

**UJI *IN VITRO* EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER BAKTERI
STREPTOMYCES HYGROSCOPICUS SUBSP. *JINGGANGENSIS* DAN
SERRATIA MARCESCENS SEBAGAI ANTI MALARIA**

(Tesis)

Oleh

Rosa Salsabila Reza



**MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

UJI *IN VITRO* EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER BAKTERI *STREPTOMYCES HYGROSCOPICUS* SUBSP. *JINGGANGENSIS* DAN *SERRATIA MARCESCENS* SEBAGAI ANTI MALARIA

Oleh

ROSA SALSABILA REZA

Malaria merupakan salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (*Plasmodium* sp.) ditularkan melalui gigitan nyamuk betina *Anopheles* sp. Upaya menekan kasus malaria dengan pemanfaatan mikroorganisme sebagai anti malaria, diantaranya bakteri *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *jinggagensis* dan *Serratia marcescens*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggagensis* dan *S. marcescens* dan menguji kedua ekstrak tersebut sebagai anti malaria dengan menghitung persen parasitemia, pertumbuhan, dan penghambatan *Plasmodium falciparum* secara *In vitro*, serta aktivitas anti oksidan. Penelitian dilakukan pada bulan September 2020 sampai dengan Maret 2021, menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak kelompok, perlakuan dalam penelitian ini ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggagensis* dan *S. marcescens* dengan konsentrasi 0,01; 0,1; 1; 10; dan 100 µg/mL diujikan secara *In vitro* terhadap *P. falciparum*. Hasil uji kandungan senyawa kimia pada kedua ekstrak metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, triterpenoid/steroid, dan saponin. Pengujian anti malaria ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggagensis* dan *S. marcescens* terhadap *P. falciparum* secara *in vitro* menunjukkan ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* lebih baik dibandingkan ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggagensis*, hal ini ditunjukkan dengan hasil persen parasitemia lebih rendah dan persen pertumbuhan lebih lambat serta persen penghambatan lebih tinggi dibandingkan pada ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggagensis*. Konsentrasi terbaik pada penelitian ini yaitu 100 µg/mL, semakin besar konsentrasi maka persen penghambatan *P. falciparum* semakin besar. Nilai IC₅₀ ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggagensis* sebesar 67,09 µg/mL, dan *S. marcescens* sebesar 57,91 µg/mL. Sehingga pada kedua ekstrak metabolit sekunder tersebut termasuk ke dalam kategori kurang aktif dalam menghambat *P. falciparum*. Uji

aktivitas antioksidan ekstrak metabolit sekunder *S. hygroscopicus* subsp. *jinggangensis* (28112.14 μ g/mL) dan *S. marcescens* (5259.84 μ g/mL), menunjukkan kedua ekstrak metabolit sekunder *S. hygroscopicus* subsp. *jinggangensis* dan *S. marcescens* termasuk ke dalam golongan sangat lemah.

Kata kunci : anti malaria , *Streptomyces hygroscopicus* subsp. *jinggangensis*, *Serratia marcescens*, *Plasmodium falciparum*, *In vitro*

ABSTRACT

IN VITRO TESTING SECONDARY METABOLITE EXTRACT OF BACTERIA *STREPTOMYCES HYGROSCOPICUS* SUBSP. *JINGGANGENSIS* AND *SERRATIA MARCESCENS* AS ANTI MALARIA

By

ROSA SALSABILA REZA

Malaria is an infectious disease caused by a parasite (*Plasmodium* sp.) which is transmitted through the bite of the female *Anopheles* sp. Efforts to suppress malaria cases by using microorganisms as antimalarials, such as the bacterium *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* and *Serratia marcescens*. The purpose of this study was to determine the content of secondary metabolite extract compounds of *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* and *S. marcescens* and tested both extracts as anti-malaria with percentage parasitemia, growth and inhibition of *Plasmodium falciparum* in vitro, and anti-oxidant activity. The study was conducted from September 2020 to March 2021, using an experimental method with a randomized block design, the treatment in this study were the secondary metabolite extract of *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* and *S. marcescens* with five level concentrations 0.01; 0.1; 1; 10; and 100 g/mL were tested in vitro against *P. falciparum*. The results of the chemical compound test on both secondary metabolite extracts were alkaloids, flavonoids, triterpenoids/steroids, and saponins. Antimalarial testing of secondary metabolite extracts of

S. hygrosopicus subsp. *jinggangensis* and *S. marcescens* against *P. falciparum* in vitro showed that the secondary metabolite extract of *S. marcescens* was better than the secondary metabolite extract of *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis*, this was indicated by the results of lower parasitemia percentage, slower growth, and higher inhibition percentages than the secondary metabolite extract of *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis*. The best concentration in this study was 100 g/mL, the greater the concentration, the greater the percentage inhibition of *P. falciparum*. IC₅₀ value of secondary metabolite extracts *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* 67.09 g/mL, and *S. marcescens* 57.91 g/mL. So that the two secondary metabolite extracts were included in the category of less active in inhibiting of parasite *P. falciparum*. Anti-oxidant activity test of secondary metabolite extract of *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* (28112.14µg/mL) and

S. marcescens (5259.84 g/mL), both extracts of secondary metabolites
S. hygrosopicus subsp. *jinggangensis* and *S. marcescens* belong to the very weak group.

Keywords: Anti-malarial, *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *jinggangensis*, *Serratia marcescens*, *Plasmodium falciparum*, *In vitro*

**UJI *IN VITRO* EKSTRAK METABOLIT SEKUNDER BAKTERI
STREPTOMYCES HYGROSCOPICUS SUBSP. *JINGGANGENSIS* DAN
SERRATIA MARCESCENS SEBAGAI ANTI MALARIA**

**Oleh
Rosa Salsabila Reza**

**Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

**Pada
Program Pascasarjana Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

Judul Tesis

: **UJI *IN VITRO* EKSTRAK METABOLIT
SEKUNDER BAKTERI *STREPTOMYCES
HYGROSCOPICUS* SUBSP.
JINGGANGENSIS DAN *SERRATIA
MARCESCENS* SEBAGAI ANTI-MALARIA**

Nama

: **Rosa Salsabila Reza**

NPM

: **1927021017**

Jurusan / Program Studi

: **Magister Biologi**

Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI,

1. **Komisi Pembimbing**



Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed.

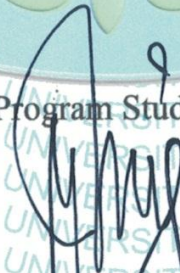
NIP 19640517 198803 2 001



Nismah Nukmal, Ph.D.

NIP 19571115 198703 2 003

2. **Ketua Program Studi Magister Biologi**



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.

NIP 19660305 199103 200 1

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua : **Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed.**



Sekretaris : **Nismah Nukmal, Ph.D.**



Penguji
Bukan Pembimbing 1: **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**



Bukan Pembimbing 2: **Dr. Emantis Rosa, M. Biomed.**

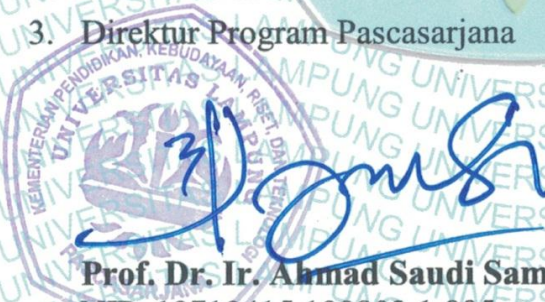


2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Sripto Dwi Yuwono, M.T
NIP. 19740705 200003 1 001

3. Direktur Program Pascasarjana



Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T
NIP. 19710415 199803 1 005

Tanggal Lulus Ujian Tesis : **14 Februari 2022**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa :

1. Tesis dengan judul “Uji *In vitro* Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri *Streptomyces hygroscopicus* Subsp. *jinggangensis* dan *Serratia marcescens* Sebagai Anti Malaria” adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas karya orang lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar akademik serta bersedia menerima tuntutan hukum yang berlaku.

Bandarlampung, Maret 2022

Yang menyatakan,



Kosa Salsabila Reza.
NPM. 1927021017

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 14 Desember 1997, merupakan anak kedua dari 3 bersaudara putri dari Pasangan Bapak Rozali M,Pd dan Ibu Reta Zakiyah S, Km.

Pendidikan SD ditamatkan pada tahun 2009 di SD Kartika Jaya II-5 Bandar Lampung, lalu melanjutkan Pendidikan SMP di SMPN 3 Bandar Lampung dan tamat pada tahun 2012, Melanjutkan Pendidikan SMA di SMAN 4 Bandar Lampung dan lulus pada Tahun 2015. Pada tahun yang sama melanjutkan Ke jenjang Universitas Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Metro dengan mengambil jurusan MIPA program studi Pendidikan Biologi dan meraih gelar Sarjana pendidikan (S. Pd) pada tahun 2019.

Tahun 2019, penulis Tercatat sebagai mahasiswi di program studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Penegtahuan Alam di Universitas Lampung. Penulis dinyatakan lulus sebagai Magister Sains (M. Si.) pada tahun 2022.

MOTTO

“Sistem pendidikan yang bijaksana setidaknya akan mengajarkan kita betapa sedikitnya yang belum diketahui oleh manusia, seberapa banyak yang masih harus dipelajari.” – Sir John Lubbock

“Orang yang hebat adalah orang yang memiliki kemampuan menyembunyikan kesusahan, sehingga orang lain mengira bahwa ia selalu senang.” – Imam Syafi’i

“Someday I’ll be big enough so you can’t hit me, and all you’re ever gonna be is mean.” - Taylor Swift

“ Hal buruk sekali pun dapat terlihat baik dan berharga apabila kita bisa melihat dengan pandangan yg baik” - Penulis

SANWACANA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Uji In Vitro Ekstrak Metabolit Sekunder Bakteri *Streptomyces Hygroscopicus* Subsp. *Jinggangensis* dan *Serratia Marcescens* Sebagai Anti Malaria” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.

Ucapan terimakasih penulis haturkan kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan, bantuan, saran, serta kritik sehingga tesis ini dapat diselesaikan, antara lain kepada :

1. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M. Biomed. selaku pembimbing utama yang telah memberikan arahan serta membimbing dalam penulisan tesis ini sampai selesai.
2. Ibu Nismah Nukmal, Ph.D selaku pembimbing kedua yang telah memberikan arahan serta membimbing dalam penulisan tesis ini sampai selesai.
3. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc selaku pemaahas pertama atas kesediaan meluangkan waktunya untuk memberikan arahan serta kritik dan saran sehingga tesis ini menjadi lebih baik
4. Ibu Dr. Emantis Rosa, M. Biomed atas kesediaan meluangkan waktunya untuk memberikan arahan serta kritik dan saran sehingga tesis ini menjadi lebih baik
5. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Universitas Lampung
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Lampung

7. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
8. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung
9. Bapak Ir. Salman Farisi. M.Si selaku kepala Laboratorium Mikrobiologi serta Mba Oni yang sudah mengizinkan penulis melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi
10. Kedua orang tua ku yang selalu tidak berhenti mendoakan yang terbaik serta memberikan semangat dan dukungan hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
11. Abang, adik, kakak ipar, dan ponakan tersayang yang telah memberikan motivasi serta tempat bertukar pikiran serta keluh kesah dalam proses penulisan tesis ini
12. Seluruh sahabat yang tidak bisa disebutkan satu persatu karena sudah menjadi saksi bisu dalam proses penulisan tesis ini.
13. Seluruh dosen dan civitas akademis Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung terimakasih karena telah memberikan Ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan
14. Teman-teman Magister Biologi angkatan 2019 Universitas Lampung
15. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta

Demikianlah, semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi setiap yang membacanya.

Bandar Lampung, 14 Februari 2022

Rosa Salsabila Reza

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan rasa syukur kepada ALLAH- SWT atas segala limpahan rahmat, ridho, dan karunia-nya yang tak henti-hentinya diberikan, kupersembahkan karya ku ini kepada

Kedua Orang tua ku Ibunda Reta Zakiyah A.Md. dan Ayahanda Rozali M.Pd. sebagai motivasi dan penyemangat-ku nomor 1 yang selalu membimbing, yang selalu memberikan limpahan kasih sayang yang tak terhingga dan selalu berusaha memberikan yang terbaik, yang tidak pernah berhenti memberikan doa serta dukungan secara moril maupun materi sampai detik ini demi keberhasilan studi anakmu.

Ucapan terimakasih juga kepada diriku sendiri, karena sudah mampu bertahan sampai titik ini dengan segala proses manis dan pahit dalam menghadapi segala terpaan, cobaan, dan hinaan serta hal negatif lainnya dari beberapa pihak yang dapat menjatuhkan semangat. Terimakasih karena telah menjadi pribadi yang kuat serta terus mencoba belajar untuk melakukan yang terbaik dan menjadi baik kepada orang lain meskipun terkadang dinilai buruk oleh orang lain. Semoga kelak aku bisa menjadi manusia sukses yang memiliki fikiran luas & positif serta tidak menjadi manusia yang mudah membenci dan menilai segala sesuatu buruk.

DAFTAR ISI

COVER	
ABSTRAK	
LEMBAR PENGESAHAN	
LEMBAR PERNYATAAN	
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	4
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Kerangka Pemikiran.....	5
1.5 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Streptomyces hygrosopicus</i>	7
2.2 <i>Serratia marcescens</i>	8
2.3 Senyawa Bioaktif	10
2.4 Malaria	12
2.4.1 <i>P. falciparum</i>	12
2.4.2 <i>P. vivax</i>	13
2.4.3 <i>P. malariae</i>	14
2.4.4 <i>P. ovale</i>	15
2.4.5 <i>P. knowlesi</i>	16
2.5 Uji <i>In vitro</i>	17
2.6 Aktivitas Anti Oksidan	18
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.2 Alat dan Bahan.....	21
3.2.1 Alat	21
3.2.2 Bahan	22
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1 Pembuatan Ekstrak metabolit sekunder <i>S.hygrosopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	22

3.4.1.1 Kultur Produksi.....	22
3.4.2 Uji Senyawa kimia Ekstrak metabolit sekunder metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	23
3.4.3 Uji Anti Malaria Secara <i>In vitro</i>	25
3.4.1 Uji Anti Oksidan <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	28
3.5 Analisis Data	29
3.6 Diagram Alir Penelitian	29

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil	32
4.1.1 Senyawa kimia <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	32
4.1.2 Uji Anti Malaria	33
4.1.3 Nilai IC ₅₀	41
4.1.4 Uji Antioksidan	41
4.2 Pembahasan.....	43
4.2.1 Senyawa kimia <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	43
4.2.2 Uji Anti Malaria secara <i>In vitro</i>	44
4.2.3 Nilai IC ₅₀	46
4.2.4 Uji Anti oksidan ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	47

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan	49
5.2 Saran	49

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Penggolongan Nilai IC ₅₀ Anti Malaria.....	28
Tabel 2.	Penggolongan Nilai IC ₅₀ Antioksidan	29
Tabel 3.	Hasil uji senyawa kimia ekstrak metabolit sekunder metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	34
Tabel 4.	Hasil analisis <i>Anova</i> ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap persen Parasitemia <i>P. falciparum</i>	35
Tabel 5.	Persen parasitemia ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap <i>P. falciparum</i> setelah 48 jam perlakuan	35
Tabel 6.	Hasil analisis <i>Anova</i> Persen pertumbuhan ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus subsp</i> <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap <i>P. falciparum</i>	37
Tabel 7.	Persen pertumbuhan ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap <i>P. falciparum</i> setelah 48 jam perlakuan	38
Tabel 8.	Hasil analisis ragam <i>Anova</i> ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap Persen penghambatan <i>P. falciparum</i>	40
Tabel 9.	Persen penghambatan ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap <i>P. falciparum</i> setelah 48 jam perlakuan	40
Tabel 10.	Nilai IC ₅₀ uji aktivitas anti malaria ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i> terhadap <i>P. falciparum</i>	41
Tabel 11.	Hasil uji aktivitas anti oksidan ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygrosopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Morfologi mikroskopis <i>S. hygroscopicus</i> perbesaran 100X (Dok pribadi, 2020)	8
Gambar 2.	Morfologi makroskopis <i>S. marcescens</i> perbesaran 100 X (Aryal, 2019)	10
Gambar 3.	Sel darah merah yang terinfeksi <i>P. vivax</i> fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Kusuma et al., 2014)	13
Gambar 4.	Sel darah merah yang terinfeksi <i>P. vivax</i> fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Loupa et al., 2012).....	14
Gambar 5.	Sel darah merah yang terinfeksi <i>P. malariae</i> fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Silamut et al., 1999)	15
Gambar 6.	Sel darah merah yang terinfeksi <i>P. ovale</i> fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Silamut et al., 1999)	16
Gambar 7.	Sel darah merah yang terinfeksi <i>P. knowlesi</i> fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) trofozoit, (c) skizon, (d) skizon pada perbesaran 100x (Milliar dan Singh, 2015).....	17
Gambar 8	Diagram Alir Produksi Metabolit Sekunder <i>S.hygroscopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> dan <i>S.marcescens</i>	30
Gambar 9	Diagram Alir Uji Anti Malaria Terhadap <i>P. falciparum</i>	31
Gambar 10.	Hasil uji senyawa kimia <i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> (A) Uji positif alkaloid, (B) Uji positif triterpenoid/steroid, (C) Uji positif flavonoid	32
Gambar 11.	Hasil uji senyawa kimia <i>S. marcescens</i> (A) Uji positif alkaloid, (B) Uji positif saponin	33
Gambar 12.	Boxplot persen parasitemia <i>P. falciparum</i> berdasarkan konsentrasi	34
Gambar 13.	Boxplot persen parasitemia berdasarkan jenis bakteri <i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> (A) dan <i>S. marcescens</i> (B)	34
Gambar 14.	Boxplot persen pertumbuhan <i>P. falciparum</i> berdasarkan konsentrasi	36
Gambar 15.	Boxplot persen pertumbuhan berdasarkan jenis bakteri <i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> (A) dan <i>S. marcescens</i> (B)	37

Gambar 16.	Boxplot persen penghambatan <i>P. falciparum</i> berdasarkan konsentrasi	39
Gambar 17.	Boxplot persen penghambatan berdasarkan jenis bakteri <i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>Jinggangensis</i> (A) dan <i>S. marcescens</i> (B)	39
Gambar 18.	Grafik persentase inhibisi ekstrak metabolit sekunder <i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i> dan <i>S. marcescens</i>	42

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Malaria disebabkan oleh parasit (*Protozoa*) genus *Plasmodium* yang menyebar melalui gigitan nyamuk *Anopheles* sp. betina yang berkembang biak di sel darah merah manusia (Fitriani dan Ahmad, 2018). Sampai saat ini malaria sebagai penyakit menular di Indonesia masih menjadi masalah, dikarenakan Indonesia beriklim tropis yang ideal bagi berkembang biaknya vektor penyakit malaria yaitu nyamuk *Anopheles* sp. Hal inilah yang menjadi dasar bahwa Indonesia memiliki resiko penularan malaria.

Terdapat lima spesies plasmodium penyebab malaria pada manusia, yaitu: *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malaria*, *P. ovale*, dan *P. knowlesi*. Spesies paling berbahaya bagi manusia yaitu *P. falciparum* karena dapat menyebabkan infeksi akut pada ginjal, hati, dan otak sehingga berdampak kematian. Selain itu dapat juga ditemukan gejala lain seperti nyeri kepala, mual, muntah, diare, pegal - pegal, dan nyeri otot. Gejala tersebut banyak ditemukan pada masyarakat yang tinggal di daerah endemis malaria (Prabowo *et al.*, 2019).

Terdapat sekitar 2,3 miliar atau 41% dari jumlah penduduk dunia beresiko mengalami malaria. Setiap tahun diperkirakan sekitar 300 - 500 juta penduduk dunia menderita penyakit ini dan mengakibatkan 1,5 - 2,7 juta kematian baik pada bayi, balita maupun ibu hamil terutama di negara -negara benua Afrika. Pada tahun 2010, terdapat 216 juta kasus malaria terjadi di seluruh dunia dan sekitar 655.000 orang meninggal dunia (Iqbal *et al.*, 2013).

Kasus malaria sepanjang tahun 2019 di Indonesia tercatat sebanyak 250.644 kasus. Berdasarkan data trend kasus positif malaria (*Annual Parasite Incidence*) atau API, masih banyak ditemukan daerah endemis malaria, di Indonesia. Kasus malaria banyak terkonsentrasi di Kawasan Timur Indonesia, seperti Papua, Papua Barat, dan Provinsi Nusa Tenggara Timur, sementara hanya terdapat satu provinsi di luar wilayah timur yang masih memiliki endemis tertinggi yaitu Provinsi Kalimantan Timur, tepatnya di Kabupaten Penajaman Paser Utara. Namun, kasus tertinggi yaitu sekitar 86% terjadi di Provinsi Papua sebanyak 216.380 kasus. Selanjutnya, disusul oleh Provinsi Nusa Tenggara Timur sebanyak 12.909 kasus dan Provinsi Papua Barat sebanyak 7.079 kasus (Kemenkes RI, 2019).

Provinsi Lampung merupakan wilayah yang termasuk ke dalam daerah endemis malaria terutama di kabupaten Pesawaran, hal ini dikarenakan masih banyak ditemukan rawa-rawa, genangan air payau di tepi laut, dan tambak yang merupakan tempat ideal perkembangbiakan nyamuk *Anopheles*. Angka *Annual Parasite Incidence* (API) di Provinsi Lampung tertinggi ada di Kabupaten Pesawaran sebesar (6,36), Pesisir Barat (3,47), dan Kota Bandar Lampung (0,58). Menurut data terbaru pada tahun 2016, API Kabupaten Pesawaran mengalami penurunan menjadi 4,44 per 1000 penduduk (Dinas Kesehatan Kabupaten Pesawaran, 2017).

Kemenkes RI 2020 menyatakan, periode 2020 – 2024 merupakan periode penting. Pemerintah menargetkan Indonesia bebas malaria khususnya di beberapa daerah dengan endemis tinggi seperti Pulau Sumatera, Nusa Tenggara Barat (NTB), Kalimantan dan Sulawesi ditargetkan bebas malaria. Target akhir, Papua Barat, Maluku, Maluku Utara dan Nusa Tenggara Timur (NTT) bersih dari malaria.

Salah satu hambatan pemerintah dalam membebaskan daerah endemis malaria yaitu terdapatnya kasus resistensi parasit malaria yang terus mengalami peningkatan terhadap obat – obatan anti malaria yang digunakan masyarakat, hal ini menjadi perhatian utama bagi peneliti untuk mencari

sumber anti malaria terbaru sehingga mampu menggantikan dan menekan resistensi karena prevalensi malaria yang masih jauh dari angka yang diharapkan.

Jenis obat-obatan anti malaria yang banyak beredar di Indonesia diantaranya klorokuin, sulfadoksin– pirimetamin, kina, primakuin, dan artemeter. Perkembangan Obat anti malaria disesuaikan dengan kebutuhan daerah geografis malaria dan penggunaan obat anti malaria harus sesuai dengan kebutuhan daerah. Penggunaan obat anti malaria baru perlu dibatasi, hanya pada kasus yang gagal dengan obat standar. Untuk mendapatkan obat anti malaria yang mendekati ideal dan untuk memperlambat terjadinya galur *P.falciparum* resisten terhadap obat dianjurkan menggunakan kombinasi obat yang sesuai (Azlin, 2004).

Salah satu cara yang dilakukan untuk mengatasi masalah resistensi antimalaria adalah melalui eksplorasi senyawa aktif dari mikroorganisme seperti bakteri yang dapat dimanfaatkan masyarakat untuk mengobati malaria di berbagai daerah endemik di Indonesia bahkan didunia. Saat ini penelitian mengenai kelompok bakteri yang banyak dilakukan yaitu terhadap kelompok bakteri genus *Streptomyces* yang dikenal mampu menghasilkan metabolit sekunder yang berperan sebagai antimalaria disamping berfungsi sebagai antiviral, antiparasit, antitumor, anti oksidan, *plant growth*, herbisida, dan peptisida, dan masih banyak lainnya.

Salah satu jenis *Streptomyces* yang diduga mampu sebagai antimalaria adalah *Streptomyces hygroscopicus* isolat Indonesia diketahui berpotensi sebagai antimalaria melalui metabolit sekunder tersebut dan terdapat senyawa seperti eponemycin dan tryptanthrin yang terbukti menghambat *P. falciparum* yang merupakan penyebab malaria terberat. Penelitian sebelumnya menyebutkan fraksi metabolit sekunder tersebut masih memiliki banyak kandungan dan analisis fraksi lanjutan disertai uji toksisitas diperlukan untuk mengetahui variasi senyawa demi menemukan komponen antimalaria efektif (Prasetya, 2021).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan mengenai penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* oleh metabolit sekunder *Streptomyces* sp. memiliki kandungan senyawa kimia aktif yang berperan sebagai penghambat protease pada tripsin, kimotripsin dan proteinase. Protease dibutuhkan oleh merozoit untuk merusak dan menyerang eritrosit sehingga hemoglobin mengalami penurunan. Selain itu terdapat mekanisme lain yaitu karakteristik sitotoksik seperti senyawa steroid (ergosterol) dan terpenoid yang terdapat dalam genus *Streptomyces* sp. (Karthik *et al.*, 2014).

Berdasarkan permasalahan di atas maka dilakukan pengujian kandungan senyawa kimia metabolit sekunder ekstrak *S.hygroscopicus* subsp. *jinggangensis* dan *S.marcescens* yang diduga berpotensi sebagai anti malaria terhadap *P. falciparum*.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Kandungan senyawa kimia ekstrak metabolit sekunder *S. hygroscopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S.marcescens*
2. Potensi ekstrak metabolit sekunder *S. hygroscopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S.marcescens* sebagai anti malaria terhadap *P. falciparum* secara *In vitro*.
3. Aktivitas antioksidan ekstrak metabolit sekunder *S. hygroscopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S.marcescens*

1.3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kandungan senyawa kimia ekstrak metabolit sekunder *S.hygroscopicus* subsp *jinggangensis* dan *S.marcescens* serta potensinya sebagai anti malaria terhadap *P. falciparum* secara *In vitro* dan mengetahui aktivitas antioksidan.

1.4. Kerangka Pemikiran

Malaria merupakan salah satu penyakit menular yang masih banyak terjadi di Indonesia, terutama pada daerah endemis. Tercatat 250.644 kasus terjadi di Indonesia pada tahun 2019. Penularan malaria dapat dengan cara alamiah melalui nyamuk *Anopheles* sp. yang terinfeksi plasmodium secara langsung menggigit manusia dan melalui manusia yang memiliki riwayat penyakit malaria menularkannya pada orang lain bahkan pada bayi. Malaria dapat menginfeksi semua kelompok umur. Kelompok umur yang beresiko dalam penularan malaria yaitu bayi, anak balita, dan ibu hamil.

Penderita malaria umumnya mengalami gejala awal berupa sakit kepala hebat, kebingungan, badan lesu, muntah, hingga mengalami kelemahan yang menyebabkan koma. Adanya kasus malaria yang terus terjadi mendorong masyarakat untuk mencari obat-obatan anti penyakit malaria ditambah terjadinya resistensi anti malaria di beberapa tempat, mendorong untuk dilakukannya eksplorasi mikroorganisme sebagai antimalaria.

Adanya resistensi obat malaria maka terus dicari alternatif anti malaria yang aman sehingga tidak membahayakan dan memiliki efek samping dalam jangka waktu yang panjang. Saat ini sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari alternatif sebagai bahan antimalaria yang berasal dari tumbuhan namun pemanfaatan mikroorganisme yang berpotensi sebagai anti malaria masih sedikit dilakukan. Kandungan dari *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S.marcescens* yaitu alkaloid, flavonoid dan tritepernoid dapat berpotensi sebagai anti malaria akan menghambat pertumbuhan parasit penyebab malaria.

Atas dasar permasalahan di atas maka dilakukan pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S.marcescens*. Diharapkan penelitian ini dapat berpotensi sebagai antimalaria.

1.5. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah

1. Kandungan senyawa ekstrak metabolit sekunder metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* berbeda dengan *S. marcescens*
2. Ekstrak metabolit sekunder metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* berbeda potensinya sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum* secara *In vitro* daripada *S. marcescens*.
3. Aktivitas antioksidan ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* berbeda dengan *S. marcescens*

II. TINJAUAN PUSTAKA

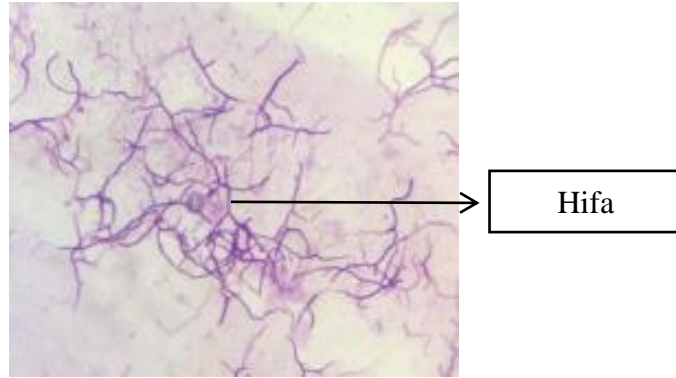
2.1 *Streptomyces hygroscopicus*

Genus *Streptomyces* termasuk dalam golongan ordo Actinomycetes dan famili Streptomycetaceae yaitu bakteri dengan struktur khas karena memiliki kemampuan pembentukan hifa atau filamen, sehingga sekilas tampak seperti jamur. Akan tetapi, genus *Streptomyces* bersifat selayaknya prokariota lainnya karena tidak memiliki membran pada inti selnya (Kawuri, 2016).

Klasifikasi *S. hygroscopicus* menurut (Jensen, 1931) sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteria
Ordo	: Actinomycetales
Famili	: Streptomycetaceae
Genus	: <i>Streptomyces</i>
Species	: <i>Streptomyces hygroscopicus</i>
Sub species	: <i>Streptomyces hygroscopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i>

Pengamatan Karakterisasi bakteri *S. hygroscopicus* secara morfologi berbentuk bulat dan berwarna hitam. Bakteri *S. hygroscopicus* memiliki ciri yaitu termasuk kedalam gram positif, memiliki endospora menghasilkan hifa (Gambar 1). Hal ini yang menjadi ciri ordo Actinomycetes (Rivo *et al.*, 2013).



Gambar 1. Morfologi mikroskopis *S. hygroscopicus* perbesaran 100X (Dok pribadi, 2020)

Seluruh genus *Streptomyces* memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder termasuk *S. hygroscopicus*. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *S. hygroscopicus* memiliki kandungan eponemycin yang berperan sebagai aktivitas anti tumor dengan cara menghambat fungsi proteasom dan selanjutnya mengganggu kerja sistem *ubiquitin-proteasome* yang menyebabkan perubahan morfologi sel dan berakhir pada kematian (Fitri *et al.*, 2019).

Actinomycetes dalam satu spesies dapat memiliki karakter morfologi dan fisiologi yang berbeda, seperti pada *S. hygroscopicus* dan *S. hygroscopicus* subsp. *decoyinus*. Satu spesies yang sama-sama *S. hygroscopicus* tersebut memiliki perbedaan warna koloni, kemampuan asimilasi gula, toleransi salinitas dan pH, serta resistensi beberapa jenis antibiotik. Walaupun demikian, sekuen gen 16S rRNA kedua isolat tersebut identik (Esnard *et al.*, 1995).

2.2 *Serratia marcescens*

S. marcescens merupakan mikroorganisme berbentuk batang yang dapat hidup pada kondisi anaerob fakultatif. Pertumbuhan awal bakteri dengan memanfaatkan sumber karbon untuk metabolit primer, setelah melewati fase pertumbuhan bakteri, dilanjutkan dengan fase stationer awal sebagai terbentuknya metabolit sekunder. Metabolit sekunder seperti pigmen tidak

mendukung pertumbuhan dari bakteri dan produksinya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Naufal, 2017).

Kemampuan bakteri *S. marcescens* berupa *prodigiosin* atau sebagai penghasil pigmen berwarna merah dan hidup secara anaerob, memiliki kelebihan yang bermanfaat. Hal ini lah yang menyebabkan *S. marcescens* berpotensi sebagai antifungi, antibakteri, algicidal, antiprotozoal, aktivitas antimalaria, immunosuppressif dan aktivitas antikanker (Samrot *et al.*, 2011).

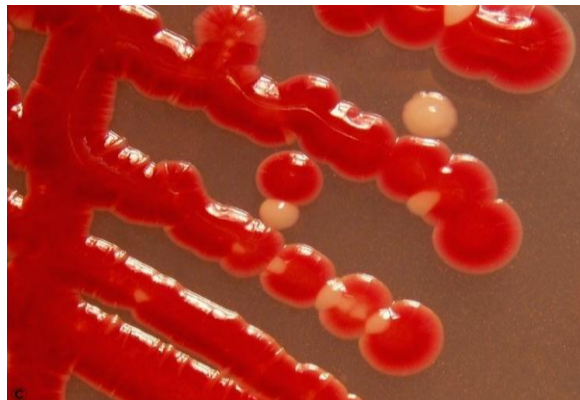
Selain berkemampuan untuk *prodigiosin* (Pembentuk pigmen berwarna merah), *S. marcescens* juga sebagai penghasil enzim kitinase dan termasuk bakteri paling efektif untuk mendegradasi kitin. Sebagaimana telah diketahui bahwa struktur dinding sel tersusun dari kitin, dengan demikian kitinase dari *S. marcescens* dapat menjadi biopestisida untuk mengontrol organisme pengganggu tanaman yang disebabkan oleh cendawan (Nasiroh *et al.*, 2015).

Enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri *S. marcescens* dapat mendegradasi kitin menjadi (*Nasetilglukosamin*) adanya kemampuan ini maka bakteri *S. marcescens* tergolong bakteri kitinolitik. Organisme pendegradasi kitin umumnya berasal dari kelompok mikroorganisme yang banyak dihasilkan dari kelompok bakteri. Bakteri yang dilaporkan memiliki aktivitas kitinase antara lain *Vibrio furnissi*, *S. marcescens*, *Bacillus circulans*, *Bacillus turingensis subsp, pakistani* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Dalimunthe *et al.*, 2017).

Klasifikasi ilmiah bakteri *S. marcescens* menurut Bergey *et al.*, 1984.

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Proteobakteri
Kelas	: Gamma Proteobakteri
Ordo	: Enterobacteriales
Familyi	: Enterobacteriaceae
Genus	: Serratia
Spesies	: <i>Serratia marcescens</i>

Bakteri *S. marcescens* berbentuk batang dan beberapa galur membentuk kapsul (Gambar 2), bakteri ini juga termasuk organisme yang bergerak dengan cepat (Motil) karena memiliki *flagela peritrik*. Bakteri *S. marcescens* dapat tumbuh pada suhu 5° C sampai dengan 40° C dengan kisaran pH antara 5-9. Selain itu bakteri ini juga dapat menghasilkan serawetin, senyawa surfaktan yang membantu dalam proses kolonisasi (Hejazi & Falkiner, 1997).



Gambar 2. Morfologi makroskopis *S. marcescens* perbesaran 100 X (Aryal, 2019)

Bakteri *S. marcescens* atau biasa dikenal *Chromobacterium prodigiosum* termasuk kedalam bakteri Gram negatif dari keluarga *Enterobacteriaceae*. *S. marcescens* sudah banyak dimanfaatkan pada penelitian sebelumnya di bidang kesehatan karena memiliki riwayat sebagai penyebab infeksi pencernaan pada manusia. Bakteri *S. marcescens* banyak ditemukan di perairan, tanah, permukaan daun, dalam tubuh serangga, hewan, dan manusia. Selain itu *S. marcescens* juga memiliki kemampuan hidup pada keadaan ekstrim misalnya pada lingkungan yang terpapar antiseptik, disinfektan, dan pada air destilasi (Mame & Costerton, 1998).

2.3 Senyawa Bioaktif

Genus *Streptomyces* di kenal sebagai penghasil senyawa bioaktif dengan spektrum cukup luas sehingga dapat berfungsi sebagai antibiotik, antikanker, antiinflamasi, antifungi dan antivirus. Dalam konsentrasi rendah, mikroba

mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba lain. Peranan mikroba belakangan ini sangat menarik untuk diteliti karena mikroba dapat menghasilkan berbagai macam senyawa bioaktif metabolit sekunder yang bermanfaat, salah satunya adalah antimikroba. Antimikroba ini selanjutnya sering dikenal sebagai antibiotik (Lestari, 2016).

Mikroba penghasil antibiotik meliputi 70% Actinomycetes, 20% fungi, dan 10% mikroba lainnya. Genus *Streptomyces* merupakan kelompok penghasil antibiotik yang paling banyak jumlahnya. Kemampuan *Streptomyces* sp. dalam hal merusak membran sel dan menghambat sintesis protein banyak dijadikan sebagai alasan pemanfaatan streptomycetes sebagai antibakteri, antibiotik, anti jamur, dll (Kumalasari, 2012).

Menurut Mentari *et al.*, 2019 dalam penelitiannya menunjukkan isolat *Streptomyces* sp. *GMR22* memiliki spektrum metabolit sekunder cukup bervariasi, hal ini disebabkan kandungan *Streptomyces* sp. *GMR22* memiliki gen *Non Ribosomal Peptide Synthetase* (NRPS) and *Polyketide Synthase* (PKS) yang dapat memproduksi metabolit sekunder dengan variasi cukup banyak, baik fungsi maupun struktur senyawanya (Mentari *et al.*, 2019).

Bakteri kelompok *Streptomyces* memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa metabolit sekunder dipengaruhi oleh kemampuan dalam berkomunikasi antar bakteri lainnya, yang disebut sebagai *Quorum Sensing* (QS). Senyawa metabolit sekunder diproduksi melalui gen ekspresinya bergantung pada kepadatan sel yang berkomunikasi untuk menyesuaikan diri terhadap lingkungannya. Selain senyawa metabolit sekunder dihasilkan juga perubahan fenotipe atau pembentukan biofilm (Hadiwiyono, 2009).

Bakteri termasuk dalam genus *Streptomyces* secara luas dikenal sebagai penghasil metabolit sekunder yang tidak hanya digunakan sebagai pengobatan pada hewan dan manusia juga digunakan terhadap tumbuhan dan inangnya. Sebagai contoh *S. aureofaciens* menghasilkan chlortetracycline dan Tetrasiklin yang dimanfaatkan sebagai antibiotik terhadap bakteri bekerja dengan cara mengganggu metabolisme pada bakteri (Ripa *et al.*, 2010).

Streptomyces sebagai penghasil metabolit sekunder ditemukan di habitat alami seperti laut dan tanah. Produksi metabolit sekunder dari genus *Streptomyces* dipengaruhi oleh kebutuhan gizi dan kondisi lingkungan yang memegang peranan penting dalam produksi metabolit sekunder salah satunya pH antara 7-7,5 dengan minimal suhu 30° (Khattab *et al.*, 2016).

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *S. marcescens* salah satunya adalah pigmen prodigiosin. Pigmen ini berpotensi digunakan dalam bidang medis yaitu sebagai antibiotik dan alternatif antimalaria (Manzila *et al.*, 2014).

2.4 Malaria

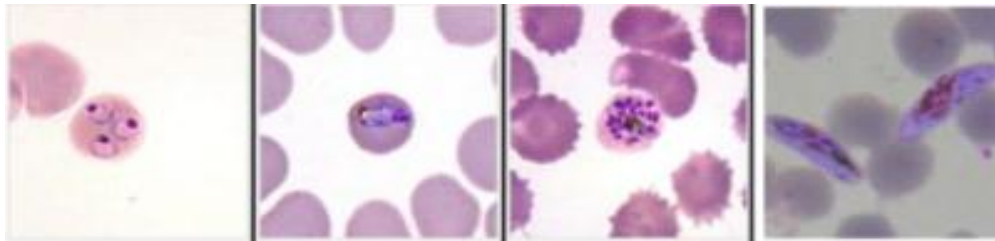
Malaria merupakan salah satu penyakit yang masih menjadi masalah di Indonesia. Penularan malaria disebabkan oleh protozoa genus Plasmodium melalui gigitan nyamuk Anopheles betina lalu berkembang biak di sel darah manusia. Parasit Plasmodium memiliki karakteristik siklus hidup yang terjadi dua tahap, secara aseksual dan seksual. Perkembangbiakan secara aseksual terjadi di dalam tubuh manusia, secara seksual terjadi di tubuh nyamuk Anopheles betina. Tahap aseksual di tubuh manusia terbagi lagi menjadi fase *exo-erythrocytic* pada hati dan fase *erythrocytic* pada darah. Di fase *erythrocytic* parasit akan berkembang biak menjadi tiga stadium yang biasa terlihat pada proses identifikasi penyakit malaria. Tiga stadium tersebut adalah trofozoit, skizon, dan gametosit. Malaria di bedakan dalam 5 jenis berdasarkan jenis parasit (Febriani, 2020).

2.4.1 *P. falciparum*

P. falciparum jenis parasit yang menyebabkan malaria tropika. Malaria tropika merupakan jenis penyakit malaria terberat dan penyebab terbesar kematian akibat malaria. Malaria tropika ini satu-satunya malaria yang menimbulkan penyakit mikrovaskular karena *P. falciparum* berkembang biak sangat cepat dalam tubuh manusia

sehingga dapat menyebabkan kehilangan darah dalam jumlah banyak dan menyumbat pembuluh darah. Sehingga dapat menyebabkan berbagai komplikasi berat seperti cerebral malaria (malaria otak), anemia berat, syok, gagal ginjal akut, pendarahan, sesak nafas.

P. falciparum, parasit ini sering menghalangi jalan darah ke otak, menyebabkan koma, mengigau, hingga kematian (Fitriani, 2017). Morfologi *P. falciparum* terbagi kedalam 3 fase (Gambar 3) yaitu trophozoit yang merupakan fase awal pertumbuhan parasit, fase skizon proses pembiakan, dan terakhir yaitu fase gametosit yaitu proses pembentukan kelamin (Kusuma *et al.*, 2014).



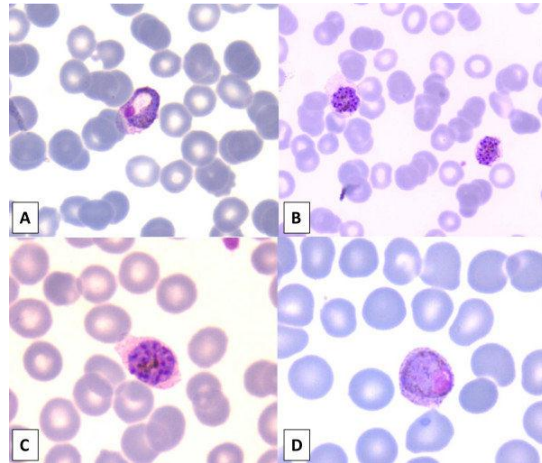
Gambar 3. Sel darah merah yang terinfeksi *P. falciparum* fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Kusuma *et al.*, 2014)

2.4.2 *P. vivax*

P. vivax merupakan jenis parasit yang menyebabkan malaria tertiana. Malaria jenis ini termasuk jenis malaria yang paling ringan diantara jenis yang lainnya karena, tidak menimbulkan gejala apapun di tubuh inangnya hingga beberapa bulan atau tahun setelah gigitan nyamuk terjadi. Umumnya timbul dengan gejala demam dapat terjadi setiap dua hari sekali setelah gejala pertama terjadi biasanya 2 minggu setelah terinfeksi gigitan nyamuk *Anopheles* sp (Nugroho, 2011).

Fase trofozoit *P. vivax* diawali dengan bentuk cincin dengan satu kromatin dan berkembang namun belum terlihat jelas bentuknya. Sel darah merah yang terinfeksi akan terlihat lebih besar jika dibandingkan dengan yang tidak terinfeksi. Stadium skizon memiliki banyak kromatin

yang disertai dengan sitoplasma. Pada stadium gametosit, parasit akan berkembang dan berubah menjadi padat sehingga berbentuk bulat atau lonjong (Gambar 4) (Loupa *et al.*, 2012)

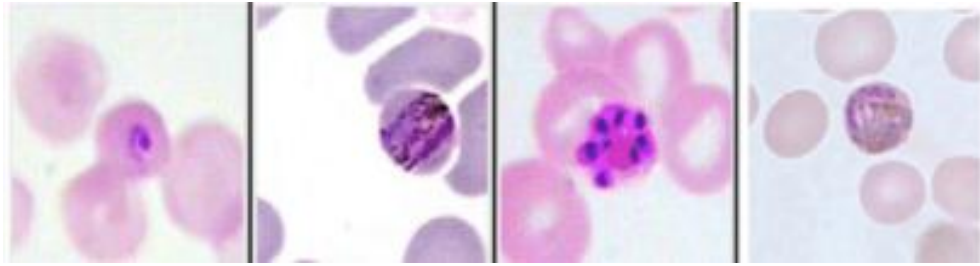


Gambar 4. Sel darah merah yang terinfeksi *P. vivax* fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Loupa *et al.*, 2012)

2.4.3 *P. malariae*

P. malariae jenis parasit yang menyebabkan malaria quartana. Malaria jenis ini memiliki masa inkubasi lebih lama daripada penyakit malaria tertiana atau tropika. Gejala pertama biasanya terjadi antara 18 sampai 40 hari setelah infeksi terjadi. Gejala tersebut kemudian akan terulang kembali setiap 3 hari (Fitriani, 2018).

P. malariae memiliki parasit kompak dan tidak mengubah eritrosit host atau menyebabkan pembesaran. Trofozoit memanjang membentang di eritrosit, dikenal dengan istilah “band form”. Schizonts memiliki 8-10 merozoit yang sering diatur dalam pola roset dengan rumpun pigmen di tengah (Gambar 5) (Silamut *et al.*, 1999).

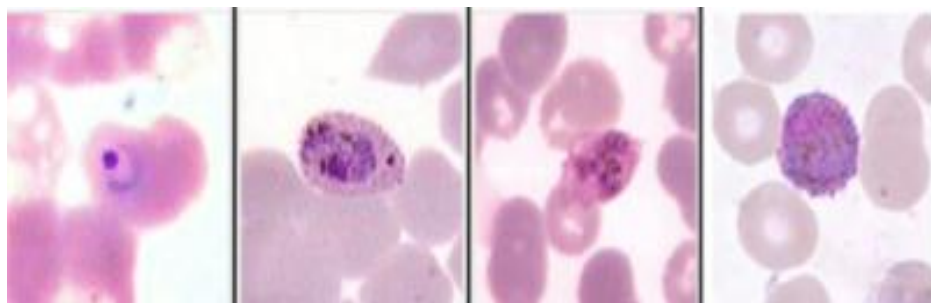


Gambar 5. Sel darah merah yang terinfeksi *P. malariae* fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Silamut *et al.*, 1999)

2.4.4 *P. ovale*

P. ovale jenis parasit malaria yang paling jarang ditemukan menyebabkan malaria ovale. Jenis malaria ini disebabkan oleh *P. ovale* yang mirip dengan malaria tertiana. Gejala klinik malaria ovale memiliki kesamaan dengan malaria vivax. *P. ovale* banyak ditemukan di daerah tropik Afrika yang termasuk ke dalam daerah endemik malaria (Setyaningrum, 2020).

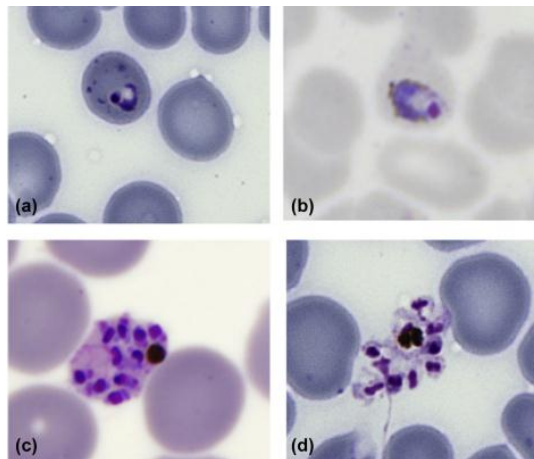
Fase trophozoit memiliki bentuk bulat dengan granula pigmen yang lebih kasar. Eritrosit agak membesar dan sebagian besar berbentuk oval dan pinggirannya bergerigi. Fase skizon berbentuk bulat ketika matang skizon mengandung 8-10 merozoit (Gambar 6), yang terletak di tepi mengelilingi granula pigmen yang berkelompok di tengah. Stadium gametosit, yaitu makrogametosit berbentuk bulat dengan inti kecil (Silamut *et al.*, 1999)



Gambar 6. Sel darah merah yang terinfeksi *P. ovale* fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) skizon, (c) merozoit, (d) makrogametosit pada perbesaran 100x (Silamut *et al.*, 1999)

2.4.5 *P. knowlesi*

P. knowlesi dikenal sebagai penyebab kelima infeksi malaria pada manusia memiliki siklus hidup yang secara umum sama dengan siklus hidup Plasmodium lainnya. Masa inkubasi berlangsung selama 10 hari. Morfologi *P. knowlesi* terdiri atas sporozoit, merozoit, trofozoit, skizon, dan gametosit. Keunikan yang dimiliki oleh *P. knowlesi* pada morfologi pada tiap stadium memiliki kesamaan dengan *P. falciparum* dan *P. malariae*. Pada stadium merozoit atau stadium ring morfologinya memiliki kesamaan dengan *P. falciparum* yang ditandai dengan ditemukannya titik kromatin ganda, infeksi multiple per eritrosit, dan tidak adanya pembesaran sel darah merah yang terinfeksi. Sedangkan pada stadium trofozoit memiliki kesamaan morfologi seperti *P. malariae* yaitu bentuk trofozoit seperti pita (Gambar 7) (Milliar dan Singh, 2015).



Gambar 7. Sel darah merah yang terinfeksi *P. knowlesi* fase (a) trofozoit (tahap cincin), (b) trofozoit, (c) skizon, (d) skizon pada perbesaran 100x (Milliar dan Singh, 2015)

2.5 Uji *In vitro*

Pada prinsipnya pemeriksaan *In vitro* merupakan jenis pemeriksaan yang dilakukan di luar tubuh makhluk hidup dengan memanfaatkan tabung reaksi, piring kultur sel, dan media lainnya. Penelitian *In vitro* mensyaratkan adanya kontak antara bahan atau suatu komponen bahan dengan sel, enzim, atau

isolasi dari suatu sistem biologik. Proses pengujian *In vitro* dilakukan dengan kontak secara langsung atau tanpa adanya kontak langsung dengan sistem sel, tanpa adanya barrier atau dengan menggunakan barrier. Uji *In vitro* banyak dimanfaatkan untuk mengetahui sitotoksitas atau pertumbuhan sel dan metabolisme fungsi sel. Selain itu uji *In vitro* dapat dilakukan untuk mengetahui pengaruh suatu bahan terhadap genetik sel.

Terdapat beberapa keunggulan dari pengujian *In vitro* dibandingkan dengan jenis pemeriksaan biokompatibilitas lainnya yang sejenis, diantaranya sebagai berikut:

- a. Waktu pengujian relatif singkat
- b. Biaya relatif lebih murah
- c. Dapat dilakukan standarisasi
- d. Bisa dilakukan control

Sampai saat ini sudah banyak penelitian yang menggunakan metode *In vitro* salah satunya yaitu metode yang dikembangkan oleh Rieckman dengan menggunakan sampel darah penderita yang ditambahkan ke dalam *microplate* mengandung obat dengan dosis tertentu yang sudah ditentukan sebelumnya. Namun, terdapat kerugian dalam metode ini yaitu hanya dapat mengamati parasit pada stadium cincin yang bersikulasi di dalam darah tepi, pada stadium *schizon* parasit. Penelitian anti malaria yang dilakukan secara *In vitro* termasuk penelitian kuantitatif yang dilakukan secara eksperimental dengan metode yang banyak digunakan yaitu *Desjardins* yang mengukur inkorporasi dari hipoksantin oleh parasite (Syamsudin, 2008).

Terdapat dua macam sel yang biasa digunakan pada pemeriksaan *In vitro* yaitu sel primer dan sel kontinyu. Kedua sel tersebut berperan penting dalam melakukan pemeriksaan *In vitro* (Suminar *et al.*, 2017).

- a. Sel primer : adalah sel yang langsung diambil dari organisme hidup untuk kemudian langsung dibiakkan dalam kultur. Sel primer akan tumbuh hanya untuk waktu yang terbatas, tetapi mempunyai keuntungan masih

tetap mempertahankan sifat sel pada kondisi *in vivo*. Sel primer sering digunakan untuk melakukan pemeriksaan sitotoksitas.

- b. Sel kontinyu : adalah jenis sel primer yang ditransformasikan untuk dapat ditumbuhkan dalam kultur. Karena dilakukan transformasi, maka jenis sel ini tidak lagi mempertahankan semua sifat sel pada kondisi *in vivo*.

2.6 Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk menangkap senyawa radikal baik didalam dan diluar tubuh selain itu dapat mencegah dan memperbaiki kerusakan sel-sel di dalam tubuh yang banyak disebabkan oleh paparan radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang terkandung elektron tidak berpasangan dan sangat reaktif yang menimbulkan ketidaknormalan molekul lain. Oleh karena itu, diperlukan senyawa yang dapat meredam efek negatif dari radikal bebas yaitu antioksidan (Febrianti *et al* 2021).

Radikal bebas yang berlebih pada penyakit malaria dapat menyebabkan keadaan menjadi stres oksidatif. Hal ini terjadi karena adanya peningkatan peroksidasi lipid plasma pada infeksi Parasit malaria melalui dua mekanisme. Mekanisme yang pertama adalah produksi ROS yang meningkat dan peningkatan ketersediaan prooksidan dalam bentuk hemoglobin dan Fe bebas sebagai akibat hemolisis (Das dan Thurnham, 1992).

Infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* sp. menyebabkan limpa bekerja lebih dalam mengaktifkan sistem kekebalan tubuh untuk melawan patogen. Limpa merupakan salah satu organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh manusia terhadap berbagai infeksi termasuk berperan penting dan berkaitan erat dengan infeksi malaria. Selain itu menyebabkan banyak radikal bebas yang dapat menginduksi sel-sel sekitar yang menyebabkan kerusakan jaringan hingga apoptosis sel, terutama terjadi pada sel limpa (Triajayanti dan Rasmi, 2017).

Radikal bebas yang mengalami peningkatan berasal dari netrofil yang berperan sebagai proses eliminasi parasit dengan cara fagositosis dan melepaskan radikal bebas serta enzim-enzim proteolitik. Kemampuan fagositosis dan pengeluaran radikal bebas oleh netrofil diinduksi adanya antibodi yang mengopsonisasi parasit dan adanya sitokinsitokin seperti IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , dan granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) (Kumaratilake dan Ferrante, 2001).

Keterlibatan stres oksidatif yang terjadi di dalam patomekanisme malaria berat, menyebabkan pengobatan malaria berat tidak cukup hanya dengan pemberian obat antimalaria saja, perlu diberikan terapi adjuvant yang dapat mencegah dan menghambat timbulnya komplikasi yang lebih berat, salah satunya adalah dengan pemberian antioksidan. Pemberian terapi klorokuin yang dikombinasi dengan ascorbic acid pada hewan coba dapat mengurangi stres oksidatif dan menstabilkan membran eritrosit. sehingga peran antioksidan diharapkan dapat menghambat komplikasi malaria yang tergolong berat (Armiyanti *et al* 2007).

Pemberian antioksidan pada penderita malaria dapat menurunkan angka apoptosis sel dan menurunkan jumlah parasitemia sehingga dapat meningkatkan sel imunitas sebagai perlindungan terhadap parasit. Penurunan apoptosis sel ini terjadi karena antioksidan bekerja untuk menangkal radikal bebas yang dihasilkan oleh parasit malaria *Plasmodium* sp.. Selain itu antioksidan melindungi sel dari paparan radikal bebas secara langsung dan berkaitan dengan radikal bebas sehingga terjadi penurunan kemampuan radikal bebas dalam menginduksi sel lainnya (Cui *et al* ., 2015)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Setyaningrum, dkk (2020), yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung untuk pembiakan *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens*, Laboratorium Botani untuk uji spektrofotometer, Laboratorium Kimia untuk pembuatan metabolit sekunder ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* dengan hasil akhir berupa pasta, dan Laboratorium Malaria NPMRD (*Natural Product Medicine Research and Development*) Universitas Airlangga untuk pengujian anti malaria secara *In vitro* terhadap *P. falciparum*. Pengujian antioksidan dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2020 - Maret 2021.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat *magnetic stirrer, hot plate, oven penguap putar (Rotary Evaporator Buchii)*, peralatan kromatografi kolom, spektrofotometer (Uv-Vis 1800), LAF (*Laminar air flow Forma Scientific*), inkubator (Heraeus). Mikroskop binokuler (Axioskop, Zeiss), kaca objek, Pipet mikro dan alat-alat gelas laboratorium. Identifikasi senyawa ditempuh menggunakan kromatografi lapis tipis, spektrofotometer UV-Vis 1800.

3.2.2 Bahan

Bakteri *S. hygroscopicus subsp. jinggangensis* dan *S. marcescens*, Tryptone water, Media TSB (*Tryptone Soya Broth*) Yeast extract, agar, H₂O, peptone, ferric citrate ammoniacal, sodium thiosulfate, K₂HPO₄, ((NH₄)₂SO₄, 2,64g, 7H₂O, 1g; standard saline solution (0,9% NaCl solution), DMSO (*Dimetil Sulfokida*) untuk membuat konsentrasi. Biakan *P. falciparum* strain 37D, darah segar dan plasma golongan darah O, aquades, HEPES buffer, RPMI 1640, natrium biokarbonat, gentamisin, plasma, eritrosit manuia, pewarna giemsa, metanol, dan minyak emersi.

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis Penelitian ini adalah eksperimental, rancangan penelitian yang digunakan yaitu rancangan acak kelompok berupa ekstrak metabolit sekunder *S. hygroscopicus subsp. Jinggangensis* dan *S. marcescens* dengan berbagai konsentrasi yaitu 0,01; 0,1; 1; 10; dan 100 µg/mL yang kemudian diujikan secara *In vitro* terhadap *P. falciparum*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Ekstrak Metabolit Sekunder *S.hygroscopicus subsp. Jinggangensis* dan *S. marcescens*.

3.4.1.1. Kultur Produksi

Isolat *S. hygroscopicus subsp. Jinggangensis* merupakan koleksi dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC) LIPI Cibinong. Bakteri kemudian diremajakan pada ISP 2 (*Tryptone*, 5 g; *yeast extract*, 3 g; agar, 20 g; H₂O, 1.000 mL).

Bakteri *S. marcescens* merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi, MIPA Univeritas lampung diremajakan pada media TSB (*Tryptone Soya*

Broth) untuk keperluan stok disimpan dalam inkubator dengan suhu 37° C.

a. Media Fermentasi

Media fermentasi untuk suspensi *S. hygrosopicus* subsp.

Jinggangensis berupa ISP 2 cair terbuat dari yeast 4 g malt 10 g, glukosa 4 g dalam 1.000 mL. Sedangkan media fermentasi suspensi *S. marcescens* yaitu media fermentasi cair yaitu *Tryptone water* sebanyak 14g dilarutkan dalam 1.000mL aquades.

b. Persiapan Metabolit Sekunder Ekstrak metabolit sekunder

S. hygrosopicus subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens*

Starter dibuat dalam 100 mL dan 900 mL, dalam media 1.000 mL dimasukkan 1 ose isolat kemudian di sheker selama 1 hari. Setelah isolat tumbuh, kemudian isolat di masukan kedalam media fermentasi 900 mL dan diinkubasi selama 14 hari. Kultur diekstrak metabolit sekundersi dengan sentrifugasi kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Debris miselium disaring dengan kertas saring steril berukuran 6 mm untuk mendapatkan filtrat. Filtrat difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Filtrat kemudian di evaporator selama 30 menit untuk memekatkan produk metabolit sekunder dengan cara menguapkan sebagian etil asetat dan metanol sebagai pelarutnya. Hasil akhir ekstrak metabolit sekunder berupa pasta.

3.4.2 Uji Senyawa kimia Ekstrak Metabolit Sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens*

Uji senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalam ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens*. Pengujian dilakukan untuk mengetahui potensi sebagai aktivasi anti malaria (Pratama *et al* 2015). Metode dalam pengujian senyawa kimia untuk mengetahui metabolit sekunder ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* berdasarkan pada (Farnsworth, 2006) dengan tahapan uji sebagai berikut.

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* ditambahkan 10 mL metanol dan 10 mL aquades kemudian disaring. Menambahkan 5 mL eter kemudian dikocok dan didiamkan. Mengambil lapisan metanol dan menguapkan pada suhu 40°C kemudian larutkan dalam 5 mL etil asetat, penambahan 1 mL etanol, ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Timbulnya warna merah dan kuning menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid.

b. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* masing-masing ditambahkan 10 mL aquades panas dan didihkan selama 10 menit lalu di saring, kemudian dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik. Terbentuknya busa setinggi 1–10 cm yang stabil dalam jangka waktu 10 menit dan tidak hilang apabila diteteskan 1 asam klorida 2N menunjukkan adanya kandungan saponin.

c. Uji Tanin

Sebanyak 1 g *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* ditambahkan 10 mL aquades panas dan didihkan selama 10 menit lalu di saring, ditambahkan larutan besi (III) klorida 1%. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada larutan.

d. Uji Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 0,5 g *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* ditambahkan dengan 5 mL etanol panas selama 1 jam, kemudian disaring dan residunya di tambahkan eter. Ekstrak metabolit sekunder ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat ke plat tetes. Adanya steroid ditunjukkan jika terbentuk

warna biru atau ungu, sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya triterpenoid.

e. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* diuapkan diatas cawan porselin hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Setelah dingin, larutan disaring, kemudian dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama berfungsi sebagai kontrol, tabung ke 2 ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer (melalui dinding tabung). Terbentuknya endapan berwarna jingga pada tabung kedua dan endapan kuning pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid.

3.4.3 Uji Anti Malaria Secara *In vitro*

Uji aktivitas antimalaria pada penelitian ini dilakukan dengan berpedoman pada metode (Desjardins, 1987). Uji aktivitas antimalaria ditentukan dengan parasitemia, dengan menggunakan kultur *P.falciparum* koleksi laboratorium Malaria NPMRD (*Natural Product Medicine Research and Development*) Universitas Airlangga, Surabaya.

a. **Penyediaan Eritrosit Terinfeksi Parasit**

Eritrosit yang digunakan dalam penelitian ini adalah golongan darah O yang diambil dari darah vena. Darah donor diambil sebanyak 5 mL dimasukkan kedalam tabung 15 mL yang sudah mengandung 1 mL antikoagulan dan agar volume mencapai 10-15 mL maka ditambahkan media RPMI. Kemudian tabung disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 1.500-2.000 rpm pada suhu kamar. Langkah selanjutnya supernatan yang mengandung plasma dan endapan eritrosit yang diperoleh dicuci dengan media RPMI sebanyak 2X dengan cara sentrifus seperti pada pencucian pertama. Eritrosit golongan darah O yang diperoleh ditambah media dengan volume yang sama dan disimpan di

lemari pendingin dan hanya dapat disimpan sampai 10 hari.

b. Persiapan Plasmodium untuk Pemiakan

Stok kultur *P. falciparum* yang tersimpan dalam ampul dari tabung nitrogen dicairkan dalam waterbath dengan suhu 37° C. Isi ampul dipindahkan ke conical tube, lalu ditambahkan larutan NaCl 12% tetes demi tetes untuk setiap 1 mL larutan dalam ampul. Larutan didiamkan selama 3 menit, langkah selanjutnya ditambahkan larutan NaCl 1,6% tetes demi tetes dengan rasio perbandingan 10 mL larutan NaCl 1,6% setiap 1 mL larutan dalam ampul. Larutan disentrifus pada 1 mL larutan dalam ampul. Larutan disentrifus pada kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit, kemudian supernatan di buang. Campuran larutan NaCl 1,9% dan dektrosa 0,2% ditambahkan dalam conical tube tersebut dengan perbandingan 10 mL larutan campuran untuk 1 mL larutan dalam ampul. Larutan disentrifus lagi pada kecepatan 1.500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, kemudian ditambahkan media komplit dan serum manusia, masukkan ke dalam *culture flask* kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan posisi *culture flask* tegak.

Kultur *P. falciparum* dikerjakan berdasarkan metode *candle jar* (Trager dan Jensen, 1976). Sel darah merah yang sudah terinfeksi parasit dibiakkan dalam *culture flask* yang sudah mengandung 8 mL medium komplit berupa 10% serum dengan hematokrit akhir 1,5%. Manipulasi kultur ini dilakukan dalam laminar flow cabinet dalam kondisi steril, kemudian dinkubasi di dalam inkubator CO₂ pada suhu 37° C. Kultur yang dibuat dipertahankan dengan pergantian medium yang baru setiap 24 jam selama masa inkubasi. Apabila parasitemia terlalu tinggi mencapai 10%, maka dibuat subkultur dengan cara menambahkan sel darah yang tidak terinfeksi parasit sehingga parasitemia mengalami penurunan menjadi rendah yaitu kurang dari 1%. Hal ini dilakukan agar efektif bila pada saat pengujian aktivitas anti malaria terhadap *P. falciparum*.

Kultur *P. falciparum* di letakkan ke dalam lempeng sumur 24 lubang

yang sudah mengandung parasitemia $\pm 1\%$ dalam medium RPHS. Medium RPHS diganti dengan medium RPHS yang mengandung sampel uji berbagai konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan sebesar 0,01; 0,1; 1; 10; dan $100 \mu\text{g/mL}^{-1}$. Inkubasi dilakukan di dalam *candle jar* dalam kurun waktu 48 jam pada suhu 37°C . Setelah diinkubasi, kultur dipanen, dibuat sediaan lapisan darah tipis menggunakan Giemsa 20% sebagai pewarna. Selanjutnya kultur didiamkan selama 20 menit, dicuci dengan air dan dikeringkan. Persentase parasitemia dan persen hambatan pertumbuhan *P. falciparum* ditetapkan dengan cara menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 5.000 eritrosit di bawah mikroskop.

Persen parasitemia dan penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan cara menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 5.000 eritrosit dibawah mikroskop sebagai berikut:

- $\% \text{ parasitemia} = \frac{\sum \text{Eritrosit yang terinfeksi parasit}}{5000 \text{ Eritrosit}} \times 100\%$
- $\% \text{ pertumbuhan} = \frac{\% \text{ Parasitemia uji}}{\% \text{ Parasitemia kontrol}} \times 100 \%$
- $\% \text{ Penghambatan} = \frac{\% \text{ Parasitemia kontrol} - \% \text{ Parasitemia uji}}{\% \text{ Parasitemia kontrol}} \times 100\%$

Setelah didapatkan hasil persentase parasitemia, persentase pertumbuhan, dan persentase penghambatan, selanjutnya dilakukan penghitungan Nilai IC_{50} untuk mengetahui aktivitas Anti malaria. Berikut adalah kategori penggolongan Nilai IC_{50} (Tabel 1)

Tabel 1 . Penggolongan Nilai IC_{50} Anti Malaria (Chincilla *et al.*, 2012)

Nilai IC_{50}	Kategori
$\text{IC}_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$	Sangat Aktif
$\text{IC}_{50} > 5-50 \mu\text{g/mL}$	Aktif
$\text{IC}_{50} < 50 - 100 \mu\text{g/mL}$	Kurang Aktif

3.6.1 Uji Anti Oksidan Ekstrak Metabolit Sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* dan *S. marcescens*.

Pengujian anti oksidan ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* dilakukan di Laboratorium TPH Politeknik Negeri Lampung menggunakan pereaksi DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dengan metode spektrometer UV dengan λ yaitu sebesar 517 nm (Kadoma, 2011). Metode DPPH merupakan metode yang umum dan sudah banyak digunakan dalam penelitian uji antioksidan. Prinsip kerja metode ini ialah adanya interaksi antioksidan dengan DPPH yang menyebabkan senyawa DPPH yang berwarna ungu akan dirombak menjadi senyawa α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl yang berwarna kuning (Akowuah *et al.*, 2005).

Uji aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan cara ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* ditambahkan metanol kedalam beberapa konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm lalu menambahkan 200 μ L larutan buffer asetat 0,1 M (pH 5,5) dan ditambahkan 100 μ L larutan radikal DPPH 5×10^{-4} M. Setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (37° C) diukur nilai absorbansinya. Selanjutnya nilai IC_{50} dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50 % serapan larutan radikal DPPH dari senyawa uji. Dalam uji ini digunakan blanko yaitu 50 ppm (Arsista, 2013). Berikut kategori penggolongan nilai IC_{50} Antioksidan (Tabel 2).

Tabel 2. Penggolongan Nilai IC_{50} Antioksidan (Molyneux, 2004)

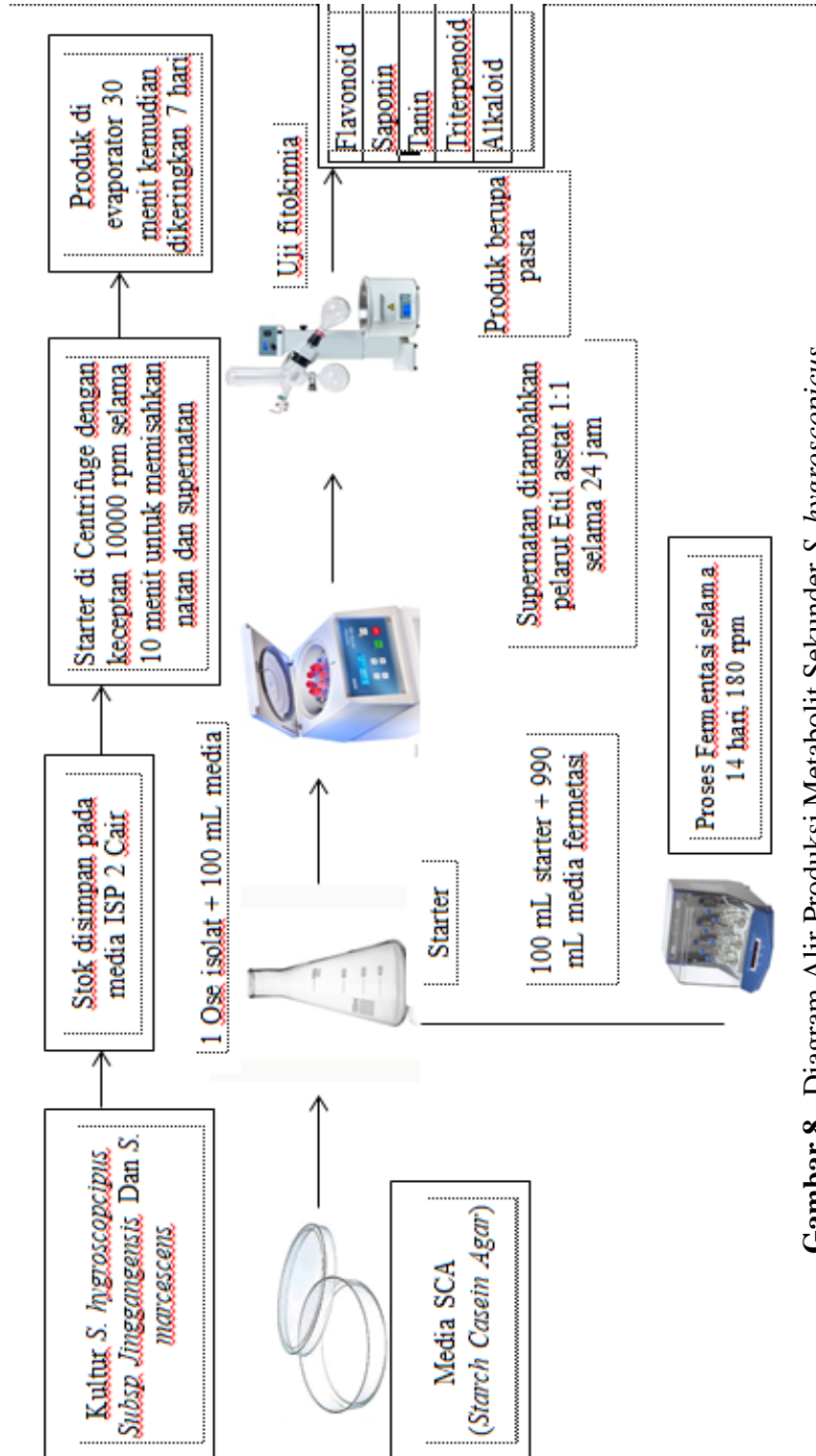
Nilai IC_{50}	Kategori
$IC_{50} < 50$ ppm	Sangat Kuat
50 ppm - 100 ppm	Kuat
100 ppm - 150 ppm	Sedang
150 ppm - 200 ppm	Lemah
$IC_{50} > 200$ ppm	Sangat Lemah

3.5 Analisis Data

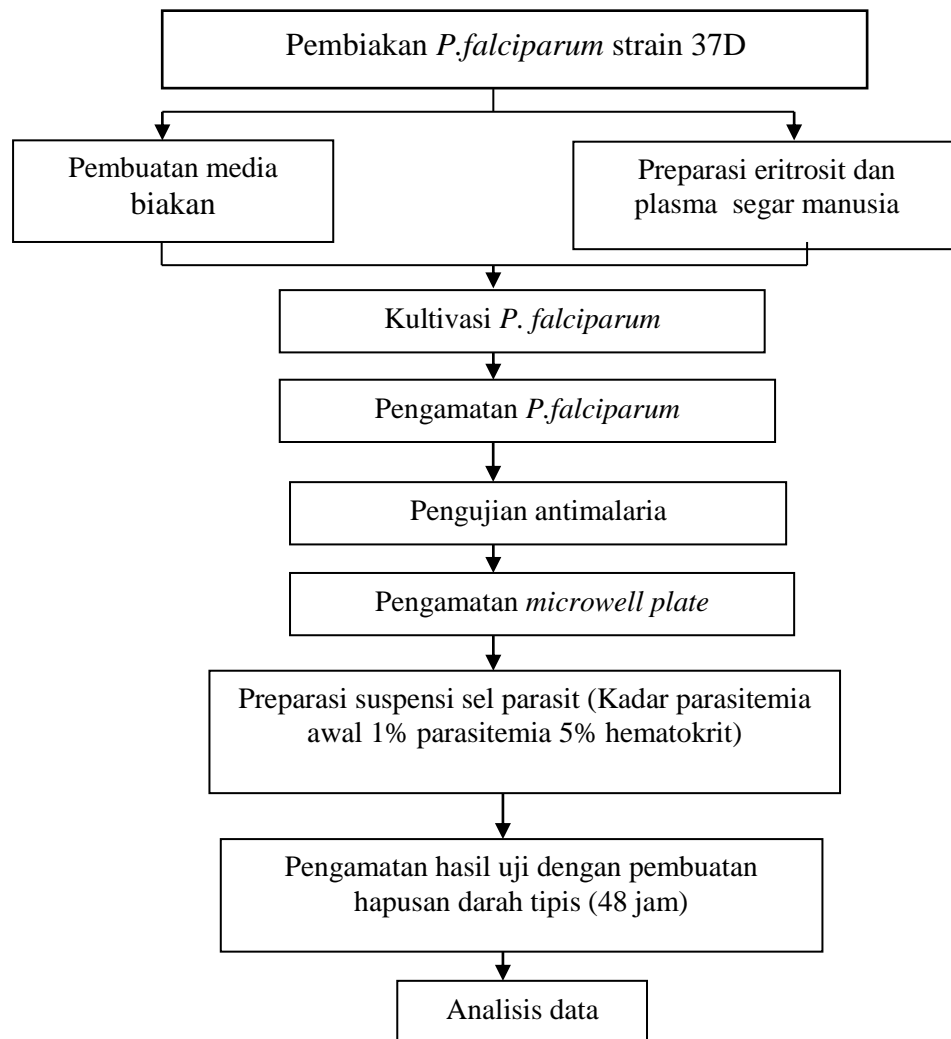
Data dalam penelitian ini berupa persentase parasitemia, persentase penghambatan, dan persentase pertumbuhan *P. falciparum* pada ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens*, dianalisis dengan uji *Anova* dan dilanjutkan uji *Tukey's*.

3.6 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir dari penelitian potensi ekstrak metabolit sekunder metabolit sekunder bakteri *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* sebagai anti malaria dapat dilihat pada Gambar 8 dan 9.



Gambar 8 . Diagram Alir Produksi Metabolit Sekunder *S. hygroscopicus* subsp *Jinggangensis* dan *S. marcescens*



Gambar 9 Diagram Alir Uji Anti Malaria Terhadap *P. falciparum*.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid/steroid, dan berbeda dengan ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid dan saponin.
2. Potensi anti malaria pada ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* dan *S. marcescens* terhadap *P. falciparum* menunjukkan ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* lebih baik sebagai anti malaria. Konsentrasi ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *Jinggangensis* dan *S. marcescens* terbaik yaitu 100 µg/mL. Nilai IC₅₀ pada ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* sebesar 67,09 µg/mL, dan *S. marcescens* sebesar 57,91 µg/mL. Nilai IC₅₀ tersebut kedalam kategori kurang aktif dalam menghambat *P. falciparum*, sehingga kedua ekstrak kurang berpotensi sebagai anti malaria.
3. Aktivitas Antioksidan memiliki nilai IC₅₀ pada ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* (28112.1 µg/mL) dan *S. marcescens* (5259.84 µg/mL) menunjukkan aktivitas antioksidan kedua ekstrak metabolit sekunder dalam menghambat radikal bebas tergolong sangat lemah.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pelarut metanol dan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mengetahui potensi antimalaria pada ekstrak metabolit sekunder *S. hygrosopicus* subsp. *jinggangensis* dan *S. marcescens*

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, Y. Simone, L. S. Reinhard, S. A. Katherine, T. A. 2005. Carrageenans inhibit the *In vitro* growth of *Plasmodium falciparum* and cytoadhesion to CD36. *Parasitology Research*, 97(4), pp.290–294.
- Ahmad, S, J. Abdul Rahim, M, B, H. Baharum, S, N. Baba, M, S. Zin , N, M. 2017. Discovery of Antimalarial Drugs from *Streptomyces* Metabolites Using a Metabolomic Approach. *Journal of Tropical Medicine*.
- Akowuah, G, A. Ismail, Z. Norhayati, I. Sadikun, A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities of polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food Chemistry*, 93(2), 311-317.
- Arabski, M. Wegierek, C, A. Czerwonka, G. Lankoff A. Kaca, W. 2012. Effect of saponin against Clinical *E.coli* strains and eukaryotic cell lines. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 20(12): 1-6.
- Arista, M. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr.*). *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya* Vol. 2 No. 2.
- Armiyanti, Y. Loeki, E, Fitri. Edi, W. 2007. Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (*Pandanus Conoideus*) Terhadap Stres Oksidatif Sel Endotel Yang Dipapar Dengan Serum Penderita Malaria Falciparum Dan Netrofil Individu Sehat. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. XXIII, No. 1, April Lab. Parasitologi FK Unej Jember.
- Azlin, E. 2004. Obat Anti Malaria. *Sari Pediatri*, Vol. 5, No. 4.
- Babuselvam, M. Ravikumar, S. Abideen, S. Mohamed, M, P. Mohamed, H, S, M. 2005. *In vitro* Antiplasmodial Activity of Seaweed Associated Actinomycetes Against *Plasmodium Falciparum*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(2):712– 20.
- Bergey, D, H. Harrisson, F. C, Breed, R. S, Hammer, B. W. & Huntoon, F. M. 1984. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*, 1st Edn. Baltimore: The Williams And Wilkins Co.
- Chinchilla, M. Valerio, I. Sánchez, R. Mora, V. Bagnarello, V. Martínez, L. González, A. Vanegas, J, C. Apéstegui, A. 2012. *In vitro* antimalarial activity of extracts of some plants from a biological reserve in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 60(2):881–891.

- Cui, L. Mharakurwa, S. Ndiaye, D. Rathod, P, K, Rosenthal, P, J. 2015. Antimalarial Drug Resistance : Literature Review and Activities and Findings of the ICEMR Network. *Am J Trop Med Hyg.* 93(3):57-68.
- Dalimunthe, C, I. Dahlan, A. Tistama, R. 2017 Potensi Bakteri *Serratia Sp.* Sebagai Agensia Hayati Penyakit Jamur Akar Putih (*Rigidoporus Microporus*). *Jurnal Penelitian, Jurnal Agro Estate.* Balai Penelitian Sungei Putih1 , Medan.
- Dahari, D, E. Mohamad, S, R. Mahmud, F. Ping, C, L. Embi, N. Mohd, S, H. 2016. Anti-Malarial Activities Of Two Soil Actinomycete Isolates From Sabah Via Inhibition Of Glycogen Synthase Kinase 3 β . *Tropical Life Sciences Research.* 27(2):53–71.
- Das, B, S. Thurnham, D, I. 1992. Plasma Lipid Peroxidation in *Plasmodium falciparum* Malaria in Lipid –Soluble Antioxidant: Biochemistry and Clinical Applications. Edited by ASH Ong & L Packer. Switzerland: Birkhauser Verlag :397-405.
- Desjardins, R, E. Canfield, C.J. Haynes, J.D. Chulay, J,D. 1979. Quantitative Assesment Of Antimalarial Activity *In vitro* By Semi-Automated Microdilution Technique, *Antimicrob. Agents Chemother.* 16, 710-718.
- Devina, Y. Vinsa, C, P. Dwi, C, B, S, Agnesia, E, T, H, W. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya, Daun Kemangi Serta Temu Ireng, dan Madu terhadap Bakteri *Serratia marcescens*. *Jurnal Veteriner.* Vol 21. No. 1. Universitas Gajah Mada.
- Dinas Kesehatan Kabupaten Pesawaran. (2017). Profil kesehatan Kabupaten Pesawaran. Pesawaran : Dinas Kesehatan Kabupaten Pesawaran.
- Dkhil M, A, E. 2009. Apoptotic Changes Induced In Mice Splenic Tissue Due To Malaria Infection. *Journal Microbiol Immunol Infect.* 14:13-8.
- Esnard, J, T, L. Potter, B, M. Zuckerman. 1995. *Streptomyces costaricanus sp. nov.*, isolated from Nematode-suppressive soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 5(4): 775-779.
- Farnsworth, N. R. 2006. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J. Pharm. Sci.*
- Febriani, I, D. Muhimmah, I. Lusiyana, N. 2020. Identifikasi Stadium *Plasmodium Vivax* untuk Penegakan Diagnosis Penyakit Malaria dengan Sistem Berbantuan Komputer. Universitas Islam Indonesia.
- Febrianti, D, R. Nova, A. Rakhmadan, N. 2021. Antioksidan Daun Kumpai Mahung (*Eupathorium inulifolium H.B&K*). *Jurnal Pharmascience,* Vol. 08, No.01, ISSN-Print. 2355 – 5386 ISSN-Online. 2460 – 9560. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan ISFI. Banjarmasin.

- Fitri, L, E. Alkarimah, A. Cahyono, A, W. Lady, W, N. Endharti, A, T. Rivo, Y. 2019. Effect of Metabolite Extract of *Streptomyces Hygroscopicus* Subsp. *Hygroscopicus* on *Plasmodium Falciparum* 3D7 *In vitro*. Iranian Journal of Parasitology.
- Fitriani, J. Ahmad, Sabiq. 2018. Malaria. Jurnal Averrous Vol.4 No.2. Malikussaleh University, Uteunkot, Lhokseumawe.
- Hadiwiyono. 2009. Quorum Sensing: Suatu Sistem Komunikasi Bakteri Fitopatogen, Peranannya Pada Proses Infeksi, Dan Peluangnya Sebagai Basis Pengembangan Strategi Baru Dalam Pengendalian Penyakit Tumbuhan. JPTI. 15(2):45–54. DOI:10.22146/jpti.11765.
- Hejazi, A. Falkiner, F.R. 1997. *Serratia marcescens*. Journal of Medical Microbiology, 46, 903-912.
- Hilou, A. Nacoulma, O, G. Guiguemde, T, R. 2006, In vivo Antimalarial Activities of Extracts *Amaranthus Spinousus L.* and *Boerhaavia erecta L. in Mice*. Journal or Ethnopharmacology. Vol.103, 236-240.
- Iqbal, M. Effendi, Z. Aamruna, Y. Suryawati. 2013. Uji Aktivitas Antimalaria In Vivo Dari Beberapa Fraksi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia manggostana linn*) Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi Dengan *Plasmodium Berghei*. Universitas Syiah Kuala.
- Iwo M, I. Pandawinata, K. Siraih, M. Nickel, P. Efek Antimalaria Falciparum In Vitro Dan Mekanisme Kerja Ekstrak Methanol Dan Fraksi Kloroform Korteks Aistonia Scholaris (L.) R.Br Dan Daun Cassia Siamea Lamk. Serta Toksisitas Dan Isolasi Alkaloid Dari Kortek A. Schloris (L.) R.Br. [Disertasi] Program S3 Matematika dan IPA IT; 1996.
- Jensen, HL. 1931. Contributions to our knowledge of the Actinomycetales. II. The definition and subdivision of the genus *Actinomyces*, with a preliminary account of Australian soil Actinomycetes. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. 56: 345–370.
- Kadoma, Y. Seiichiro, F. 2011. Radical- Scavenging Activity Of Dietary Phytophenols In Combination With Co-Antioxidants Using The Induction Period Method.
- Karthik, L. Kumar, G. Keswani, T. Bhattacharyya, A. Sarath, C, S. Bhaskara, R, K, V. 2014. Protease Inhibitors From Marine Actinobacteria As A Potential Source For Antimalarial Compound. Plos One. Vol 9. No 3.
- Kawuri, R. 2016. Isolasi Dan Identifikasi *Streptomyces* Sp. Pada Rhizosfer Tanaman Pisang (*Musa Paradisica*) Di Desa Pendem Jembrana Bali. Jurnal Metamorfosa Vol III No 2: 140-148. ISSN: 2302-5697. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi F-MIPA Universitas Udayana.
- Kemenkes RI. 2019. Profil Kesehatan Indonesia 2018. Dinas Kesehatan Republik Indonesia.

- Kemenkes RI. 2020. Profil Kesehatan Indonesia 2019. Dinas Kesehatan Republik Indonesia.
- Khattab, A. Babiker, E, H. Saeed, H, A. 2016. Streptomyces: Isolation, Optimization Of Culture Conditions And Extraction Of Secondary Metabolites. International Current Pharmaceutical Journal, February 2016, 5(3): 27-32.
- Kumalasari, A, M. Nur, F, R. Muhammad, A, N. 2012. Potensi Actinomycetes Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif Antibiotik Dari Kawasan Karst Bantimurung, Sulawesi Selatan. Jurnal Pelita, Volume VII, Nomor 1. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Kumaratilake, L, M. Ferrante, A. 2001. Opsonization And Phagocytosis Of *Plasmodium falciparum* Merozoites Measured By Flow Cytometry. Clin Diagn Lab Immunol 2001; 7 (1) : 9-13.
- Kusuma, W, A, A. Lestari, W. Herawati, S. Yasa, I, W, P, S. 2014. Pemeriksaan Mikroskop Dan Tes Diagnostik Cepat Dalam Menegakkan Diagnosis Malaria. E-Jurnal Medika. Universitas Udayana.
- Lestari, S. Ardil, Rasyid, R. 2016. Identifikasi Nyamuk Anopheles Sebagai Vektor Malaria dari Survei Larva di Kenagarian Sungai Pinang Kecamatan Koto XI Tarusan Kabupaten Pesisir Selatan. Jurnal Kesehatan Andalas. Vol 5 No 3. Universitas Andalas.
- López, M, L. Rossiane, V. Mariano, Z. Wanderley, D, S, Silvia, B. Cesar, S. 2010. Induction Of Cell Death On *Plasmodium Falciparum* Asexual Blood Stages By Solanum Nudum Steroids. Parasitology International, 59(2), pp.217–225.
- Loupa, C, V. Konstantia, T, Loanis, K. Stylianos, P. Mossys, L. 2012. Autochthonous *Plasmodium vivax* malaria in a Greek schoolgirl of the Attica region. Malaria Journal. 11: 52.
- Mame T, J. J.W Costerton. 1998. Prolonged survival of *S. marcescens* in chlorhexidine. Appl Environ Microbiol 42:1093-1102.
- Manzila, I. Priyanto, T, P. Herlis, R. Rusmana, I. Samudra, I, M. Suryadi, Y.2014. Pengaruh Media terhadap Produksi Prodigiosin Isolat Bakteri Entomopatogen *Serratia marcescens* Asal Wereng Batang Cokelat. Jurnal AgroBiogen. Vol 10 No 2.
- Marliana, E. Chairil, S. Medi, H. 2018. Aktivitas Antioksidan Dan Antimalaria Senyawa Fenolik Dari Daun *Macaranga beccariana Merrmar*. Jurnal Kimia Mulawarman Volume 15 Nomor 2 Mei 2018 P-ISSN 1693-5616 E-ISSN 2476-9258. FMIPA. Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Mc Carthy AJ, William ST. 1990. Methode for Studying the Ecology of Actinomycetes. Meth of Microbiol 22:533-563.

- Mentari, Diani. Mirtati, N. Riska, W. Jaka, W. Tri, R, N, Tri, W. Nastiti, W. 2019. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstrak Metabolit Sekunder *Streptomyces sp.* GMR22 terhadap Toksisitas pada Sel BHK-21. Jurnal Farmasi Indonesia. Vol. 16, No. 1, (2019). ISSN 1411-4283. Fakultas Kedokteran. Universitas Gajah Mada.
- Milliar, S, B. Singh, J, X. 2015. Human Infections With Plasmodium Knowlesi— Zoonotic Malaria. School of Medicine, University of St Andrews, Medical and Biological Sciences Building, North Haugh, St Andrews, Fife, UK
- Mills. Bone, 2000. Principles and Practice of Phytoterapy. 90 Tottenham Court Road. London.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant. Songklanakar J. of Science and Technology, 26(2): 211-219.
- Nasiroh, U. Isnawati. Guntur, Trimulyono. 2015. Aktivitas Antifungi *Serratia marcescens* terhadap *Alternaria Porri* Penyebab Penyakit Bercak Ungu Secara *In vitro*. Lentera Bio Vol 4 No1. ISSN 2252-3979. Universitas Negeri Surabaya.
- Naufal, A. Kusdiyantini, E. Raharjo, B. 2017. Identifikasi Jenis Pigmen Dan Uji Potensi Antioksidan Ekstrak Pigmen Bakteri *Serratia marcescens* Hasil Isolasi Dari Sedimen Sumber Air Panas Gedong Songo. ISSN: 1410-8801 Vol. 19, No. 2. Universitas Dipenogoro.
- Nugroho, Y, A. 2011. Aktivitas Antimalaria (In Vivo) Kombinasi Buah Sirih (*Piper Betle L*), Daun Miyana (*Plectranthus Scutellarioides (L.) R. Br.*) Madu Dan Kuning Telur Pada Mencit Yang Diinfeksi *Plasmodium Berghei*. Bul. Penelit. Kesehatan Vol. 39 No.3.
- Pouplin, J, N. Tran, T, H. Dolecek, C. Phan, T, A. Farrar, J. Carron, P. Bodo, B. Grellier, P. 2007. Antimalarial and Cytotoxic Activities of Ethnopharmacologically Selected Medicinal Plants from South Vietnam. Journal of ethnopharmacology. Vol. 109.
- Prabowo, A, Y. Hotman, S. Fajar, Y. 2019. Profil Penyakit Malaria Pada Rumah Sakit Tk.IV TNI AD Bandar Lampung. Volume 3 No 1. Universitas Lampung.
- Prasetya. 2021. Terapi Malaria dari *Streptomyces hygrosopicus*. Universitas Brawijaya.
- Pratiwi, K, K. Dini, R. Herniyati. 2021. Determination of *Streptomyces sp.* SAE4034 Antioxidant and Antibacterial Compound and Its Inhibitory Mechanism on *Staphylococcus aureus*. Universitas Soedirman
- Ripa, F, A. Nikkon, F. Rahman, B, M. Khondar, P. 2010. *In vitro* Antibacterial Activity Of Bioactive Metabolite And Crude Extract From A New *Streptomyces Sp.* *Streptomyces Rajshahiensis*. International Journal of PharmTech Research ISSN : 0974-4304 Vol.2, No.1. Bangladesh.

- Rivo, Y, B. Alkarimah, A. Ramadhani, N,N. Cahyono, A,W.Laksmi, D,A. Winarsih, S. Fitri, L,E. 2013. Metabolite extract of *Streptomyces hygroscopicus Hygroscopicus* inhibit the growth of Plasmodium berghei through inhibition of ubiquitin proteasome system. Tropical Biomedicine 30(2): 291–300. Malang Indonesia.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.
- Sallenus, J. Jefry, W. Colincie, N, L. Stenly, E, B. 2013. Potensi Ekstrak Heksan Daun Kapur (*Harmsioplanax aculeatus, Harms*) Sebagai Obat Antimalaria. Program Studi Pendidikan Kimia, Universitas Pattimura.
- Samrot, A, V. Chandana, K. Senthilkumar, P. Kumar N. 2011. Optimization of Prodigiosin Production by *Serratia marcescens* SU-10 and Evaluation of Its Bioactivity. International Research Journal of Biotechnology, 2(5):128-133.
- Sandi, S. Imam, H, M, S. 2020. Inhibition Of Secondary Metabolite Extract Of *Streptomyces Sp.* On *Plasmodium falciparum In vitro*: A Study Of Soil Sediment Of Papua's Hamadi Mangrove Forest. Jurnal Kesehatan dan Kedokteran Indonesia. JKKI 11(1):34-43.
- Sangi, M. Max, R, J, R. Herny E, I, S. Veronica M. A. M. 2008. Analisis Senyawa kimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. Chem prog Vol 1. No. 1. MIPA. Unsirat. Manado.
- Septiana, A. Umaroh, A. Gangga, E. Simanjuntak, P. 2017. Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) Sebagai Antimalaria. Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Vol 28 No 1. Universitas Pancasila.
- Septiana, E. Bustanusalam. Fauzi, R. Yatri, H. Partomuan, S. 2017. Potensi Ekstrak Kapang Endofit Asal Rimpang Kunyit sebagai Antimalaria dan Antioksidan. Jurnal Kefarmasian Indonesia. Vol 7. No1. Universitas Pancasila Indonesia.
- Setyaningrum, E. 2020. Mengenal Malaria dan Vektornya. Lampung: Pustaka Ali Imron.
- Silamut, K. Nguyen, H, P. Christoper, W. Gareth, D, H. Karina, L. Nguyen, T, H. M. Julie, A, S. Train, T. H. Nicole, J.W. 1999. A Quantitative Analysis of the Microvascular Sequestration of Malaria Parasites in the Human Brain. American Journal of Pathology, Vol. 155, No. 2.
- Styridom, K, A. Ismail, F. Frean, J. 2014. Plasmodium Ovale: A Case Of Not-So-Benign Tertian Malaria. Malaria Journal. University of Pretoria South Africa.
- Suminar, E. Sumadi. Mubarok, S. Sunarto, T. Nita, S, E,R. 2017. Percepatan Penyediaan Benih Sumber Kedelai Unggul Secara *In vitro*. Jurnal Agrikultura 2017, 28 (3): 126-135 ISSN 0853-2885. Universitas Padjajaran.

- Syamsudin. 2008. Penapisan Senyawa Anti Malaria yang Berasal dari Tumbuhan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. ISSN 1693.1831. Vol 6 No. 2. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- Trager, W. Jensen, J, B. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Aug 20;193(4254):673-5*.doi: 10.1126/science.781840.
- Triajayanti, A, Rasmi, Z, O. 2017. Peran Antioksidan pada Buah Delima dan Buah Merah (*Pandanus conoideus*) terhadap Spleenomegali pada Penderita Malaria. *Jurnal Medulla*. Vol 7. No. 4. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi Kelima*, Yogyakarta : Penerbit Gadjah Mada University Press.
- Wardani, A, K. Abdul, R, W. Yanti, S. 2020. Uji Aktivitas Antimalaria *In vitro* dari Ekstrak Etanol Batang Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei* [Miq.] Koidz) *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol 18 No 2. ISSN. 1693-1831, E-ISSN: 2614-6495. Universitas Muhammadiyah Mataram.
- Widyawaruyanti, A. Zaini, N, C. Syafruddin. 2011. Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus Champeden*). *JBP* Vol. 13, No. 2. Universitas Airlangga.
- Wink, M. 2008. *Ecological Roles of Alkaloids. Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*, Wiley, Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.