

POTENSI AKTIVITAS ANTIMALARIA DARI EKSTRAK AIR DAUN JUNG RAHAB (*BAECKEA FRUTECENS*)

(Potency of Antimalarial Activity from Aqueous Extract of Jung Rahab Leaves (*Baekkea frutecens*))

Yatri Hapsari¹, Eris Septiana¹, Fauzy Rachman¹, Syamsiah², Wien Kusharyoto¹, Leny Heliawati², Bustanussalam¹, Siti Irma Rahmawati¹, Fauzia Nurul Izzati¹, Partomuan Simanjuntak³

¹Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Bogor, Jawa Barat, 16911

²Universitas Pakuan, Jalan Pakuan No. 1, Ciheuleut, Bogor, Jawa Barat, 16143

³Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Serpong, Tangerang, 15314

e-mail: hapsariyatri@gmail.com

Diterima 05 Juni 2021, Revisi akhir 23 Desember 2021, Disetujui 24 Desember 2021

ABSTRAK. Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang ditransmisikan oleh nyamuk *Anopheles betina*. Daun jung rahab (*Baekkea frutecens*) diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Akan tetapi, mekanisme penghambatan pertumbuhan parasit tanaman ini masih belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mencari fraksi lain dari ekstrak air daun jung rahab yang mengandung senyawa antimalaria dengan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi. Ekstraksi daun jung rahab dilakukan dengan metode dekoktasi, sedangkan analisis yang dilakukan adalah skrining fitokimia, fraksinasi menggunakan kromatografi kolom, uji aktivitas antimalaria, dan identifikasi senyawa hasil fraksinasi dengan UV-Vis, FT-IR, dan GCMS. Berdasarkan hasil penelitian ini, fraksi ekstrak air daun jung rahab memiliki aktivitas antimalaria potensial dengan nilai IC₅₀ sebesar 105,9 ppm dan hasil fraksinasi senyawa berdasarkan UV-Vis, FT-IR, dan GCMS sebagai pirogalol.

Kata kunci: antimalaria, β -hematin, *Baekkea frutecens*, ekstraksi, IC₅₀

ABSTRACT. Malaria is a disease caused by *Plasmodium* parasite transmitted by female *Anopheles* mosquito. Jung rahab plant (*Baekkea frutecens*) is known have an ability to inhibit the growth of *Plasmodium falciparum*. However, the inhibition of the parasite growth is still unknown. This research aimed to determine fractionation of aqueous extract of jung rahab leaves that is contain antimalaria compound with a potential inhibition activity. Jung rahab plant was extracted using decoction. The analysis included phytochemical screening, column chromatography fractionation, antimalaria activity, and compound identification by using UV-Vis, FT-IR, and GCMS. Jung rahab aqueous extract fraction resulted a potential antimalaria activity with IC₅₀ 105,9 ppm and fractionation result based on UV-Vis, FT-IR, and GCMS as pyrogallol.

Keywords: antimalarial, β -hematin, *Baekkea frutecens*, extraction, IC₅₀

1. PENDAHULUAN

Kadar lipid darah dapat menjadi suatu parameter terjadinya penyakit jantung dan kardiovaskular (PJK). Sejak usia anak-anak, parameter tersebut dapat menjadi suatu ukuran yang dapat digunakan untuk melacak faktor resiko terjadinya penyakit kardiovaskular seperti aterosklerosis. Oleh karenanya asupan yang baik

dari usia anak-anak akan mempengaruhi kebiasaan mengonsumsi makanan sehat dan dapat mencegah terjadinya PJK (Wong *et al.*, 2019). Penyakit tidak menular ini tidak hanya terjadi di negara berkembang saja, tetapi banyak juga terjadi di negara maju seperti Amerika Serikat (USA). Data menunjukkan bahwa sebanyak 121 juta (48%)

warga USA yang berusia di atas 20 tahun pada periode 2013-2016 menderita PJK. Selain itu, sebanyak 92,8 juta (38,2%) warga USA yang berusia di atas 20 tahun pada periode yang sama memiliki kadar kolesterol total ≥ 200 mg/dl (Virani *et al.*, 2020). Sementara itu, prevalensi PJK di Indonesia yang terdiagnosis oleh dokter adalah 3 juta (1,5%) (Riskesmas, 2018). Salah satu cara untuk mencegah terjadinya PJK adalah menjaga kadar kolesterol darah dalam batas normal. Selain dengan makan makanan yang rendah kolesterol, saat ini banyak pangan fungsional yang dapat menjaga kadar kolesterol darah. Salah satunya adalah produk makanan fermentasi.

Fermentasi merupakan suatu proses bioteknologi yang sudah lama dikenal oleh manusia. Proses tersebut dapat memberikan cita rasa tersendiri bagi makanan. Saat ini banyak beredar di masyarakat minuman hasil fermentasi yang memiliki fungsi kesehatan. Pada umumnya, bakteri yang digunakan untuk fermentasi pada makanan adalah bakteri asam laktat (BAL). Metabolit yang dihasilkan dari proses fermentasi bakteri tersebut relatif aman bagi manusia sehingga dapat digunakan sebagai agen probiotik (Stanbury *et al.*, 2013). Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk menjadi pangan fungsional menjaga kadar kolesterol darah adalah umbi dari tanaman garut (*Maranta arundinacea* Linn). Tanaman tersebut merupakan tanaman daerah tropis dan bagian yang dapat dikonsumsi adalah bagian umbinya yang banyak mengandung karbohidrat. Tanaman ini merupakan pangan lokal bagi masyarakat Indonesia. Daun dan umbi garut memiliki aktivitas antioksidan dan mengandung senyawa fenol (Kusbandari dan Susanti, 2017). Selain itu, umbi tanaman garut mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, terpenoid, dan saponin (Jayakumar dan Suganthi, 2017). Pemberian flavonoid pada hamster sebagai hewan coba telah terbukti dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Efek lainnya dapat meningkatkan absorpsi kolesterol tanpa mengganggu proses biosintesis kolesterol (Thilakarathna *et al.*, 2012).

Penurunan kolesterol darah juga dapat terjadi akibat dari BAL. Kolesterol merupakan prekursor pada biosintesis garam empedu. Terdapatnya BAL akan meningkatkan sekresi enzim hidrolase garam empedu sehingga terjadi dekonjugasi asam empedu. Akibatnya, molekul tersebut tidak dapat direabsorpsi dan hal tersebut akan meningkatkan biosintesis garam empedu serta peningkatan penggunaan kolesterol pada proses biosintesis tersebut (Naim, 2011). Malaria adalah penyakit

yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus *Plasmodium*, yang dapat ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Penyakit ini merupakan penyakit infeksi yang sampai saat ini tersebar hampir di seluruh dunia yang disebabkan oleh lima spesies parasit *Plasmodium sp.* Di antara spesies tersebut, *P. falciparum* merupakan parasit yang paling berbahaya dan mendominasi di Afrika (WHO, 2012) Diperkirakan terdapat 212 juta kasus malaria yang telah dilaporkan dari seluruh dunia dengan angka kematian per tahunnya sekitar 429 ribu orang yang didominasi oleh balita di wilayah Afrika (WHO, 2016). Kasus malaria di Indonesia cenderung mengalami penurunan setiap tahunnya. Pada tahun 2018, prevalensi kasus malaria di Indonesia sebesar 0,4% atau sekitar 1 juta penduduk, menurun dibandingkan dengan data tahun 2013 yaitu sebesar 1,4% atau hampir 3,5 juta penduduk (Kemenkes, 2018; Statistik, 2013). Namun, ternyata kasus malaria di wilayah timur Indonesia masih tinggi dan membutuhkan perhatian.

Berbagai upaya pemberantasan malaria telah dilakukan tetapi prevalensinya masih tetap tinggi. Hal ini disebabkan adanya berbagai hambatan dalam pemberantasan malaria di antaranya resistensi terhadap obat antimalaria (Fitrianiingsih, 2010). Resistensi inilah yang mendorong penelitian untuk mencari antimalaria baru dengan dilakukannya eksplorasi tanaman yang memiliki aktivitas antiplasmodial (Murningsih, 2009; Muti'ah, 2012). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antiplasmodial dan sudah banyak digunakan sebagai obat adalah tanaman daun jung rahab (*Baeckea frutescens* L.). Daun jung rahab telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit malaria. Hal ini diperkuat data ilmiah bahwa ekstrak daun jung rahab mampu menghambat pertumbuhan parasit penyebab malaria. Ekstrak air daun jung rahab mampu menghambat pertumbuhan parasit *P. falciparum* sebesar 89,6% dan termasuk ke dalam kategori kuat (Murningsih, 2009), sehingga daun jung rahab memiliki potensi sebagai obat antimalaria.

Setelah masuk ke dalam aliran darah lewat gigitan nyamuk, parasit *Plasmodium* akan menyerang sel darah merah inangnya. Untuk mendapatkan nutrisi bagi pertumbuhannya, parasit akan mendegradasi hemoglobin menjadi senyawa yang lebih sederhana. Proses pemecahan hemoglobin menjadi senyawa yang lebih sederhana akan menghasilkan produk samping yaitu hem bebas yang toksik terhadap parasit maupun

inangnya. Untuk mengatasi hal tersebut, parasit akan mengubah hem bebas menjadi hemozoin melalui proses polimerisasi hem guna menghilangkan toksisitas hem bebas yang terbentuk (Huy *et al.*, 2007). Perubahan hem menjadi hemozoin ini merupakan proses metabolisme yang sangat penting bagi parasit (Nagaraj *et al.*, 2013). Penghambatan pada proses polimerisasi hem akan menyebabkan parasit kekurangan nutrisi dan akhirnya mati. Oleh karena itu, penghambatan proses polimerisasi hem dapat dijadikan target kandidat obat antimalaria baru. Metode ini relatif mudah dilakukan dan memberikan hasil yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Saritha *et al.*, 2015).

Penelitian terbaru tentang antimalaria dengan menghambat polimerisasi hem menyatakan bahwa ekstrak air daun jung rahab memiliki aktivitas penghambatan pembentukan β -hematin dengan nilai IC_{50} sebesar 827,20 ppm dan nilai IC_{50} kontrol positif sebesar 156,77 ppm. Hasil interpretasi FT-IR dan KG-SM isolat fraksi A.3.3 diduga bahwa senyawa dalam ekstrak air daun jung rahab yang berperan dalam aktivitas antimalaria adalah senyawa *caryophyllene* (Hapsari *et al.*, 2019). Nilai penghambatan fraksi dari ekstrak air daun jung rahab yang telah dilaporkan sebelumnya masih memiliki aktivitas penghambatan pembentukan β -hematin yang masih lemah. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mencari fraksi lain dari ekstrak air daun jung rahab yang mengandung senyawa antimalaria dengan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI. Percobaan meliputi ekstraksi daun jung rahab (*Baekkea frutescens* L.) dengan metode dekoktasi (Muntadiroh, 2019) dari CV. Bina Agro Mandiri, Bantul, Yogyakarta, skrining fitokimia ekstrak, uji *in vitro* antimalaria dengan metode penghambatan polimerisasi hem, serta identifikasi senyawa aktif penghambat polimerisasi hem.

Ekstraksi Daun Jung Rahab

Sebelum diekstrak, sampel tanaman dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Puslit Biologi, LIPI. Daun jung rahab dibersihkan, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan. Sebanyak 200 g simplisia diekstraksi dengan menggunakan metode dekoktasi menggunakan 300 ml pelarut air selama 1 jam dan diulang hingga 5 kali proses ekstraksi. Hasil dekok kemudian disaring dan filtrat

air diuapkan menggunakan *waterbath* sampai terbentuk ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Ekstrak air daun jung rahab yang sudah dipekatkan diuji penapisan fitokimia secara kualitatif (Agustikawati *et al.*, 2017). Uji fitokimia ini berdasarkan identifikasi warna dan endapan yang terbentuk, uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid-steroid, saponin, kuinon, fenolik, dan kumarin.

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif

Isolasi dan pemurnian dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya (Hapsari *et al.*, 2019) dan panduan uji penghambatan polimerisasi hem terhadap hasil fraksinasi kromatografi kolom pertama (SiO_2 ; CH_2Cl_2 -MeOH = 10:1, 5:1, 3:1, dan 1:1) dengan fraksi hasil kolom pertama disebut dengan A.1 sesuai banyaknya fraksi, kolom kedua melanjutkan fraksi ke 4 (A.4)(SiO_2 ; CH_2Cl_2 -MeOH = 5:1, 3:1, dan 1:1) dimana hasil fraksinasi disebut dengan A.4.1.1 – A.4.n, kolom ketiga melanjutkan fraksinasi fraksi A.4.2 (SiO_2 ; CH_2Cl_2 -MeOH = 10:1) fraksinya disebut dengan A.4.2.1-A.4.2.n hingga diperoleh isolat murni. Isolat murni yang diperoleh kemudian dianalisis ikatan rangkap terkonjugasi dengan spektrofotometri UV-Vis UV 2450 Shimadzu, analisa gugus fungsional dengan FT-IR Shimadzu 8400S, dan analisa kandungan senyawa dengan GC-MS Shimadzu GC-2010 Plus Series.

Uji Aktivitas Antimalaria

Uji aktivitas antimalaria berdasarkan pada metode polimerisasi hem (Huy *et al.*, 2007) yang dimodifikasi. Sebanyak 16,3 mg hemin klorida dilarutkan dalam 1 mL dimetil sulfoksida (DMSO) kemudian disaring dengan membran filter berdiameter 0,2 μ m. Sebanyak 22,2 μ L larutan hemin klorida dalam DMSO dilarutkan dengan buffer asetat 1 M (pH 4,8) sampai 5 mL. Larutan ini dipakai sebagai hemin uji. Sebanyak 20 μ L larutan bahan uji berupa ekstrak maupun fraksi serta klorokuin sulfat sebagai kontrol positif dengan masing-masing konsentrasi akhir dalam campuran sebesar 50, 100, 150, 200, dan 250 $mg.L^{-1}$ dimasukkan ke dalam *plate* 96 sumuran yang berbeda antara bahan uji dan kontrol positif. Selanjutnya ditambahkan sebanyak masing-masing 90 μ L larutan hemin uji dan reaksi polimerisasi hem dimulai dengan menambahkan larutan Tween-20 (konsentrasi akhir 20 $mg.L^{-1}$). *Plate* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 180 menit untuk

selanjutnya dibaca serapannya pada panjang gelombang 405 dan 620 nm menggunakan *microplate reader*. Fraksi hem yang diubah menjadi β -hematin dihitung berdasarkan persamaan:

$$f = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}) / (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{min}}) \dots (1)$$

Keterangan:

A_{kontrol} = serapan hem tanpa Tween-20 atau bahan uji

A_{sampel} = serapan hem dengan penambahan Tween-20 dan bahan uji

A_{min} = serapan hem dengan penambahan Tween-20 tanpa bahan uji.

Persentase penghambatan pembentukan β -hematin oleh bahan uji (ekstrak air dan fraksi) daun jung rahab ataupun kontrol positif klorokuin sulfat dihitung berdasarkan persamaan:

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

Keterangan:

f = fraksi perubahan hem menjadi β -hematin

Nilai IC_{50} (kadar senyawa yang mampu menghambat polimerisasi hem hingga 50%) bahan uji berupa ekstrak air dan fraksi serta kontrol positif klorokuin sulfat kemudian dihitung menggunakan analisis regresi linier.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi simplisia menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan adalah jung rahab, (*Baekkea frutescens* L.) dari suku Myrtaceae. Rendemen ekstraksi diperoleh ekstrak kental air sebanyak 35,81 g (17,91 %). Ekstraksi simplisia dengan cara panas menggunakan pelarut air dilakukan berdasarkan cara masyarakat dalam memanfaatkan daun tanaman jung rahab sebagai obat tradisional.

Pada hasil penapisan fitokimia didapatkan hasil bahwa ekstrak air daun jung rahab mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, dan tanin (Tabel 1). Senyawa-senyawa yang didapatkan bersifat polar, sebab pada saat pembuatan ekstrak menggunakan pelarut air yang bersifat polar. Jenis pelarut pengekstraksi mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Zhang *et al.*, 2018)

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia

No.	Senyawa yang dideteksi	Hasil
1	Flavonoid	+
2	Alkaloid	-
3	Tannin	+
4	Saponin	+
5	Steroid/triterpenoid	-
6	Kumarin	-
7	Kuinon	-
8	Fenolik	-

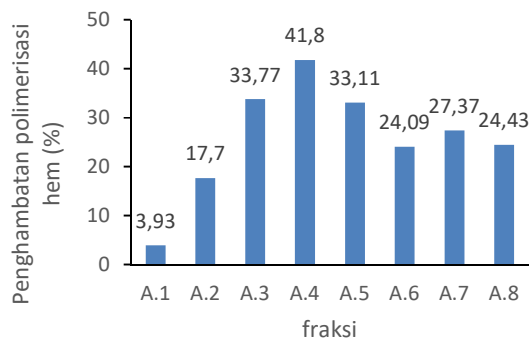
Hasil pengujian penghambatan polimerisasi hem ekstrak air daun jung rahab menunjukkan bahwa ekstrak memiliki kemampuan dalam menghambat polimerisasi hem dengan nilai IC_{50} sebesar 227,05 ppm sementara klorokuin sulfat sebagai kontrol positif memiliki nilai IC_{50} sebesar 194,21 ppm (Tabel 2). Parasit *Plasmodium* akan memecah hemoglobin menjadi hem dan globin menjadi asam-asam amino sebagai sumber nutrisi parasit. Proses pemecahan hemoglobin menjadi asam amino menghasilkan produk samping berupa hem bebas yang bersifat racun bagi parasit (Huy *et al.*, 2007). Untuk menghindari efek racun dari hem bebas, parasit akan mengubahnya menjadi hemozoin melalui proses polimerisasi. Pengujian penghambatan polimerisasi hem secara *in vitro* merupakan salah satu metode untuk mengetahui mekanisme kerja antimalaria. Pada penelitian ini klorokuin digunakan sebagai kontrol positif dikarenakan mekanisme klorokuin sebagai obat antimalaria juga melalui penghambatan polimerisasi hem (Huy *et al.*, 2007)

Tabel 2. Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Ekstrak Air Daun Jung Rahab

Bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Penghambatan (%)	IC_{50} (ppm)
Ekstrak air daun jung rahab	50	25,06	227,05
	100	37,03	
	150	40,56	
	200	44,16	
	250	53,86	
Klorokuin sulfat	50	26,99	194,21
	100	29,85	
	150	43,03	
	200	49,63	
	250	61,82	

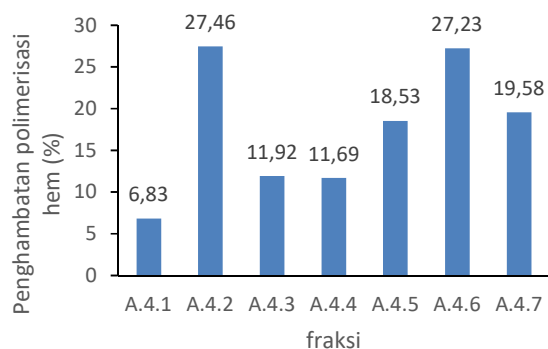
Kromatografi kolom pertama secara gradien menggunakan diklorometan:metanol mulai

10:1 sampai 1:1 hingga diperoleh 8 fraksi (A.1-8). Masing-masing fraksi yang diperoleh diuji aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan menggunakan konsentrasi 100 ppm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi A.4 (fraksi ke 4) memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem paling tinggi sebesar 41,8% (Gambar 1).



Gambar 1. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi hasil kolom pertama ekstrak air daun junghabah

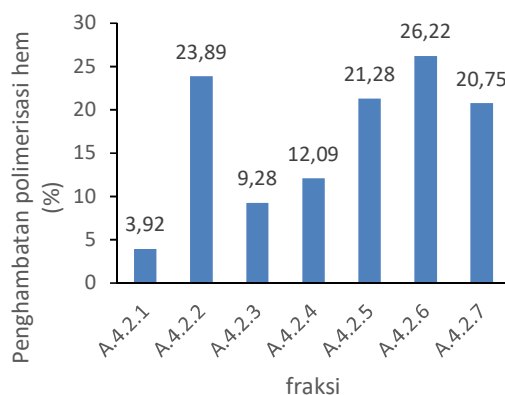
Selanjutnya, fraksi A.4 dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi kolom kedua secara gradien menggunakan diklorometan:metanol mulai 5:1 sampai 1:1 hingga diperoleh 7 fraksi (A.4.1-A.4.1.7). Masing-masing fraksi yang diperoleh diuji aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan menggunakan konsentrasi 100 ppm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi A.4.2 memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem paling tinggi sebesar 27,46% (Gambar 2).



Gambar 2. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi hasil kolom kedua ekstrak air daun junghabah

Pada analisis KLT fraksi A.4.2 masih belum diperoleh pola bercak yang baik, oleh karena itu dilanjutkan dengan kromatografi kolom ketiga. Kromatografi kolom ketiga secara isokratik

menggunakan diklorometan:metanol 10:1 hingga diperoleh 7 fraksi (A.4.2.1-8). Masing-masing fraksi yang diperoleh diuji aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan menggunakan konsentrasi 100 ppm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi A.4.2.6 memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem paling tinggi sebesar 26,2% (Gambar 3).



Gambar 3. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi hasil kolom ketiga ekstrak air daun junghabah

Akan tetapi, karena fraksi A.4.2.6 memunculkan pola bercak yang masih belum terpisah secara baik, maka untuk identifikasi senyawa digunakan fraksi A.4.2.2 dengan aktivitas penghambatan polimerisasi hem tertinggi kedua (23,89 %). Fraksi A.4.2.2 dilakukan pemurnian kembali dengan kromatografi lapis tipis preparatif karena bercak yang terbentuk pada kromatogram masih lebih dari satu bercak. Fase gerak yang digunakan adalah diklorometan-metanol (4:1). Kemudian dilakukan analisis terhadap hasil kromatogram dimana diperoleh pita. Fraksi A.4.2.2 dan pita hasil KLT preparatif memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem masing-masing sebesar 105,49 dan 174,16 ppm (Tabel 3). Fraksi A.4.2.2 dan pita hasil preparatif (diduga *pyrogallol*) pada penelitian ini memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh (Hapsari *et al.*, 2019). Laporan tersebut menyatakan bahwa senyawa yang diduga kariofilen asal ekstrak air daun junghabah memiliki nilai IC_{50} sebesar 872,2 ppm.

Efek sinergisme dan antagonisme dapat terjadi pada senyawa yang mengalami proses pemurnian, yaitu senyawa-senyawa yang apabila bergabung akan meningkatkan aktivitas biologis dibandingkan ketika dipisahkan ataupun sebaliknya

Tabel 3. Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Fraksi Teraktif Hasil Kolom Ketiga Ekstrak Air Daun Jung Rahab dan Pita Hasil Klt Preparatif

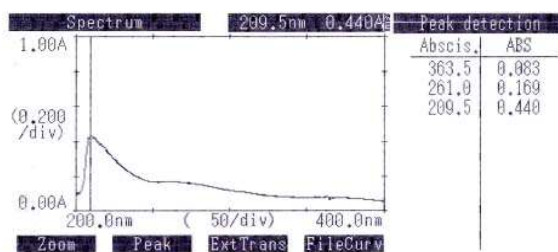
Bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Penghambatan (%)	IC ₅₀ (ppm)
Fraksi A.4.2.2	50	39,93	105,49
	100	48,61	
	150	59,95	
	200	66,72	
	250	69,33	
Pita KLT Preparatif	50	28,45	174,16
	100	41,86	
	150	45,79	
	200	55,65	
	250	60,25	

(Caesar & Cech, 2019). Efek sinergisme terlihat pada persen penghambatan fraksi hasil kromatografi kolom pertama A.4 hingga fraksi hasil kromatografi kolom ketiga A.4.2.2 serta nilai IC₅₀ antara fraksi A.4.2.2 dan pita hasil KLT preparatif dimana aktivitas penghambatan polimerisasi hem mengalami penurunan setelah pemisahan. Efek antagonisme terjadi pada ekstrak air daun jung rahab dibandingkan senyawa yang lebih murni yaitu pita hasil KLT preparatif dimana aktivitas penghambatan polimerisasi hem mengalami peningkatan.

Identifikasi Senyawa Kimia Berdasarkan Interpretasi Data UV-Vis, FT-IR dan GC-MS

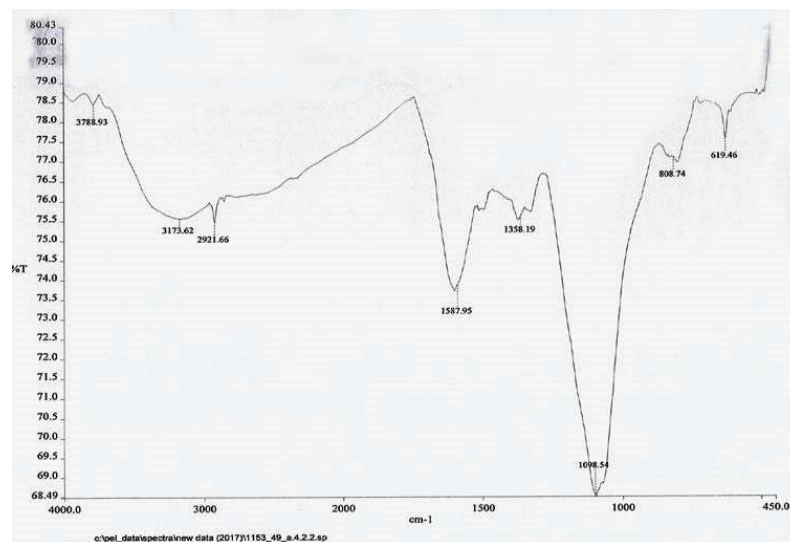
Berdasarkan data-data yang diperoleh dari ketiga instrument tersebut, dapat diduga bahwa

senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antimalaria dari ekstrak air daun jung rahab (*Baekkea frutescens* L.) adalah *pyrogallol*. Hal ini diperkuat dari data UV-Vis bahwa senyawa yang dianalisis memiliki ikatan rangkap terkonjugasi seperti pada Gambar 4, menunjukkan nilai panjang gelombang diatas 200 nm disebabkan adanya ttransisi electron dari π,π^* . Berdasarkan hasil FT-IR gugus fungsi yang terdeteksi munculnya OH, C-H (Alkana), C=C (Cincin aromatik), C-O (Alkohol), C=C (Alkena) seperti yang terlihat pada Gambar 5.

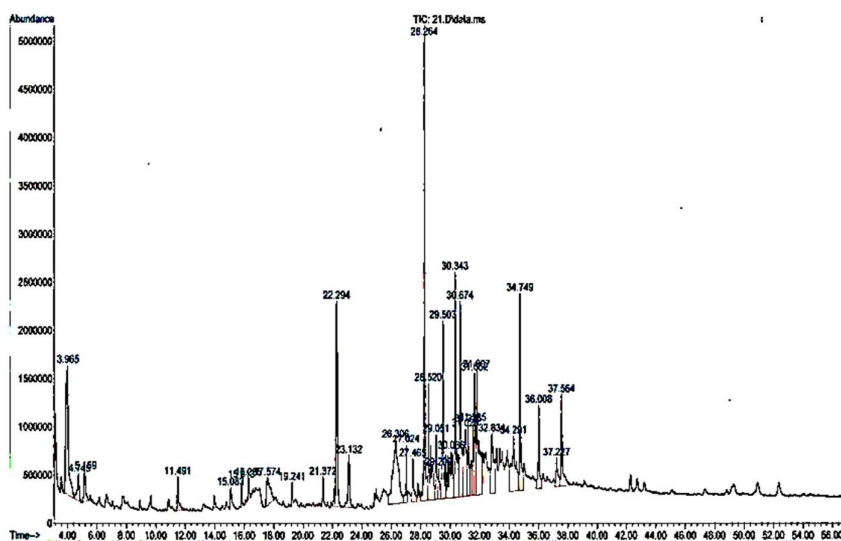


Gambar 4. Spektrum UV-Vis fraksi 4.2.2

Hal yang terpenting dalam penentuan senyawa kimia adalah data FT-IR dengan membandingkan adanya gugus C=O (karbonil), karena gugus ini sangat khas dalam senyawa kimia dan umum. Berdasarkan data KG-SM yang dihasilkan bahwa senyawa yang tidak memiliki gugus C=O bukan merupakan turunan dari asam lemak atau asam benzoat seperti pada Gambar 6. Oleh karena itu, senyawa kimia yang dimaksud adalah *pyrogallol* atau nama IUPAC nya adalah 1,2,3-Benzenetriol pada Tabel 4.



Gambar 5. Spektrum FTIR fraksi A.4.2.2



Gambar 6. Spektrum KG-SM fraksi A.4.2.2

Tabel 4. Kandungan Senyawa Kimia Fraksi A.4.2.2 Hasil Analisis GC-MS

No	Waktu Retensi	Quality	Kandungan (%)	Kemungkinan Senyawa menurut database W8N08.L	Perkiraan struktur molekul
1	17.574	96	2.10	<i>Pyrogallol</i>	
2	28.262	98	7.97	<i>Methyl 2,4,6-trihydroxybenzoate</i>	
3	29.048	91	1.49	<i>Ethanone, 1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)</i>	
4	30.068	97	3.62	<i>Homosalate</i>	
5	30.344	99	4.82	<i>Methyl 14-methylpentadecanoate</i>	
6	30.675	99	4.91	<i>Hexadecanoic acid</i>	
7	31.806	91	5.92	<i>Octadecanoic acid, Methyl ester</i>	
8	34.750	97	4.06	<i>Di-n-octyl phthalate</i>	

Pyrogallol merupakan senyawa aromatik dan golongan metabolit sekunder dari polifenol yang memiliki tiga gugus hidroksil pada cincin benzena. *Pyrogallol* ini merupakan salah satu isomer dari trihidroksi benzena. Isomer lainnya adalah *Hydroxyquinol* (*1,2,4-Benzenetriol*) dan *Phloroglucinol* (*1,3,5-Benzenetriol*) (Shin *et al.*, 2019). *Pyrogallol* merupakan senyawa kimia dari metabolit sekunder golongan tanin, yang sejalan dengan hasil penapisan fitokimia yang menunjukkan bahwa ekstrak air *B. frutecens* mengandung tanin. Senyawa *pyrogallol* ini terbentuk jika tanin dipanaskan pada suhu sekitar 98 °C dan larut dalam air panas (Rani, 2012). *Pyrogallol* dalam ekstrak air daun jung rahab memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan *pyrogallol* dari penelitian lain, hal ini dapat dikarenakan adanya senyawa lain yang mengakibatkan aktivitas lebih rendah, perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut untuk dapat menghasilkan aktivitas yang lebih baik.

Uji penghambatan polimerisasi hem pada senyawa *pyrogallol* yang terkandung pada pita hasil isolasi memiliki aktivitas antimalaria. *Pyrogallol* berpotensi sebagai antimalaria dengan menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* pada konsentrasi 10 mg/L terhadap 2 fase parasite (Venancio *et al.*, 2016) Selain itu, turunan *Pyrogallol* berpotensi sebagai antimalaria karena dapat menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap klorokuin pada konsentrasi 0,5 ppm dan 1 ppm masing-masing pada tahap cincin dan trophozoit parasit (Venancio *et al.*, 2016).

Proteolisis hemoglobin dalam vakuola dan detoksifikasi heme dengan cara polimerisasi menjadi hemozoin yang tidak larut adalah prosedur metabolisme kunci dari parasit *Plasmodium*. Diduga *xanthone* memiliki aktivitas antimalaria dengan cara membentuk kompleks yang berikatan dengan hem yang dihasilkan selama hemoglobinolisis. Struktur tertentu yang terbentuk, misalnya, tingkat hidroksilasi yang lebih tinggi, diketahui dapat meningkatkan kinerja *xanthenes* dalam menghambat polimerisasi hem (Fitriastuti *et al.*, 2017). Oleh karena itu, kemampuan *pyrogallol* sebagai antimalaria melalui penghambatan polimerisasi hem diduga akibat adanya ikatan antara gugus hidroksi *pyrogallol* dengan gugus samping karboksilat pada hem (Ignatushchenko *et al.*, 1997) Penelitian terbaru menunjukkan bahwa *pyrogallol* dapat mengubah pH vakuola makanan dari *Plasmodium falciparum*, sehingga dapat lebih

memahami mekanisme *pyrogallol* sebagai obat malaria potensial (Ja'afar *et al.*, 2021)

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak air daun jung rahab mengandung senyawa *pyrogallol* dan memiliki aktivitas sebagai antimalaria berdasarkan pada penghambatan polimerisasi hem, diperlukan fraksinasi lebih lanjut terhadap senyawa *pyrogallol* untuk meningkatkan aktivitas antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustikawati, N., Andayani, Y., & Suhendra, D. (2017). Uji aktivitas antioksidan dan penapisan fitokimia dari ekstrak daun pakoasi dan kluwih sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 3(2).
- Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2019). Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1+ 1 does not equal 2. *Natural Product Reports*, 36(6), 869–888.
- Fitrianiingsih, S. P. (2010). Aktivitas antiplasmodium ekstrak etanol beberapa tanaman obat terhadap mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Prosiding SNaPP: Sains, Teknologi*, 1(1), 1–13.
- Fitriastuti, D., Jumina, & Priatmoko. (2017). Heme polymerization inhibition activity (HPIA) assay of synthesized xanthone derivative as antimalarial compound. *AIP Conference Proceedings*, 1823(1), 20120.
- Hapsari, Y., Mahayoga, G. A., Kusharyoto, W., & Simanjuntak, P. (2019). Aktivitas antimalaria berbasis penghambatan $\beta\beta$ -hematin dalam ekstrak air daun jung rahab (*Baekea frutecens* L.). *Chimica et Natura Acta*, 7(1), 46–50.
- Huy, N. T., Uyen, D. T., Maeda, A., Trang, D. T. X., 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. <https://doi.org/10.1128/AAC.00985-06>
- Ignatushchenko, M. V., Winter, R. W., Bächinger, H. P., Hinrichs, D. J., & Riscoe, M. K. (1997). Xanthenes as antimalarial agents; studies of a possible mode of action. *FEBS Letters*, 409(1), 67–73.
- Ja'afar, N. S. A., Nik Mat Zin, N. N. I., Mohamad, F. S., & Abu-Bakar, N. (2021). A polyphenol, *pyrogallol* changes the acidic pH of the digestive vacuole of *Plasmodium falciparum*. *Life Sciences, Medicine and Biomedicine*, 5(1). <https://doi.org/10.28916/lsm.5.1.2021.82>

- KemenKes, R. (2018). Hasil utama RISKESDAS 2018. Jakarta: Kementerian Kesehatan Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Muntadiroh, M. (2019). Pengaruh kombinasi dekokta rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) terhadap kadar nitrat serum dan nitrat jaringan sinovial tikus yang diinduksi complete freund's adjuvant. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 7(1).
- Murningsih, T. (2009). Studi fitokimia *Baeckea frutescens* L: Pengaruh faktor lingkungan terhadap komposisi kimia minyak atsiri. *Berita Biologi*, 9(5), 569–576.
- Muti'ah, R. (2012). Penyakit Malaria dan mekanisme kerja obat-obat antimalaria. *Alchemy*.
- Nagaraj, V. A., Sundaram, B., Varadarajan, N. M., Subramani, P. A., Kalappa, D. M., Ghosh, S. K., & Padmanaban, G. (2013). Malaria parasite-synthesized heme is essential in the mosquito and liver stages and complements host heme in the blood stages of infection. *PLoS Pathog*, 9(8), e1003522.
- Rani, I. (2012). Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *CEFARS: Jurnal Agribisnis Dan Pengembangan Wilayah*, 3(2), 46–55.
- Saritha, M., Koringa, K., Dave, U., & Gatne, D. (2015). A modified precise analytical method for anti-malarial screening: Heme polymerization assay. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 201(2), 112–115.
- Shin, M., Park, E., & Lee, H. (2019). Plant-inspired pyrogallol-containing functional materials. *Advanced Functional Materials*, 29(43), 1903022.
- Statistik, B. P. (2013). Proyeksi Penduduk Indonesia 2010-2035. Jakarta: Badan Pusat Statistik, 1–472.
- Venancio, V. P., Abrão, L. C., Kim, H., Talcott, S. T., & Mertens-Talcott, S. U. (2016). In vitro antimalarial activity of microbial metabolites from mango tannins (*Mangifera indica* L.). *The FASEB Journal*, 30, 916.
- WHO. (2012). *World malaria report: 2012*. Geneva: World Health Organization.
- WHO. (2016). *World Malaria Report: 2016*. Geneva: World Health Organization.
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 1–26.