al.*, 2011). Hingga pada tahun 1985, terjadi peningkatan resistensi parasit terhadap klorokuin (*CQR/Chloroquin resistance*) pada Asia Tenggara dan Amerika Selatan yang menyebar ke seluruh daerah rawan malaria (Sidhu *et al.*, 2002). Peningkatan kasus resistensi obat antimalaria tersebut merupakan salah satu tantangan efektivitas dan efikasi dari pengobatan antimalaria.

Kurkumin yang merupakan polifenol hidrofobik berwarna kekuningan yang berasal dari tanaman *Curcuma longa* L. yang memiliki aktivitas farmakologi cukup luas (Anand, P *et al.*, 2008). Aktivitas farmakologi dari kurkumin berupa antiinflamasi, antioksidan, antiapoptosis, efek modulasi angiogenesis, hepatoprotektif, nefroprotektif, aktif melindungi MI (*myocardial infraction*), hingga antirematik (Gupta *et al.*, 2017). Akhir-akhir ini telah dikembangkan penggunaan kurkumin sebagai antimalaria,

dimana hal ini didukung dari literatur Mishra *et al* (2007) yang mengatakan bahwa kurkumin ampuh pada klorokuin *susceptible* (CQ-S) dan klorokuin *resistant* (CQ-R) *Plasmodium falciparum*. Selain itu, peneliti terdahulu Andromeda *et al* (2020) melaporkan aktivitas kurkumin sebagai antimalaria bekerja dengan berbagai mekanisme mulai dari meningkatkan sistem imun adaptif, agen antiapoptosis sel parasit, hingga destruksi mikrotubulus seluler dari *Plasmodium sp.* Didukung dari penelitian Reddy *et al* (2005) bahwa kurkumin efektif sebagai antimalaria bila diberikan 48 jam setelah pasien terinfeksi, dimana dilaporkan bahwa IC<sub>50</sub> dari kurkumin adalah 5 µM yang bekerja pada mikrotubulus dengan cara menghambat SERCA (*sarcoplasmic-endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase*) dari parasit (Andromeda *et al.*, 2020, Reddy *et al.*, 2005, dan Chakrabarti *et al.*, 2012).

Menurut beberapa studi, kurkumin memiliki tingkat keamanan yang tinggi meskipun digunakan pada dosis yang tinggi dengan subjek penelitian hewan ataupun manusia. Meskipun memiliki efikasi dan keamanan kurkumin yang baik, kurkumin memiliki *uptake* seluler yang rendah dan bioavailabilitas yang buruk yang disebabkan karena kelarutannya yang rendah (Bukhari *et al.*, 2013 dan Chauhan *et al.*, 2018). Menurut studi Bukhari (2013) aktivitas biologis dari kurkumin dipengaruhi tidak hanya oleh gugus fenol, melainkan juga dari β-diketon, beberapa studi melakukan modifikasi terhadap struktur kurkumin dengan mempertahankan salah satu gugus-gugus penting tersebut. Salah satu studi mengatakan bahwa mengubah gugus β-diketon dari kurkumin memperbaiki stabilitas, kemampuan antioksidan, penetrasi sel, hingga memperbaiki profil bioavailabilitasnya. Hal ini dikarenakan β-diketon bersifat tidak stabil dan dapat termetabolisme oleh enzim aldo-keto reduktase pada liver sehingga mengurangi efektivitas aktivitas dari kurkumin.

Sintesis kimia merupakan proses mereaksikan dua atau lebih senyawa untuk memperoleh suatu produk, dimana proses ini akan melibatkan satu atau lebih reagen atau reaktan yang berfungsi untuk diperolehnya kondisi tertentu dan diperoleh produk yang diinginkan. Sintesis organik merupakan proses pembentukan ikatan karbon-karbon dengan penerapan dasar kimia antara dua unit molekuler atau ionik (sinton) (Fuhrhop dan Li, 2003).

Dibenzalaseton (1,5-difenil-1,4-pentadien-3-on) merupakan sintesis analog monoketon dari kurkumin. Sintesis dibenzalaseton merupakan sintesis Mn kondisi basa. Studi melaporkan bahwa sintesis turunan dibenzalaseton dapat dilakukan dengan beberapa metode, seperti konvensional (pengadukan), reaksi bebas solven, *ultrasonic-assisted*, dan *microwave-assisted* (MWI). Metode konvensional bukanlah metode yang efisien dari segi rendemen maupun waktu, hal ini didukung dari peneliti terdahulu oleh Handayani (2011) yang melaporkan bahwa sintesis vanillaseton (turunan dibenzalaseton) dengan metode konvensional dilakukan selama 3 jam pengadukan menghasilkan rendemen 13-94%, sedangkan metode bebas solven juga diperlukan waktu 2-8 jam (Salehi *et al.*, 2002), dan metode *ultrasonic-assisted* memerlukan waktu 1,5jam (Guofeng *et al.*, 2004). Sedangkan menurut penelitian terdahulu oleh Kurnianingtyas (2019), sintesis senyawa dibenzalaseton dapat dilakukan dengan metode MWI (*Microwave Irridiation*) selama 1 menit dengan daya 160Watt diperoleh rendemen sebanyak 90,54%. Metode MWI merupakan metode dengan efektivitas dan efisiensi yang lebih baik dari segi waktu, rendemen, maupun *eco-friendly*, hal ini dilaporkan juga oleh peneliti terdahulu Handayani (2017), dimana sintesis dengan MWI selama 2 menit memiliki rendemen yang sama baiknya dengan metode konvensional 30 menit dari segi rendemen (>90%).

Dibenzalaseton dapat digunakan sebagai alternatif dari kurkumin, dimana pernyataan ini didukung oleh studi yang dilakukan Chauhan (2018) yang mengatakan bahwa dibenzalaseton sebagai analog kurkumin memiliki stabilitas, kapasitas antioksidan, penetrasi sel, dan bioavailabilitas yang lebih baik dan pada studi Chauhan (2011) bahwa dibenzalaseton memiliki aktivitas antiparasit *Leishmania donovani* melalui efek antiproliferatif terhadap parasit dan menginduksi apoptosis sel dengan cara mengubah struktur dan fisiologis mitokondrial sel parasit tersebut. Dibenzalaseton sebagai alternatif kurkumin diperkuat melalui data peneliti terdahulu oleh Franco *et al.* (2012) yang melaporkan aktivitas dibenzalaseton terhadap *Plasmodium falciparum* strain K1 memiliki nilai  $IC_{50}$  32 $\mu$ M.

Untuk mengembangkan agen antimalaria sebagai alternatif yang lebih baik dari kurkumin, dilakukan penelitian mengenai turunan/analog dari kurkumin dan pengaruh penambahan substituent terhadap analog tersebut. 4,4'-diklorodibenzalaseton adalah derivat dari dibenzalaseton dengan penambahan gugus -Cl sebagai gugus aktifnya (Aher *et al.*, 2011). Penambahan dan posisi gugus -Cl dari derivat dibenzalaseton hipotesanya akan mempengaruhi aktivitas antimalaria senyawa tersebut, karena posisi dari gugus mempengaruhi ikatan senyawa dengan protein target (Feroprotoporfirin IX/Heme) yang berdampak pada terjadi atau tidaknya oksidasi Feroprotoporifirin IX menjadi Feriprotorporfirin IX yang dapat didigesti oleh parasit.

Pengujian aktivitas antimalaria dapat dilakukan dengan metode *in vivo* maupun *in vitro*. Metode *in vitro* memiliki sensitivitas yang tinggi karena langsung dilakukan pemantauan sel darah merah yang terinfeksi dan memberikan hasil kuantitatif berupa persentase penghambatan (Basco, 2007 dan Maji, 2018). Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas

antimalaria secara *in vitro* metode mikroskopis pewarnaan Giemsa. Menurut WHO, metode tersebut merupakan *gold standard* karena ekonomis, sensitif, dan memiliki reproduibilitas yang baik (Wongsrichanalai *et al.*, 2007). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan DMSO 1% sebagai kontrol negatif dan klorokuin sebagai kontrol positif. Aktivitas senyawa diujikan terhadap *Plasmodium falciparum* karena menurut WHO pada tahun 2018, sebanyak 99,7% kasus di wilayah Afrika, 50% kasus di wilayah Asia Tenggara, 71% kasus di Mediterania Timur, dan 65% kasus di Pasifik Barat disebabkan oleh *P. falciparum*. Selain itu kasus resistensi malaria khususnya parasit *P. falciparum* terhadap obat antimalaria merupakan salah satu penyebab meningkatnya mortalitas (Mohamed *et al.*, 2014). Kultur parasit tersebut akan ditumbuhkan dalam plat dan dibuat dalam bentuk lapisan tipis darah dan ditetesi pewarna Giemsa. Aktivitas dari senyawa dihitung berdasarkan persen pengambatan yang dianalisis probit dengan program SPSS untuk mengetahui nilai IC<sub>50</sub> (konsentrasi sample yang dibutuhkan untuk menghambat 50% pertumbuhan parasit). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antimalaria dari 1,5-difenil-1,4-pentadien-3-on (dibenzalaseton, DBA) yang merupakan sintesis analog monoketon dari kurkumin, dan menentukan pengaruh penambahan substituen pada senyawa tersebut terhadap aktivitasnya sebagai antimalaria.

## **1.2. Rumusan Masalah Penelitian**

Perumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Bagaimana pengaruh gugus 4-kloro pada sintesis senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton ditinjau dari kondisi optimum melalui reaksi kondensasi *Claisen Schmidt*?

2. Apakah senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton memiliki aktivitas antimalaria berdasarkan metode uji mikroskopis pewarnaan Giemsa 20%?
3. Bagaimana pengaruh substituen 4-kloro pada 4,4'-diklorodibenzalaseton sebagai antimalaria bila dibandingkan dibenzalaseton berdasarkan nilai  $IC_{50}$ ?
4. Bagaimana efektivitas antimalaria senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton dibandingkan Klorokuin berdasarkan nilai  $IC_{50}$ ?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Menentukan kondisi optimum sintesis senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton melalui reaksi kondensasi *Claisen Schmidt*
2. Menentukan aktivitas antimalaria dari senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton berdasarkan metode uji mikroskopis pewarnaan Giemsa 20%
3. Membandingkan nilai  $IC_{50}$  dari senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton dan meninjau efektivitasnya sebagai antimalaria dibandingkan dibenzalaseton
4. Membandingkan nilai  $IC_{50}$  dari senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton dan meninjau efektivitasnya sebagai antimalaria dibandingkan klorokuin

#### **1.4. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Dapat menentukan kondisi optimum sintesis senyawa 4,4'-diklorodibenzalaseton melalui reaksi kondensasi *Claisen Schmidt*

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini diperuntukkan kepada :

1. Penulis  
Untuk menerapkan ilmu yang telah diperoleh selama masa perkuliahan dan untuk melatih penulis dalam menganalisis permasalahan dan mencari penyelesaiannya.
2. Pembaca  
Untuk menambah wawasan dan pengetahuan atau sebagai pembanding dan sumber acuan pada bidang kajian yang sama