



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : LPPM UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
Jl. Brigjen H. Hasan Basry, Kayutangi, Banjarmasin
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : PRODUK ANTIMALARIA FRAKSI n-HEKSAN AKAR
MANURAN (*Coptosapelta tomentosa*)

Inventor : Dr. Arnida, S.Si., M.Si., Apt
Dr. Sutomo, S.Si., M.Si., Apt

Tanggal Penerimaan : 31 Desember 2018

Nomor Paten : IDP000073748

Tanggal Pemberian : 16 Desember 2020

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL



Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

Deskripsi

PRODUK ANTIMALARIA FRAKSI *n*-HEKSAN AKAR MANURAN (*Coptosapelta tomentosa*)

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan produk antimalaria fraksi *n*-heksan akar Manuran (*Coptosapelta tomentosa*).

Latar Belakang Invensi

10 P penghambatan polimerisasi hem adalah salah satu mekanisme kerja antimalaria. Mekanisme ini terjadi di dalam vakuola makanan *Plasmodium*. *Plasmodium* adalah parasit penyebab malaria yang ditularkan oleh vektor nyamuk. Sel darah merah merupakan nutrisi *Plasmodium*, hemoglobin yang
15 terdiri dari hem dan globin. Globin akan terdekomposisi menjadi asam amino yang digunakan untuk sintesis protein *Plasmodium*. Sedangkan hematin akan menjadi senyawa yang bersifat toksik bagi *Plasmodium*. *Plasmodium* untuk melindungi dirinya melakukan detoksifikasi terhadap
20 hematin. Detoksifikasi hematin pada *Plasmodium* dicapai dengan cara polimerisasi hematin menjadi hemozoin (Becker & Selzer, 2011; Pagola *et al.*, 2000; Slatter *et al.*, 1991).

Antimalaria yang memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat polimerisasi hem salah satunya adalah kloroquin.
25 Mutasi gen dapat mempengaruhi struktur dan aktivitas molekuler target kerja obat pada *Plasmodium* sehingga antimalaria tidak mampu berikatan dengan ligan untuk menghambat pertumbuhan *Plasmodium* dengan maksimal (Omar & Mahajan, 2004). Kasus resistensi antimalaria, mendorong
30 upaya penemuan antimalaria baru.

Antimalaria pada jalur penghambat polimerisasi hem dari senyawa tumbuhan adalah senyawa fenolik seperti flavonoid, antrakuinon, dan tanin (Wijaya et al., 2013), senyawa golongan saponin (Wijaya et al., 2013), terpenoid, golongan alkaloid (Wahyono et al., 2010; Purwanto, 2011) dan glikosida (Arnida, 2015).

Invensi sebelumnya oleh Arnida (IDP000059347) dengan judul "Metode Isolasi Antraquinon Dari Akar Manuran (*Coptosapelta tomentosa*) sebagai penghambat Polimerisasi Hem" invensi ini mengungkapkan metode isolasi antraquinon yang merupakan senyawa murni diperoleh dari isolat J sebagai hasil dari isolasi fraksi n-heksan akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*), sedangkan invensi yang diusulkan adalah produk antimalaria fraksi n-heksan. Fraksi n-heksan diperoleh dari ekstrak etanol yang difraksinasi dengan pelarut n-heksan pada akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) kemudian diuji kandungannya dengan skrining fitokimia dan KLT sehingga diketahui mengandung senyawa antrakuinon, flavonoid, dan terpenoid. Aktivitas antimalaria dari akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) yakni penghambat polimerisasi hem dengan nilai IC_{50} $0,15 \pm 0,01$ mg/mL, artinya pada konsentrasi 0,15 mg/mL fraksi n-heksan mampu menghambat polimerisasi hem 50%. Hal ini dikategorikan sebagai aktivitas yang sangat aktif.

Invensi perbandingan lainnya oleh Arnida, dkk (2017) adalah tentang bagian tanaman yang berbeda dari invensi yang diusulkan, invensi perbandingan menggunakan bagian batang *Coptosapelta tomentosa* sedangkan invensi yang diusulkan menggunakan bagian akar *Coptosapelta tomentosa*, invensi perbandingan mencakup aktivitas antiplasmodium in

vitro yang merupakan pengujian antimalaria jalur lain yang juga berbeda dengan jalur penghambatan pelimerisasi hem seperti pada invensi yang diusulkan.

Invensi yang diusulkan ini berhubungan dengan produk antimalaria dari fraksi *n*-heksan akar *Coptosapelta tomentosa* khususnya sebagai penghambatan polimerisasi hem. Keunggulan dari akar manuran dibandingkan dengan bagian daun dan batang dari tanaman manuran (*Coptosapelta tomentosa*) adalah aktivitas polimerisasi hem yang lebih potensial dan bahan yang tersedia lebih banyak akar dari daun dan batang karena cara tumbuh tanaman ini adalah pembentukan akar besar secara menjalar dalam tanah. Ukuran akar lebih besar dari batangnya, dan akar tidak mengalami menyusutan tinggi bila menjadi bahan kering. Akan tetapi kelemahannya adalah mengambil akar akan sekaligus mengambil batang dan daun sehingga bila tidak dimanfaatkan batang dan daunnya akan terbuang begitu saja. Fraksi *n*-heksan dari akar manuran *Coptosapelta tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem yang sangat aktif dari ekstrak etanol, fraksi butanol, dan infusa. Aktivitas penghambat polimerisasi hem diujikan pada konsentrasi 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL, dan berdasarkan analisis SPSS diperoleh nilai IC_{50} $0,15 \pm 0,01$ mg/mL. Hal ini dikategorikan bahwa fraksi *n*-heksan adalah produk yang potensial sebagai antimalaria pada nilai IC_{50} 0,15 mg/mL. Fraksi *n*-heksan ditinjau dari segi komposisi senyawa masih kompleks karena mengandung lebih dari satu senyawa dan memenuhi syarat sebagai produk obat tradisional, sedangkan isolat yang murni tidak diperbolehkan sebagai bahan baku obat tradisional. Fraksi *n*-heksan akar manuran

(*Coptosapelta tomentosa*) mengandung senyawa antrakuinon, flavonoid, dan terpenoid. Mekanisme aksinya adalah gugus hidroksil dari senyawa-senyawa tersebut akan berikatan dengan ion besi hem sehingga mampu menghambat polimerisasi hem membentuk pigmen malaria yaitu hemozoin pada *Plasmodium* (Purwanto, 2011; Wijaya *et al.*, 2013).

Uraian Singkat Invensi

Tujuan invensi pertama mengungkapkan produk antimalaria dari akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) dalam bentuk fraksi *n*-heksan yang mengandung flavonoid, antraquinon, dan terpenoid dengan konsentrasi 0,3125-5 mg/mL dan pelarut DMSO 10%.

Tujuan invensi kedua merupakan tujuan invensi pertama dimana produk antimalaria akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) yaitu fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan nilai IC_{50} $0,15 \pm 0,01$ mg/mL. Fraksi *n*-heksana akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) sangat aktif sebagai penghambat polimerisasi hem.

Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dikemukakan pada latar belakang invensi bahwa antimalaria mengalami resistensi. Resistensi dapat diatasi dengan hadirnya antimalaria baru. Upaya penemuan antimalaria baru terus dilakukan terhadap tumbuhan yang merupakan sumber obat maupun sumber lainnya. Metabolit sekunder tumbuhan berupa senyawa aktif berperan penting pada aktivitasnya. Akar manuran (*Captosapelta tomentosa*) digunakan sebagai antimalaria oleh masyarakat desa Sungai

Buah Kotabaru Kalimantan Selatan. Senyawa kimia yang bersifat non polar dipisahkan dari senyawa kimia lainnya menggunakan metode fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan. Fraksi *n*-heksan diidentifikasi dengan skrining fitokimia sehingga diketahui terdapat senyawa antrakuinon, flavonoid, dan terpenoid. Aktivitas antiplasmodium pada fraksi *n*-heksana akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) diuji secara *in vitro* dengan metode penghambatan polimerisasi hem dan ditetapkan dengan nilai IC₅₀.

Metode pembuatan fraksi *n*-heksana akar *Coptosapelta tomentosa* adalah sebanyak 500 gram simplisia akar manuran, kemudian ekstrak etanol kental disuspensikan dengan 100 mL akuades (1:2), kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksana sebanyak 150 mL (1:1,5). Fraksinasi dilakukan dalam corong pisah dengan 150 mL pelarut *n*-heksana dilakukan sebanyak 5 kali. Fraksi *n*-heksana dipisahkan, ditampung di dalam cawan penguap dan diuapkan menggunakan penangas air (*waterbath*) pada suhu 50^o di bawah titik didihnya (64^o) hingga menjadi fraksi kental dengan bobot tetap. Fraksi *n*-heksana akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) kemudian ditentukan persentase rendemennya yaitu 3,56% b/b.

Pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi hem dilakukan berdasarkan metode Basilico *et al.* (1998) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan terhadap kadar larutan hematin dan kadar sampel uji. Pengujian dilakukan dengan cara sebanyak 100 µL hematin 1 mM ditambah seri konsentrasi sampel fraksi *n*-heksana akar *Coptosapelta tomentosa* sebanyak 50 µL dan 50 µL larutan asam asetat glasial (pH 2,6) kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube. Mikrotube

dihomogenkan dengan vortex, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mikrotube yang telah diinkubasi kemudian disentrifugasi 10 menit dengan kecepatan 8000 rpm. Endapan yang diperoleh kemudian dicuci 3 kali dengan 200 μ L DMSO. Pemisahan dengan sentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 8000 rpm dilakukan setiap pencucian kristal. Endapan yang diperoleh dari hasil pemisahan dengan sentrifuge ditambah 200 μ L NaOH 0,1 M, kemudian sebanyak 100 μ L larutan dimasukkan ke dalam mikroplate 96 sumuran dan dibaca nilai densitas optik β -hematin yang terbentuk dengan ELISA Reader pada panjang gelombang 405 nm. Kontrol negatif yang digunakan adalah air dan DMSO 10% v/v. Kontrol positif yang digunakan adalah klokuin difosfat (Purwanto, 2011).

Pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi hem diawali dengan pembuatan kurva baku hematin. Kurva baku hematin dibuat untuk menentukan kadar β -hematin yang terbentuk. Kadar β -hematin ditentukan dengan cara memasukkan absorpsi sampel uji sebagai nilai y pada persamaan regresi kurva baku hematin sehingga diperoleh nilai x sebagai kadar β -hematin.

Kadar β -hematin yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan persentase penghambatan polimerisasi hem. Kadar β -hematin senyawa uji dibandingkan dengan kadar β -hematin kontrol negatif untuk menentukan persentase penghambatan polimerisasi hem senyawa uji. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10% dengan kadar β -hematin sebesar 192,62 μ M.

Persentase penghambatan polimerisasi hem pada konsentrasi terendah dari fraksi *n*-heksana akar *Coptosapelta tomentosa* masih mampu menghambat lebih dari 50% polimerisasi hem. Senyawa uji dibandingkan dengan kontrol positif untuk melihat potensinya sebagai antimalaria. Oleh sebab itu fraksi *n*-heksana akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) memiliki potensi yang sangat besar sebagai antimalaria. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi *n*-heksan akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) dibandingkan dengan aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi *n*-heksan batang, infusa akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*, dan klorokuin (kontrol positif).

Bahan Uji	Konsent rasi (mg/mL)	Rerata % Penghambatan \pm SD	IC ₅₀ \pm SD (mg/mL)	Pustaka
Fraksi <i>n</i> -heksan akar manuran (<i>Coptosapelta tomentosa</i>)	5	98,54 \pm 0034	1,15 \pm 0,01	Invensi
	2,5	94,60 \pm 0,062		
	1,25	92,41 \pm 0,102		
	0,625	85,87 \pm 0,036		
	0,3125	63,69 \pm 0,012		
Infusa akar manuran (<i>Coptosapelta tomentosa</i>)	10	63,13 \pm 5,91	9,61 \pm 0,99	Arnida, Ratih Purnama Putri, Fadlillah turrahmah, Sutomo, 2016
	5	42,12 \pm 2,16		
	2,5	34,42 \pm 5,02		
	1,25	24,69 \pm 8,34		
	0,625	13,79 \pm 5,20		
	1,3125	0 \pm 0		
Fraksi <i>n</i> -heksana daun manuran	20	98,268 \pm 0,084	,196 \pm 0,009	Arnida, Sutomo, Utsna
	10	97,531 \pm 0,032		
	5	96,001 \pm 0,064		

<i>(Coptosapelta tomentosa)</i>	2,5	93,274 ± 0,128		Uhdatul Khoriah, 2018
	1,25	89,036 ± 0,169		
	0,625	80,966 ± 0,355		
	0,3125	50,322 ± 1,087		
Klorokuin	10	100 ± 0	8,23 ± 1,00	Arnida, Ratih Purnama Putri, Fadlillah turrahmah, Sutomo, 2016
	5	100 ± 0		
	2,5	99,22 ± 1,69		
	1,25	58,76 ± 12,38		
	0,625	40,36 ± 7,52		
	0,3125	9,75 ± 10,20		

Aktivitas penghambatan polimerisasi hem yang dimiliki oleh fraksi *n*-heksana akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) berasal dari senyawa kimia yang terkandung di dalamnya yaitu antrakuinon, flavonoid dan terpenoid. Berbagai antimalaria sintetis telah dikembangkan dari senyawa-senyawa tersebut seperti atovakuon (naftokuinon), xanton (flavonoid), dan artemisinin (terpenoid). Xanton terbukti berperan sebagai antimalaria dengan cara menghambat polimerisasi hem (Becker & Selzer, 2011).

Klaim

1. Produk antimalaria yang terdiri dari fraksi n-heksan akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) konsentrasi 0,3125-5 mg/mL dan pelarut DMSO 10%.
- 5 2. Produk antimalaria sesuai klaim 1, dimana produk tersebut memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan nilai IC_{50} $0,15 \pm 0,01$ mg/mL.

10

15

20

25

Abstrak**PRODUK ANTIMALARIA FRAKSI *n*-HEKSAN AKAR MANURAN
(*Coptosapelta tomentosa*)**

5

Produk antimalarial dari akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) berupa fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas sebagai penghambat polimerisasi hem. Akar *Coptosapelta tomentosa* secara empiris digunakan sebagai antimalaria oleh masyarakat desa Sungai Buah Kotabaru Kalimantan Selatan. Akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) mengandung senyawa antrakuinon, flavonoid, dan terpenoid yang memberikan aktivitas antimalaria. Aktivitas antimalaria dari produk ini pada fraksi *n*-heksana akar manuran (*Coptosapelta tomentosa*) yang diuji dengan metode penghambatan polimerisasi hem dan diukur dengan nilai IC₅₀. Klorokuin difosfat sebagai kontrol positif. DMSO 10% dan akuades digunakan sebagai kontrol negatif. Persentase penghambatan polimerisasi heme dari produk ini pada konsentrasi 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL secara berturut-turut yaitu 98,54; 94,60; 92,41; 85,87; 63,69%. Nilai IC₅₀ polimerisasi hem fraksi *n*-heksana yaitu 0,15 ± 0,01 mg/mL.

10

15

20