

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Etiologi Malaria

Malaria disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang merupakan protozoa fotosintetik *Dinoflagellata*. Sejauh ini, sekitar 200 spesies protozoa telah diidentifikasi, dan setidaknya 13 spesies di antaranya diketahui bersifat patogen bagi manusia. Jenis parasit yang paling umum menyebabkan malaria pada manusia adalah *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* (juga dikenal sebagai *P. ovale curtisi* dan *P. ovale wallikeri*), dan *P. knowlesi* (Fikadu & Ashenafi, 2023). Di antara lima spesies *Plasmodium*, *P. falciparum* menyebabkan kematian tertinggi di seluruh dunia, dan bertanggung jawab atas 99,7% kasus di Afrika, 50% di Asia Tenggara, 71% di Mediterania Timur, dan 65% di Pasifik Barat (Nurkanto *et al.*, 2021). Malaria ditularkan oleh sekelompok spesies *Anopheles* tertentu yang berbeda pada setiap wilayah endemis. Hingga saat ini, lebih dari 400 spesies nyamuk *Anopheles* telah diidentifikasi. Namun, hanya 30 di antaranya yang diketahui menularkan malaria. Semua vektor malaria menularkan parasit malaria melalui gigitan di antara senja hingga fajar (Fikadu & Ashenafi, 2023).

2.1.2 Siklus Hidup Parasit Malaria

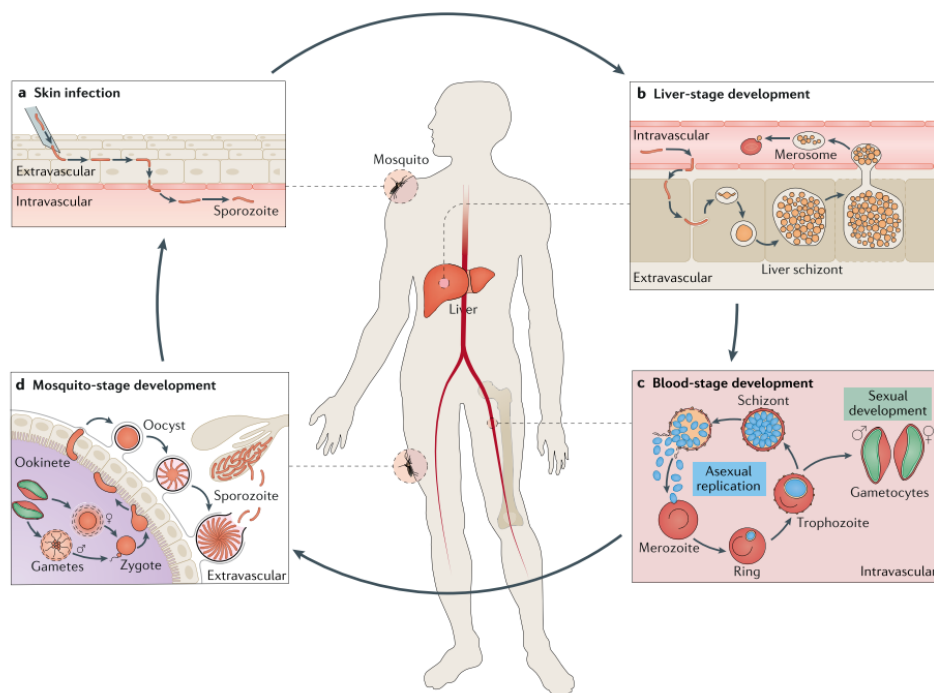
Siklus hidup parasit malaria merupakan proses kompleks yang melibatkan nyamuk *Anopheles* dan inang. Tahap pertama infeksi dimulai ketika nyamuk yang terinfeksi parasit malaria menghisap darah vertebrata. Nyamuk akan menyuntikkan sporozoit ke dalam kulit yang bergerak memasuki aliran darah, memungkinkannya mencapai hati dan menghindari sistem kekebalan tubuh atau pembuangan melalui sistem limfatik. Setelah

sporozoit tiba di sinusoid hati, mereka melewati penghalang sinusoidal dan masuk ke hepatosit, tempat mereka membentuk vakuola parasitofor dan mengalami replikasi aseksual pertama mereka. Dalam waktu 2 hingga beberapa hari (tergantung pada spesiesnya), terbentuklah skizon eksoeritrositik berinti banyak (atau meront) yang mengandung ribuan merozoit anak. Fase ini juga disebut sebagai fase *exo-erythrocytic* atau fase hepar (Venugopal *et al.*, 2020) sebagai fase *exo-erythrocytic* atau fase hepar (Venugopal *et al.*, 2020). Dalam kasus infeksi oleh *P. vivax* dan *P. ovale*, beberapa sporozoit membentuk hipnozoit dorman yang tetap berada di dalam hepatosit selama beberapa bulan hingga bahkan 4 tahun, sebelum berkembang dan bereplikasi untuk memulai episode baru infeksi eritrosit (Fikadu & Ashenafi, 2023).

Infeksi eritrosit melibatkan interaksi antara merozoit dan sel darah merah (RBC). Kepala merozoit berorientasi dan menyatu dengan membran eritrosit dengan merusak permukaan sel inang. Selanjutnya, melalui reorganisasi sitoskeleton eritrosit yang diinduksi oleh parasit, parasit masuk ke dalam eritrosit untuk menjalani reproduksi aseksual kedua. Meskipun *P. vivax* dan *P. ovale* lebih menyukai eritrosit yang lebih muda, *P. falciparum* dan *P. knowlesi* akan menyerang eritrosit pada usia berapa pun. Sebaliknya, *P. malariae* lebih menyukai eritrosit tua. Setelah memasuki sel darah merah, merozoit bereplikasi menjadi tropozoit dan kemudian menjadi skizon yang keluar dari eritrosit, melepaskan merozoit, dan menyerang sel darah merah baru untuk melanjutkan siklus replikasi aseksual (Fikadu & Ashenafi, 2023).

Siklus seksual dimulai ketika sebagian kecil parasit agamis berkomitmen untuk menghasilkan keturunan seksual, yaitu gametosit. Gametosit yang berkembang dapat bersirkulasi dalam darah manusia selama beberapa hari, yang memaksimalkan

peluang penularannya ke nyamuk. Beberapa menit setelah memasuki usus tengah nyamuk, gametosit jantan dan betina menggunakan protease untuk keluar dari sel darah merah dan berdiferensiasi menjadi delapan mikrogamet dan satu makrogamet, yang bergabung membentuk zigot. Zigot berubah menjadi ookinet motil, yang melintasi lapisan epitel pembagi usus tengah untuk membuat ookista. Di dalam ookista, parasit mengalami siklus ketiga replikasi aseksual untuk menghasilkan ribuan sporozoit yang dibuang ke hemolimfa. Sporozoit yang mencapai organ air liur nyamuk bergabung dan menyerang organ tersebut, di mana mereka tinggal sampai ditularkan ke vertebrata yang tidak digunakan melalui gigitan nyamuk, untuk memulai siklusnya sekali lagi (Venugopal *et al.*, 2020).



Gambar 2. 1 Siklus Hidup Parasit Malaria

Sumber: Venugopal *et al.*, 2020

2.1.3 Patofisiologi Malaria

Indikasi klinis malaria muncul selama tahap eritrositik parasit malaria. Demam malaria menyebabkan sakit kepala, nyeri otot, batuk kering, mual, muntah, kelelahan, dan demam paroksismal yang khas [Gambar 2a]. Ciri paroksismal malaria berkembang dengan pelepasan produk sampingan beracun yang memicu rasa dingin awal diikuti oleh kenaikan suhu tubuh yang mendadak atau demam (Balaji *et al.*, 2020). Pada kasus malaria berat, faktor utama pathogenesis melibatkan perekatan eritrosit yang terinfeksi ke sel endotel inang (sitoadherensi). Ekspresi gen yang mengkode protein yang terlibat dalam sitoaderensi dan penghindaran sistem kekebalan menjelaskan virulensi pada *P. falciparum* dibandingkan dengan spesies lainnya. Protein membran eritrosit *P. falciparum* 1 (PfEMP1), rifin, dan stevor dikode oleh anggota keluarga gen var, rif, dan stevor, masing-masing. Gen var yang mengkode PfEMP1 adalah antigen permukaan varian yang paling dikenal dan diekspresikan di permukaan eritrosit yang terinfeksi, di mana ia memediasi ikatan dengan reseptor endotel (Fikadu & Ashenafi, 2023). Pada stadium lebih lanjut, manifestasi dapat berupa anemia berat, asidosis laktat, hipoksia, splenomegali, gangguan hepar, gangguan ginjal, gangguan penglihatan, malaria serebral dengan kerusakan saraf, dan lain-lain (Balaji *et al.*, 2020).

2.1.4 Tatalaksana Malaria

Saat ini, terapi kombinasi artemisinin (ACTs) direkomendasikan sebagai pengobatan lini pertama standar untuk malaria tanpa komplikasi (Nurkanto *et al.*, 2021). Artemisinin dan turunannya, seperti dihydro-artemisinin, artesunat, artemeter, dan arteether berasal dari sumber alami. Mekanisme kerja artemisinin dan turunannya adalah dengan produksi radikal bebas. Hal ini menyebabkan hemoglobin dalam sel inang menjadi proteolisis, parasit malaria diketahui kaya akan heme. Akibatnya, ketika

artemisinin berinteraksi dengan heme intraparasit, radikal bebas berbahaya akan dihasilkan. Satu atau lebih protein penting malaria kemudian didenaturasi dan dialkylasi oleh radikal bebas berpusat karbon, yang pada akhirnya membunuh parasit tersebut. Interaksi selektif artemisinin dengan heme intraparasit bertanggung jawab atas toksisitas selektifnya terhadap parasite (Fikadu & Ashenafi, 2023).

Selain artemisinin, obat antimalaria lain yang sering digunakan berasal dari golongan kuinolin. Turunan kuinolin yang terdiri dari klorokuin, amodiakuin, kuinin, kuinidin, meflokuin, primakuin, lumefantrin, dan halofantrin aktif melawan tahap eritrositik parasit. Mekanisme antimalaria turunan kuinolon terdiri dari dua Langkah, yaitu langkah pertama yang melibatkan pemerlambatan pengendapan heme ke permukaan kristal dengan membatasi pertumbuhan kristal hemozoin dan langkah kedua yang melibatkan pengkompleksan dengan heme bebas di lumen vakuola pencernaan. Hasil keseluruhan dari kedua langkah ini adalah membunuh parasit dengan menghentikan kristalisasi heme setelah dilepaskan dari hemoglobin (Fikadu & Ashenafi, 2023).

Di Indonesia, tatalaksana pengobatan malaria dibagi menjadi pengobatan pada malaria tanpa komplikasi dan pengobatan pada malaria berat. Pengobatan juga berbeda berdasarkan pasien yang diobat dengan beberapa variasi pada pasien penderita *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, pasien dengan resistensi obat tertentu, pasien ibu hamil, dan pasien dengan defisiensi enzim G6PD. Namun, secara umum obat yang paling sering digunakan adalah kombinasi Dihidroartemisinin-Piperakuin (DHP) dan Primakuin (Kementerian Kesehatan RI, 2023).

2.1.5 Biologi Molekuler *P. falciparum*

Teknologi generasi sekuens saat ini dan pengurangan biaya telah memungkinkan kemajuan pesat dalam penelitian genom parasit malaria sejak selesainya rancangan urutan pertama genom *P. falciparum* 3D7 pada tahun 2002. Basis data publik kini mencakup informasi genom primata, hewan pengerat, dan parasit burung selain rangkaian spesies signifikan yang dapat menginfeksi manusia. Ini termasuk genom model penyakit yang umum digunakan, seperti *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. yoelii*, *P. reichenowi*, *P. cynomolgi*, *P. relictum*, dan *P. gallinaceum* (Su *et al.*, 2019).

2.1.5.1 Genom *P. falciparum*

Genom *P. falciparum* pertama kali diterbitkan pada tahun 2002 dari strain 3D7. Genom inti *P. falciparum* 3D7 disusun menjadi 14 kromosom linier ditambah dua segmen DNA ekstrakromosom, sebuah apikoplas dan genom mitokondria. Genom ini tersedia untuk umum melalui *GeneDB* atau *plasmoDB*, database utama Plasmodium. Genom nuklear memiliki ukuran 23,3 MB, kandungan GC sekitar 19,4%, dan 5.507 gen. Kebanyakan gen berukuran antara 2000 dan 2500 bp dan tidak mengandung intron, atau setidaknya sangat sedikit intron. Sebagian besar keluarga gen yang sangat teramplifikasi dan hiperamplifikasi ditemukan di daerah subkromosom kromosom; di wilayah tengahnya, terlindung dari destabilisasi, terdapat gen yang terlibat dalam fungsi metabolisme parasit. Daerah ekstra kromosom pada *P. falciparum* bersifat dinamis secara evolusi. Wilayah ini berukuran berkisar antara 60 hingga 120 kb dan memiliki struktur yang telah dipelajari dengan baik, dengan 1 hingga 6 elemen berulang yang terkait dengan telomer dan beberapa gen virulensi dan antigen permukaan yang memainkan peran penting dalam kekuatan virulensi, penghindaran kekebalan, dan variasi antigenik. Genom mitokondria *P. falciparum* hanya memiliki panjang 6 kb, dan sebagian besar DNA-nya terdiri dari rangkaian

pendek yang berulang secara tandem. Ia hanya memiliki tiga gen yang mengkode protein Cox1, Cox3 (sitokrom c oksidase subunit 1 dan 3) dan Cytb (sitokrom b). Ciri penting genom mitokondria adalah ia tidak mengkodekan tRNA apa pun, sehingga harus dikeluarkan dari sitoplasma. Genom apikoplas berbentuk lingkaran, berukuran 35 kb, dan mengkode 30 protein yang terlibat dalam jalur penting seperti sintesis asam lemak atau isoprenoid, serta jalur kelompok heme (Garrido-Cardenas *et al.*, 2018).

2.1.5.2 Protein *P. falciparum*

Obat antimalaria telah berkembang selama bertahun-tahun seiring dengan berkembangnya resistensi obat. Beberapa lokasi dan jalur biosintesis yang digunakan sebagai target antimalaria yaitu invasi eritrosit oleh trophozoit, perkembangan sporozoit, metabolisme hemoglobin dan biosintesis senyawa esensial, invasi hepatosit oleh sporozoit, pembelahan inti pada tahap eritrosit, keluarnya merozoit dan sporozoit, gametogenesis, dan protein parasit lain yang dihasilkan oleh translasi genom. Penghambatan selektif terhadap salah satu jalur proliferasi ini akan memberikan strategi intervensi terapeutik (Abugri *et al.*, 2022).

a. *Falcipain*

Falcipain adalah protease sistein *P. falciparum* yang terlibat dalam degradasi hemoglobin, invasi, dan pecahnya eritrosit. *Inhibitor* protease sistein mencegah hidrolisis hemoglobin dan dengan demikian menghambat pertumbuhan kultur *P. falciparum*. Falcipain-1 (FP1) berperan penting dalam produksi oosit selama tahap perkembangan yang terjadi di usus tengah nyamuk dan mungkin berkontribusi terhadap invasi sel inang. Falcipain 1, 2 dan 3 (FP2, FP2' dan FP3) adalah hemoglobinase utama vakuola makanan (Machin *et al.*, 2019).

b. *Subtilisin-like proteins (SUB)*

Sub1, protease serin yang bergantung pada kalsium yang memfasilitasi langkah pematangan akhir MSP1 (*Merozoite surface protein 1*), penting untuk masuknya parasit dan invasi eritrosit. Subset dari *serine protease inhibitor* menghambat proses dan sekresi AMA-1 (*Apical membrane antigen 1*) dan TRAP (*thrombosis associated antigen protein*) dan menghambat infeksi sporozoit, menunjukkan bahwa gangguan pada pengobatan proteolitik terhadap sporozoit mungkin menjadi strategi untuk mencegah infeksi hepatoseluler (Abugri *et al.*, 2022). Secara khusus, AMA1 diamati disekresi oleh *subtilisin-like proteins 2 (SUB2)*. Sekresi ini pada akhirnya mengontrol invasi dan penyegelan eritrosit. Pelepasan membran AMA1 sangat penting untuk menghindari antibodi lebih lanjut yang dapat menghambat invasi (Collins *et al.*, 2020).

c. *Merozoite surface protein 1 (MSP-1)*

MSP merupakan sebuah ligan yang menutupi permukaan merozoit di semua spesies parasit Plasmodium dan penting untuk invasi eritrosit. MSP membentuk kompleks dengan eritrosit glikoforin A (GPA) dan pita 3 ketika merozoit menempel pada eritrosit (Abugri *et al.*, 2022). Khususnya, MSP1, MSP2, MSP3, MSP4 dan MSP10 adalah protein darah yang merupakan kandidat vaksin yang menjanjikan karena antibodi spesifiknya telah menunjukkan perlindungan terhadap malaria. Parasit tersebut mengeksploitasi protease SUB1 untuk membelah MSP1 menjadi beberapa fragmen sebelum keluar. Fragmen yang dihasilkan membentuk kompleks pada permukaan merozoit dan bersama-sama dengan protein lain pada akhirnya menyebabkan pecahnya membran saat dilepaskan (Abugri *et al.*, 2022).

d. Apical membrane antigen (AMA)

Kompleks AMA dengan *Plasmodium rhoptry neck* (RON) terbentuk sebagai bagian dari persimpangan seluler antara sel inang dan parasit. AMA1 memainkan peran penting dalam replikasi tahap eritrosit, dan antibodi terhadap AMA1 menghambat invasi eritrosit. Penghambatan AMA menghalangi infeksi sporozoit pada sel inang (Abugri *et al.*, 2022). Hal ini menjadikan AMA1 alat penting dalam invasi sporozoit ke sel inang dan oleh karena itu penghambatannya dapat memberikan target antimalaria yang sangat baik. Subset dari *serine protease inhibitor* menghambat pemrosesan dan sekresi AMA-I dan TRAP serta menghambat infeksi sporozoit, menunjukkan bahwa gangguan pada proteolisis sporozoit mungkin merupakan strategi yang berharga untuk mencegah infeksi hepatoseluler. Secara khusus, AMA1 diamati disekresi oleh SUB2 (Collins *et al.*, 2020). Sekresi ini pada akhirnya mengontrol invasi dan penyevelan eritrosit. Jelasnya, pelepasan membran AMA1 sangat penting untuk menghindari antibodi yang mampu menghambat invasi (Abugri *et al.*, 2022).

e. Dipeptidyl aminopeptidases (DPAPs)

DPAPs merupakan protease sistein yang berperan penting dalam berbagai tahap perkembangan parasit dan bakteri lain penyebab malaria, toksoplasmosis, dan penyakit Chagas. Mereka membelah substrat protein dari terminal N untuk menghasilkan dipeptide (Tan *et al.*, 2020). DPAP1 melokalisasi ke vakuola pencernaan dan berperan dalam degradasi hemoglobin. DPAP2 diekspresikan dalam gamet dan *knockout* (KO) gametosit mengurangi gametogenesis dari iRBCs (*Infected Red Blood Cells*). Sedangkan DPAP3 berperan dalam proses keluar masuknya sel darah merah. DPAP1 dan 3 penting untuk

perkembangan aseksual dan inaktivasinya menyebabkan stagnasi siklus eritrosit (Abugri *et al.*, 2022).

f. *Plasmodium rhomboids* (PROMs)

PROMs adalah protease serin yang terlibat dalam invasi eritrosit *P. falciparum*. Mereka membelah substratnya dalam domain transmembran. Kelangsungan hidup melalui penghindaran mekanisme pertahanan inang dihambat oleh degradasi aktivitas gelendong (Abugri *et al.*, 2022). Identifikasi *Plasmodium rhomboid*, PfROM untuk *falciparum* dan PvROM untuk *P. vivax* akan sangat penting untuk pengobatan malaria dan pengembangan vaksin, karena *inhibitor* dapat memblokir invasi sel inang (Gandhi *et al.*, 2020). Beberapa fungsi utama yang dibahas untuk protease rhomboid mencakup, antara lain, keterlibatan yang jelas dalam transduksi sinyal, pengendalian pertumbuhan, pembelahan adhesin, dll. dan perannya bergantung pada kemampuannya untuk membelah substrat yang tidak terkait (Abugri *et al.*, 2022).

g. *Serine Repeat Antigen* (SERA)

Protein ini adalah protease tipe serin (SERA 1 hingga 5 dan SERA 9) dan tipe sistein (SERA 6 hingga 8) yang diekspresikan dalam vakuola parasitofor pada parasit stadium darah (Abugri *et al.*, 2022). *Plasmodium* SERA merupakan bagian dari keluarga SERA poligenik yang terdiri dari delapan kelompok homolog yang terkonsentrasi pada kromosom 2 dan satu pada kromosom 9. PfSERA 5 merupakan antigen darah klonal stadium 8 yang berperan dalam perkembangan, keluar dan masuknya parasit dengan mengatur waktu keluar parasit menjadi bertepatan dengan pematangan merozoit dan pemecahan membran sel darah merah (Smith *et al.*, 2020).

h. *Plasmepsins*

Enzim yang berbeda terlibat dalam tahap katalitik dan perkembangan parasit. Plasmodium pepsin (plasmepsin, PM) adalah protease aspartik yang terlibat dalam berbagai tahap parasit. Mereka berpartisipasi dalam proses biologis seperti degradasi hemoglobin, ekspor protein, pembentukan sporozoit, translokasi usus tengah, jalan keluar dan invasi. Plasmepsin I hingga IV bersama dengan falcipain (protease mirip papain) dan falcilysin (metalloproteinase) terlibat dalam pemecahan hemoglobin (Hb) dalam vakuola makanan parasit. Namun, PM adalah enzim kunci dalam proses degradasi, di mana mereka (PM I-II) mendegradasi sebagian hemoglobin dan selanjutnya didegradasi oleh PM IV dan protease histoaspartik (HAP) menjadi peptida yang lebih kecil. Penghambatan plasmepsin ini memiliki efek minimal pada replikasi parasit, namun penghapusan salinan tambahan PM II-III menjadikan parasit resisten terhadap piperazine (Abugri *et al.*, 2022).

Tabel 2. 1 Protein Penting Pada Parasit Malaria

Abbreviations	Name	Activity	Reference
FP1	falcipain-1	Host Cell Invasion	(Greenbaum <i>et al.</i> , 2020)
FP2	falcipain-2	Merozoite egression	(Dasaradhi <i>et al.</i> , 2005)
PII	plasmepsin II	Heme conversion to hemozoin	(Chugh <i>et al.</i> , 2013)
PIV	plasmepsin IV	Heme conversion to hemozoin	(Chugh <i>et al.</i> , 2013)
HAP	histo aspartic protease	Heme conversion to hemozoin	(Chugh <i>et al.</i> , 2013)
HDP	heme detoxification protein	Heme conversion to hemozoin	(Chugh <i>et al.</i> , 2013)
UBA1	Ubiquitin Activating enzyme 1	Ubiquitin activation is essential for schizont maturation in Plasmodium falciparum blood stage development.	(Green <i>et al.</i> , 2020)
PfPFT	Plasmodium falciparum farnesyltransferase	Trophozoite differentiation to schizonts and schizonts to ring transitions	(Chakrabarti <i>et al.</i> , 2002)

Sumber: Abugri *et al.*, 2022

Tabel 2. 2 Protein Malaria, Tempat Lokalisasi atau Pelepasan, Fungsi, dan *Inhibitor*

Proteins	Sub	Site	Function	Inhibition/Inhibitor	Ref.
Serine repeat antigen (SERA)	SERAS	Exported to erythrocytes (within the parasitophorous vacuole)	Regulate egress timing to coincide with maturation of merozoites	Conditional knockout (KO) produces an immature egress phenotype leading to a decrease in invasion efficiency	(Arisue <i>et al.</i> , 2020)
	SERA6		Proteolytically activated by SUB1 to disrupt red blood cell membranes		(Thomas <i>et al.</i> , 2018; Ruecker <i>et al.</i> , 2012)
	SERA8	Expressed in sporozoites		Inhibitors prevent the escape of sporozoites from oocysts	(Arisue <i>et al.</i> , 2020)
Subtilisin-like Protease (SUB)	SUB1	Erythrocytes, Hepatocytes	Involved in the cleavage of parasitophorous vacuole membrane, rhoptry, and erythrocyte membrane proteins		(Boonyalai <i>et al.</i> , 2018; Nava <i>et al.</i> , 2019)
	SUB2	Secreted by micronemes onto the surface of the merozoite	Sheddase involved in the shed of the protein coat of merozoite		(Boonyalai <i>et al.</i> , 2018; Nava <i>et al.</i> , 2019)
Plasmodium falciparum Rhomboids (PfROM)	PfROM4	Located on the surface of the parasite	Cleaves adhesin proteins involved in parasite attachment to the erythrocyte surface		(koussis, 2018; O'Donnell <i>et al.</i> , 2006)
	PfROM1	Found at the apical end of merozoites in liver stages	Cleaves apical membrane antigen 1		(Baker <i>et al.</i> , 2006)

Merozoite Surface Protein (MSP)	MSPI		Destabilizes the erythrocyte cytoskeleton	Cleavage reduces parasite egress	(Das <i>et al.</i> , 2015)
Dipeptidyl aminopeptidase (DPAP)	DPAP2	Expressed in gametocytes	Regulates parasite egress, and efficient erythrocyte invasion by parasites	Knockout (KO) decreases gamete egress	(Lehmann <i>et al.</i> , 2018)
	DPAP3	Erythrocytes	erythrocyte invasion	DPAP3 inhibitors block egress upstream of SUB1 activation.	(Lehmann <i>et al.</i> , 2018)
Aspartyl protease (Plasmeprins, PM)	PM	Erythrocytic stage	Essential in partial degradation of haemoglobin	Knockout has minimal effect on parasite replication	(Coombs <i>et al.</i> 2001)
	PM	Erythrocytic stage	Essential in partial degradation of haemoglobin	Knockout has minimal effect on parasite replication Extra copies removal sensitizes the parasite to piperazine	(Coombs <i>et al.</i> , 2001)
	PM III	Erythrocytic stage	Essential in haemoglobin degradation into smaller oligopeptides	Knockout has minimal effect on parasite replication Extra copies removal sensitizes the parasite to piperazine	(Mohapatra <i>et al.</i> , 2010 Moura <i>et al.</i> , 2009)
	PM IV	Erythrocytic stage	Essential in haemoglobin degradation into smaller oligopeptides	Knockout has minimal effect on parasite replication	(Liu <i>et al.</i> , 2006)
	PM V	An endoplasmic-resident integral membrane protein	For protein export	Inhibition blocks biological functions such as protein trafficking on invaded host cell surface	(Blackman and Bannister, 2001)
	PM VI	Expressed in transmission- stage parasites	Important in midgut sporozoite development and function	Knockouts prevent sporozoite formation and thus blocks transmission	(Mastan <i>et al.</i> , 2017)

	PM VII	Located in cytoplasm of parasite's sporozoites and ookinetes	Function is not fully known but might play role in midgut transversal		(Deu, 2017)
	PM VIII	Expressed in transmission- stage parasites	Function is not known	Knockout prevents sporozoite motility Absence reduces the number of salivary gland and hemolymph sporozoites	(Cheuka <i>et al.</i> , 2020; Myung <i>et al.</i> , 2004)
	PM IX	Localized to rhoptries	For RBC invasion		Cheuka <i>et al.</i> , 2020; Myung <i>et al.</i> , 2004)
	PM X	Localized to the exonemes	PM X is involved in both egress and invasion	Inhibitors prevent parasite progression from the liver to erythrocytes	(Nasamu <i>et al.</i> , 2020)
Apical Membrane Antigen (AMA)	AMA1	Secreted onto the merozoite surface	Bridges interactions between components of the motor and rhoptry-derived proteins that are inserted into the RBCM after reorientation		(Deu, 2017)

Sumber: Abugri *et al.*, 2022

2.1.6 *A. scholaris*

A. scholaris termasuk dalam famili *Apocynaceae* dan merupakan pohon besar berwarna hijau dengan tinggi batang 6-10 m. Di Indonesia disebut pulai, dan secara lokal di pulau Papua disebut *arasue*, pohon susu, kayu susu, *igeii*, *aikahahe*, *ibuong* dan *yepaa*. *A. scholaris* kaya akan alkaloid, terutama alkaloid indole. Kulit batangnya mengandung sejumlah zat seperti ditamine, echitein, echitamine, echitenin, echitin, echicerin, echitamine, dittain, ditamine, alstonidine, alstonin, villalstonin, echicaoutchin, makrokarpamin, dan lain-lain (Indradi *et al.*, 2023). Data dari para pengobat tradisional di Papua dan Papua Barat menunjukkan bahwa salah satu tanaman yang paling banyak digunakan untuk pengobatan tradisional penyakit malaria adalah *A. scholaris* (Budiarti *et al.*, 2020). Namun, penelitian lebih lanjut masih diperlukan mengenai sifat antimalaria dari *A. scholaris*.



Gambar 2. 2 *A. scholaris*

Sumber: Indradi *et al.*, 2023

2.1.7 *Molecular docking*

Tujuan dari teknik docking molekuler ada dua: untuk memprediksi struktur molekul klien (ligan) di situs pengikatan targetnya (protein/reseptor) dan untuk memberikan perkiraan afinitas

interaksi yang bekerja secara spesifik. Meskipun tujuan pertama lebih sering dicapai, tujuan kedua tetap merupakan kesulitan komputasi yang melekat terkait dengan perkiraan yang disederhanakan. Kedua komponen ini saling dihubungkan, komponen pertama adalah docking yang dilakukan dengan menggunakan algoritma docking, sedangkan komponen kedua disebut scoring dan juga dihitung oleh program docking menggunakan fungsi scoring yang telah ditentukan. Secara umum, sebagian besar fungsi penilaian memperhitungkan ukuran ligan, fleksibilitas, energi konformasi internal, dan posisi atom (Santos *et al.*, 2019).

Molecular docking terutama terdiri dari dua langkah: alat pengambilan sampel konformasi/orientasi dan fungsi penilaian, yang mengaitkan skor dengan setiap pose yang diprediksi. Proses pengambilan sampel harus secara efisien mencari ruang konformasi yang digambarkan oleh lanskap energi bebas, dimana energi, pada saat docking, diperkirakan dengan fungsi penilaian. Fungsi penilaian harus dapat menghubungkan konfigurasi terikat awal dengan energi minimum global dari permukaan hiper (Salmaso & Moro, 2018).

2.1.8 *Molecular dynamics* (MD)

Salah satu metode terbaik dan paling efektif untuk mempelajari makromolekul biologis adalah metode simulasi dinamika molekuler (MD). Mereka penting untuk memahami perilaku dinamis protein berdasarkan titik waktu yang berbeda (dari pergerakan internal yang cepat hingga perubahan struktural yang lambat atau bahkan pelipatan protein). Faktanya, sistem ini menunjukkan bagaimana setiap atom dalam sistem molekuler dan protein yang berbeda bergerak seiring waktu. Kemampuan utama metode ini adalah menangkap serangkaian simulasi proses biomassa molekuler yang penting. Ini termasuk pengikatan ligan,

deformasi protein, dan pelipatan, yang menunjukkan posisi semua atom pada resolusi femtodetik. Di sisi lain, seseorang dapat menguji pengaruh molekul pelarut eksplisit terhadap struktur dan stabilitas protein untuk memperoleh sifat rata-rata sistem biomolekuler, termasuk densitas, konduktivitas listrik dan momen dipol, serta berbagai parameter termodinamika, terutama energi interaksi dan entropi (Aghajani *et al.*, 2022a).

Meskipun mudah digunakan dan progresif, menyiapkan simulasi MD umumnya tidak mudah, terutama berkaitan dengan pilihan perangkat lunak, karena akan bergantung pada medan gaya yang sesuai untuk mewakili sistem biologis. Sebagian besar parameter medan gaya modern dapat sepenuhnya mengkarakterisasi protein dan interaksinya. Keterbatasan lainnya adalah tingginya biaya komputasi yang diperlukan untuk mensimulasikan sistem besar, yang terdiri dari ribuan atom. Meskipun pemrosesan komputasi telah berkembang, beberapa perubahan konformasi yang dilakukan oleh reseptor terjadi pada skala waktu yang melebihi kemampuan komputasi yang tersedia dan memerlukan metode khusus untuk mengatasi masalah ini (Santos *et al.*, 2019).

2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Tabel 2. 3 Hasil Penelitian Terdahulu

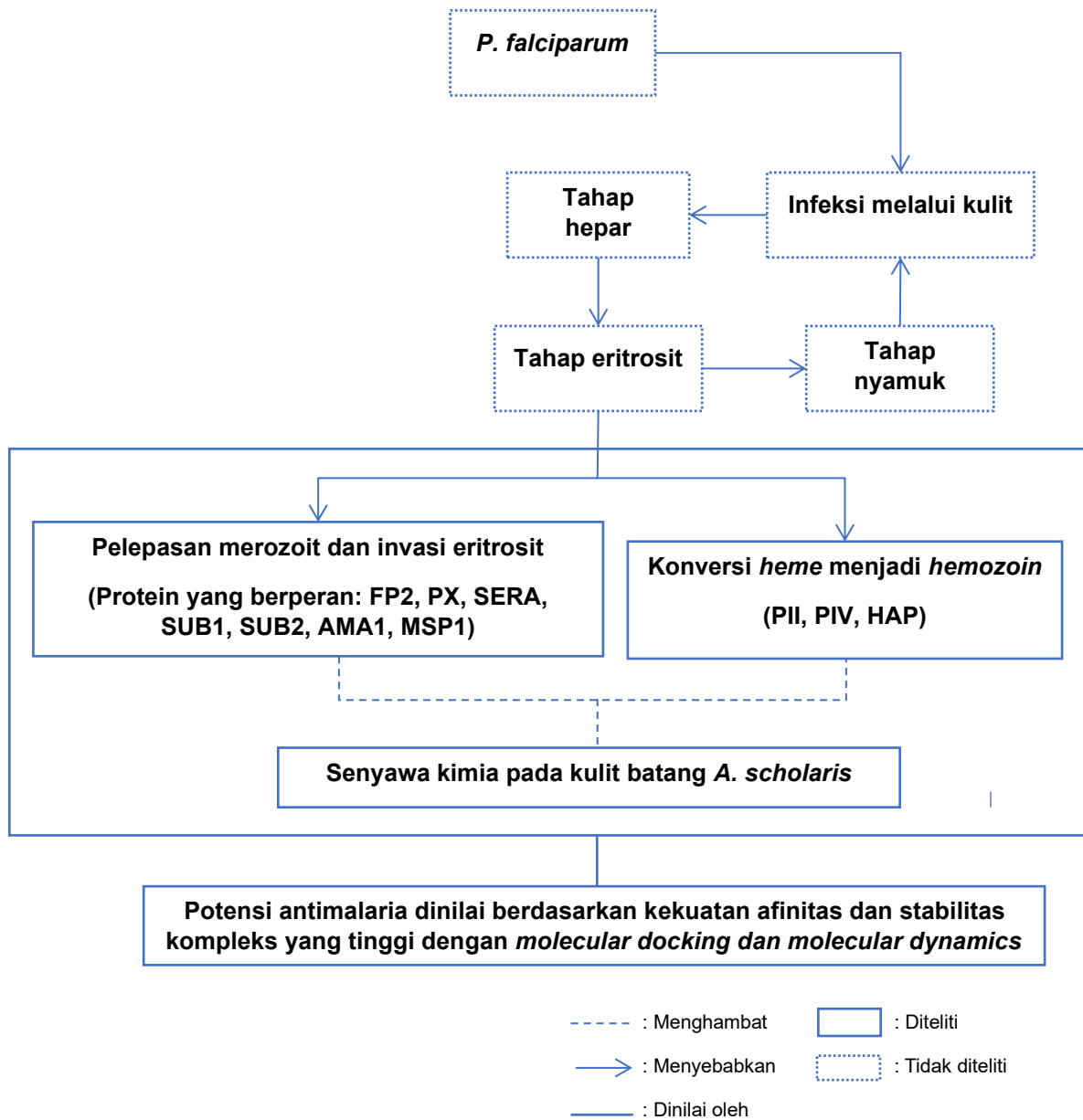
No	Penulis	Judul	Hasil	Persamaan	Perbedaan
1	Taek <i>et al.</i> , 2021	<i>Antiplasmodial Activity and Phytochemical Constituents of Selected Antimalarial Plants Used by Native People in West Timor Indonesia</i>	Masyarakat etnis Tetun memanfaatkan 50 jenis tumbuhan sebagai obat antimalaria. <i>A. Scholaris</i> merupakan antiplasmodial sedang dengan nilai IC50 masing-masing sebesar 11,60, 15,46, 24,92, dan 36,39 µg/mL. Data identifikasi fitokimia menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung alkaloid, terpenoid, steroid, kumarin, ester, dan lain sebagainya.	Penelitian mengidentifikasi aktivitas antimalaria dari senyawa kimia yang didapatkan pada tumbuhan di Indonesia Timur. Salah satu dari tumbuhan ini adalah <i>A. scholaris</i>	Metode yang digunakan dalam penelitian tersebut untuk mengetahui aktivitas antimalaria adalah <i>in vitro</i> melalui tes laboratorium

No	Penulis	Judul	Hasil	Persamaan	Perbedaan
2	Raju <i>et al.</i> , 2022	<i>In vivo and In silico Anti Inflammatory Studies of A. scholaris Bark Extract</i>	Menurut penelitian <i>in vivo</i> dan <i>in silico</i> , ekstrak etanol kulit kayu <i>A. scholaris</i> jelas memiliki efek anti-inflamasi pada model percobaan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi komponen fitokimia spesifik dari ekstrak dan menentukan mekanisme pasti yang mendasari efek antiinflamasi.	Menggunakan metode <i>in silico</i> , yaitu <i>molecular docking</i> . Senyawa kimia yang dievaluasi juga merupakan ekstrak batang dari tumbuhan <i>A. scholaris</i> .	Mengevaluasi aktivitas anti-inflamasi dari senyawa kimia pada <i>A. scholaris</i> . Penelitian ini juga tidak menggunakan metode MD, tetapi menggunakan metode <i>in-vitro</i> sebagai uji tambahan.
3	Guleria <i>et al.</i> , 2021	<i>Pharmacokinetic and molecular docking studies to design antimalarial compounds targeting Actin I</i>	Molekul hasil <i>docking</i> diberi peringkat berdasarkan skor pengikatan, dan pola interaksi yang baik diamati dengan Aktin I di antara 20 molekul teratas. Molekul	Melakukan <i>molecular docking</i> dan <i>molecular dynamics</i> untuk mengembangkan obat antimalaria.	Ligan yang digunakan bukan berasal dari senyawa kimia <i>A. scholaris</i> dan protein yang digunakan hanya <i>Actin I</i> saja.

No	Penulis	Judul	Hasil	Persamaan	Perbedaan
			yang dipilih juga menunjukkan parameter farmakokinetik yang optimal.		
4	Rumbobiar, 2024	Identifikasi dan Analisis Interaksi Senyawa Kimia Pada Kulit Batang Pohon <i>A. scholaris</i> Terhadap Protein <i>P. falciparum</i> dengan Metode Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Q-TOF dan <i>Molecular docking</i>	Ditemukan 13 senyawa yang teridentifikasi berdasarkan grafik <i>retention time</i> , dengan senyawa tertinggi bernama <i>Rhynchophylline</i> dan <i>Cinchonine</i> . Hasil docking menunjukkan senyawa <i>Rhynchophylline</i> dan <i>Cinchonine</i> memiliki afinitas ikatan yang tinggi terhadap protein <i>P. falciparum</i> PfRh5 dan 1LDG sehingga menunjukkan adanya potensi antimalaria.	Melaksanakan <i>molecular docking</i> dan <i>molecular dynamics</i> untuk mengetahui kekuatan afinitas ikatan dan stabilitas kompleks antara protein <i>P. falciparum</i> dan senyawa kimia <i>A. scholaris</i> .	Melakukan identifikasi senyawa kimia terlebih dahulu menggunakan metode LC-MS QTOF. Protein dan senyawa kimia yang diuji juga masih terbatas jumlahnya.

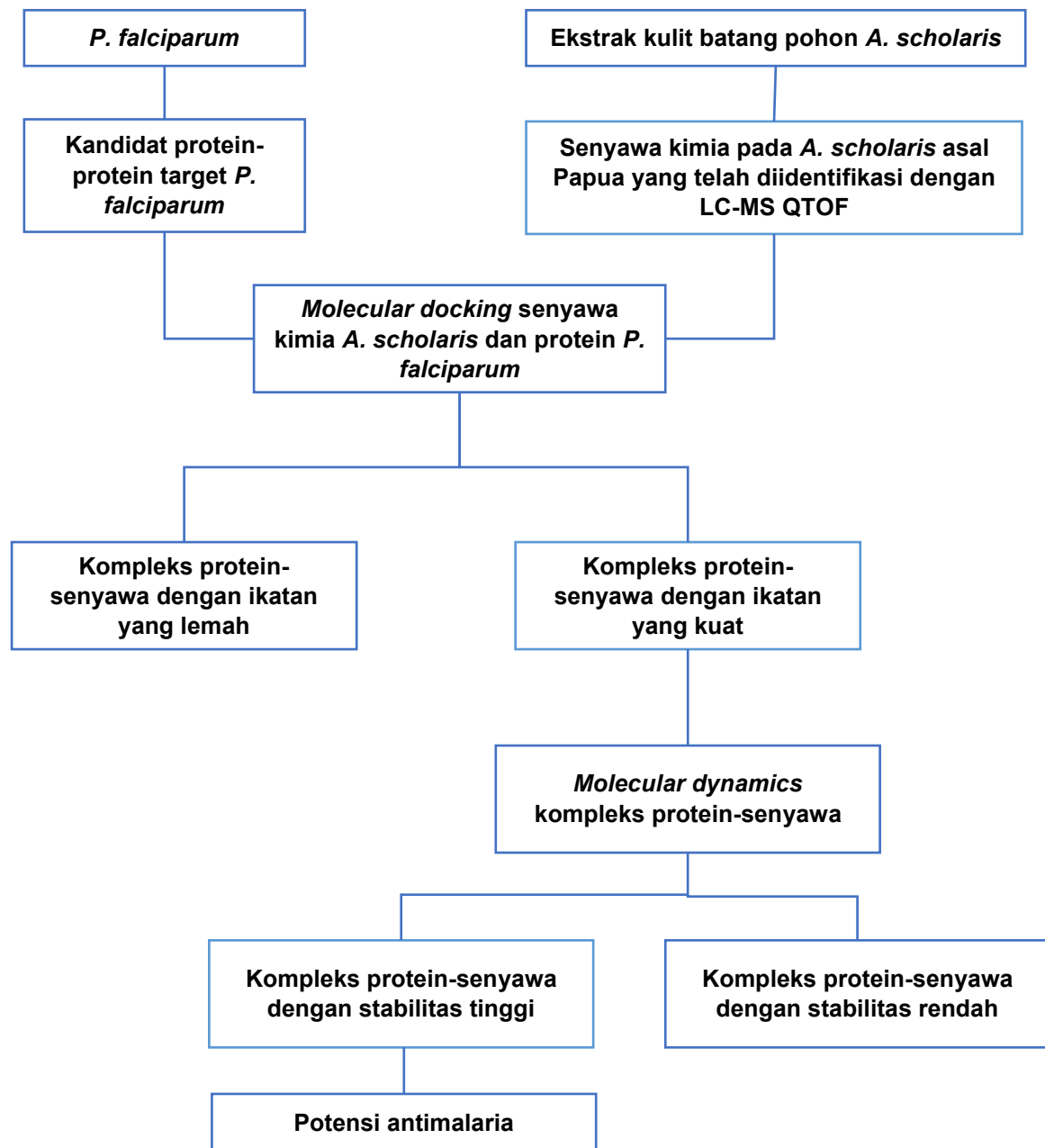
2.3 Kerangka Berpikir

2.3.1 Kerangka Teori



Gambar 2. 3 Kerangka Teori

2.3.2 Kerangka Konsep



Gambar 2. 4 Kerangka Konsep