



**UJI AKTIVITAS GRANUL EFERVESEN EKSTRAK ETANOL
RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)
SEBAGAI ANTIMALARIA SECARA IN VIVO**

SKRIPSI

Oleh

**Herlin Karismaningtyas
NIM 142010101082**

**PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**UJI AKTIVITAS GRANUL EFERVESEN EKSTRAK ETANOL
RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)
SEBAGAI ANTIMALARIA SECARA IN VIVO**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Herlin Karismaningtyas
NIM 142010101082**

**PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga dapat terselesaikan skripsi yang merupakan bagian dari perjalanan hidup ini. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita menuju jalan yang terang di muka bumi ini.

Dengan segala ketulusan skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Ayah Hery Muliatno, M.Pd dan Ibu Sri Suryaningsih, S.Pd yang selalu memberikan bimbingan, kasih sayang, semangat, dan do'a tiada henti, serta pengorbanan yang dilakukan setiap waktu;
2. Kakak kandung saya Herdy Perdana Wicaksono, A.Md yang selalu memberikan saya motivasi;
3. Keluarga besar dari ayah dan ibu saya;
4. Para guru sejak di TK Aisyiah 1, SDN 1 Kepatihan, SMPN 1 Banyuwangi, SMAN 1 Glagah Banyuwangi, dan dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Keluarga besar angkatan 2014 Elixir Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

Barang siapa menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke surga.*)

atau

Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya, dan bahwasanya usaha itu kelak akan diperlihatkan (kepadanya).

Kemudian akan diberi balasan kepadanya dengan balasan yang paling sempurna.**)

atau

Hanya orang-orang yang bersabarlah yang disempurnakan pahalanya tanpa batas.***)

*) H.R Imam Muslim

***) Qur'an Surat an-Najm ayat 39-41

****) Qur'an Surat Az-Zumar ayat 10

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Herlin Karismaningtyas

NIM : 142010101082

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber casummunar* Roxb.) sebagai Antimalaria secara *In Vivo*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,
Yang menyatakan,

Herlin Karismaningtyas
NIM 142010101082

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS GRANUL EFFERVESEN EKSTRAK
ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)
SEBAGAI ANTIMALARIA SECARA *IN VIVO***

Oleh

Herlin Karismaningtyas

NIM 142010101082

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Bagus Hermansyah, M. Biomed

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Srisurani Wiji Astuti, M. Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber casummunar* Roxb.) sebagai Antimalaria secara *In Vivo*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Rabu, 29 November 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim penguji

Ketua,

Anggota I,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M. Kes.
NIP. 19740604 200112 2 002

dr. Supangat, M. Kes. Ph.D, Sp.BA
NIP. 19730424 199903 1 002

Anggota II,

Anggota III,

dr. Bagus Hermansyah, M. Biomed
NIP 19830405200812 1 001

dr. Ida Srisurani Wiji Astuti, M. Kes
NIP 19820901 200812 2 001

Mengesahkan
Dekan

dr. Enny Suswati, M. Kes.
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Granul Efferveses Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Sebagai Antimalaria Secara *In Vivo*; Herlin Karismaningtyas; 81 halaman; 2017; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Malaria merupakan penyakit infeksi parasit oleh *Plasmodium* melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina. Penggunaan *Artemisin-based Combination Therapy* (ACT) sebagai obat malaria telah dilaporkan adanya resistensi ACT di perbatasan Thailand-Kamboja. Selain itu, penggunaan ACT dalam waktu lama menyebabkan timbulnya strain yang resisten terhadap ACT khususnya komponen artemisin. Berkembangnya resistensi terhadap pengobatan malaria mendorong peneliti untuk mencari potensi tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria salah satunya adalah bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.). Rimpang bangle mengandung berbagai senyawa seperti alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, saponin, pati, tanin, curcumin, *phenylbutanoids*, *naphthoquinones*, *vanillin*, *veratric acid*, *terpenoids*, dan β -sitosterol. Untuk dapat menarik senyawa tersebut, dalam proses ekstraksi digunakan pelarut etanol karena bersifat semi-polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan non-polar.

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas bangle dalam bentuk granul eferveses. Granul eferveses memiliki banyak keunggulan diantaranya yaitu lebih praktis sehingga mudah dikonsumsi oleh manusia, mempunyai warna, bau, rasa yang menarik, dan mudah larut dalam air. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris (*True experimental design*) dan menggunakan desain *randomized posttest only control design*. Populasi pada penelitian ini adalah 24 mencit galur Balb/c jantan karena strain ini dapat menimbulkan respon imunitas terhadap induksi malaria oleh *Plasmodium berghei*. Penelitian ini terdiri dari 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan empat kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan. Kelompok kontrol positif diberikan ACT 0,5824 mg/20grBB. Kelompok perlakuan diberikan granul eferveses ekstrak etanol rimpang bangle dengan dosis 0,183g/20gBB, 0,092g/20gBB, 0,046g/20gBB, 0,023g/20gBB. Terapi pada

penelitian ini diberikan selama 4 hari berdasarkan metode Peter yang dimodifikasi. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung derajat parasitemia melalui hapusan darah yang diambil dari ekor mencit selama 5 hari (hari ke-0 hingga hari ke-5). Derajat parasitemia diamati dengan menghitung eritrosit yang terinfeksi per 1000 eritrosit melalui mikroskop oleh tiga pengamat.

Hasil derajat parasitemia pada hari ke-5 dari tertinggi ke rendah didapatkan pada kelompok kontrol (11,36%), kelompok perlakuan dosis 0,183 g/20gBB (4,08%), 0,092 g/20gBB (4,48%), 0,046 g/20gBB (4,9%), 0,023 g/20gBB (5,09%), dan kelompok kontrol positif (0%). Hasil derajat parasitemia tersebut kemudian diolah untuk dihitung persentase penghambatannya. Hasil persentase penghambatan yang didapatkan pada kelompok kontrol positif adalah 94.45 ± 0.013 dan kelompok kontrol negatif adalah $0,00 \pm 0,00$. Persentase penghambatan pada kelompok perlakuan dengan dosis 0,183 g/20gBB adalah 64.087 ± 0.267 , kelompok perlakuan dengan dosis 0,092 g/20gBB adalah 60.47 ± 0.131 , kelompok dengan dosis 0,046 g/20gBB adalah 55.76 ± 0.437 , kelompok dengan dosis 0,023 g/20gBB adalah 54.08 ± 0.265 .

Data persentase penghambatan dilakukan uji normalitas dengan menggunakan Saphiro-wilk. Hasil uji normalitas Saphiro-wilk didapatkan nilai signifikansi $>0,05$ yang berarti bahwa setiap kelompok terdistribusi normal. Hasil uji korelasi Pearson juga menunjukkan angka koefisien sebesar 0,974 artinya korelasinya sangat kuat. Hubungan kedua variabel signifikan karena angka signifikansi $0,00 < 0,01$, dapat memiliki hubungan dua arah (two-tailed) dengan arah korelasi kedua variabel adalah positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa korelasi kedua variabel bersifat searah, semakin tinggi dosis yang diberikan akan semakin besar pula persentase penghambatan terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Hasil uji analisis probit menunjukkan nilai *Inhibitory Concentration of 50%* adalah 0,012 g/20gBB.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Granul Effervescent Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Sebagai Antimalaria Secara *In Vivo*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr.Enny Suswati, M. Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan dalam menempuh Pendidikan Dokter di Universitas Jember;
2. dr.Bagus Hermansyah, M. Biomed selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr.Srisurani Wiji Astuti, M. Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam proses penyusunan skripsi ini;
3. Dr.dr.Yunita Armiyanti, M. Kes. selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Supangat M. Kes. Ph.D Sp.BA selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan petunjuk dan pengarahan untuk memperbaiki skripsi ini;
4. dr.Wiwin Sugih Utami, M.Sc yang telah membantu dan memberi bimbingan, nasihat, motivasi, dan saran yang membangun dalam proses penyusunan skripsi ini;
5. Nuri, S.Si, Apt., M.Si dan Lidya Ameliana, SSi., Apt. M.Farm selaku Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang selama ini membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini;
6. Ayah dan ibu tercinta atas dukungan, doa, nasehat, dan semua curahan kasih sayang yang tidak pernah putus;
7. Kakak saya Herdy Perdana Wicaksono, A.Md yang selalu memberikan semangat dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini;

8. Keluarga besar Alm. Mohammad Hasan dan Alm. Mohammad Hanafi yang selalu mendukung penulis;
9. Ferry Fitriya, Kesya Sasta, Rudy Gunawan, Mbak Rika, dan Mbak Fikri selaku teman seperjuangan saya saat melakukan penelitian ini guna memenuhi tugas skripsi;
10. Sahabat-sahabat saya Anis Rahmawati, Ferry Fitriya, dan Izza Alimatus yang telah membantu serta memberikan motivasi dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini;
11. Teman-teman terdekat saya Desy Pratiwi, Herlinda Puji, Aristanti Endahningtyas, Afifatun Hasanah, Mutiara Aprilina, Gusfita Trisna, dan Deuxy Ilma yang telah memberikan motivasi dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini;
12. Analis Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Parasitologi, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Jember, serta Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Mbak Lilik S., Mbak Lilik P., Pak Madi., Mbak Sony, serta Pak Miski yang telah membantu dorongan dan semangat dalam penyelesaian skripsi ini;
13. Seluruh Staf Dekanat Fakultas Kedokteran Universitas Jember khususnya Pak Ramto, Pak Ilham, dan Mbak Ida yang selalu membantu dan memberikan semangat;
14. Seluruh angkatan 2014 yang telah berjuang bersama-sama demi gelar sarjana;
15. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 12 November 2017

Penulis

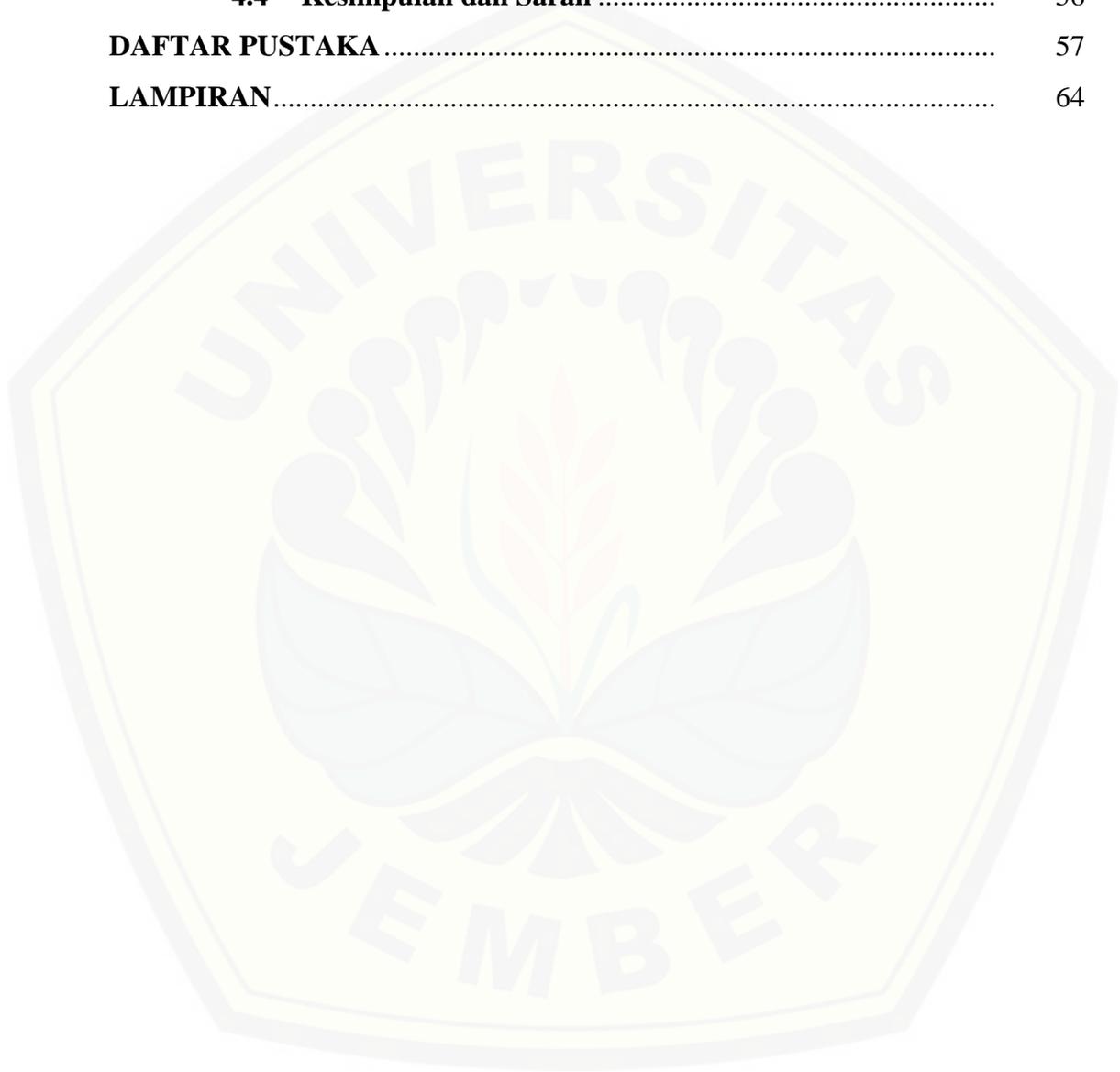
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSETUJUAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
PERSETUJUAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Malaria	5
2.1.1 Definisi Malaria	5
2.1.2 Epidemiologi Malaria	5
2.1.3 Etiologi Malaria	6
2.1.4 Siklus Hidup Plasmodium	9
2.1.5 Patogenesis Malaria	11
2.1.6 Manifestasi Klinis Malaria	14

2.1.7	Diagnosis Malaria	15
2.1.8	Pengobatan Malaria di Indonesia	16
2.1.9	Kasus Resistensi <i>Plasmodium berghei</i> terhadap Obat Anti Malaria (OAM)	19
2.2	Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.).....	20
2.2.1	Klasifikasi Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)....	20
2.2.2	Morfologi Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)	21
2.2.3	Kandungan Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) ..	22
2.2.4	Manfaat Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb..)	22
2.3	Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle	24
2.4	<i>Plasmodium berghei</i>	26
2.4.1	Klasifikasi <i>Plasmodium berghei</i>	26
2.4.2	<i>Plasmodium berghei</i> dalam penelitian malaria	26
2.5	Kerangka Konsep.....	28
2.6	Hipotesis Penelitian.....	29
BAB 3.	METODE PENELITIAN	30
3.1	Jenis Penelitian	30
3.2	Rancangan Penelitian	30
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.4	Populasi dan Sampel Penelitian.....	32
3.4.1	Populasi	32
3.4.2	Sampel	32
3.4.3	Jumlah Sampel	32
3.5	Variabel Penelitian.....	33
3.5.1	Variabel Bebas	33
3.5.2	Variabel Terikat	33
3.5.3	Variabel Luar.....	33
3.6	Definisi Operasional.....	34
3.6.1	Uji Aktivitas Antimalaria	34

3.6.2	Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)	34
3.6.3	Derajat Parasitemia	34
3.6.4	Persentase Penghambatan Terhadap <i>Plasmodium</i> ..	34
3.6.5	Nilai <i>Inhibitory Concentration of 50% (IC50)</i>	35
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	35
3.7.1	Preparasi hewan coba	35
3.7.2	Induksi malaria	35
3.7.3	Pembuatan granul efervesen bangle	35
3.7.4	Perlakuan	35
3.7.5	Pembuatan darah dan pembedahan	36
3.8	Prosedur Penelitian	36
3.8.1	Persiapan Hewan Coba.....	36
3.8.2	Pembuatan Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.).....	37
3.8.3	Penetapan Dosis Terapi Standar Malaria	38
3.8.4	Penetapan Dosis Granul Efervesen Ekstrak Etanol Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)	39
3.8.5	Infeksi <i>Plasmodium berghei</i>	40
3.8.6	Pemberian Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)	41
3.8.7	Pembuatan Hapusan Darah Sediaan Tetes Darah Tipis	41
3.8.8	Penentuan Derajat Parasitemia.....	41
3.8.9	Perhitungan Persentase Parasitemia	42
3.9	Analisis Data	43
3.10	Alur Penelitian	44
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	45
4.1	Hasil Penelitian	45
4.1.1	Hasil ekstraksi dan granulasi.....	45
4.1.2	Hasil derajat parasitemia	45
4.2	Analisis Data	50

4.2.1 Hasil uji normalitas Saphiro-wilk	50
4.2.2 Hasil uji korelasi Pearson.....	50
4.2.2 Hasil analisis probit.....	51
4.3 Pembahasan	51
4.4 Kesimpulan dan Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	64

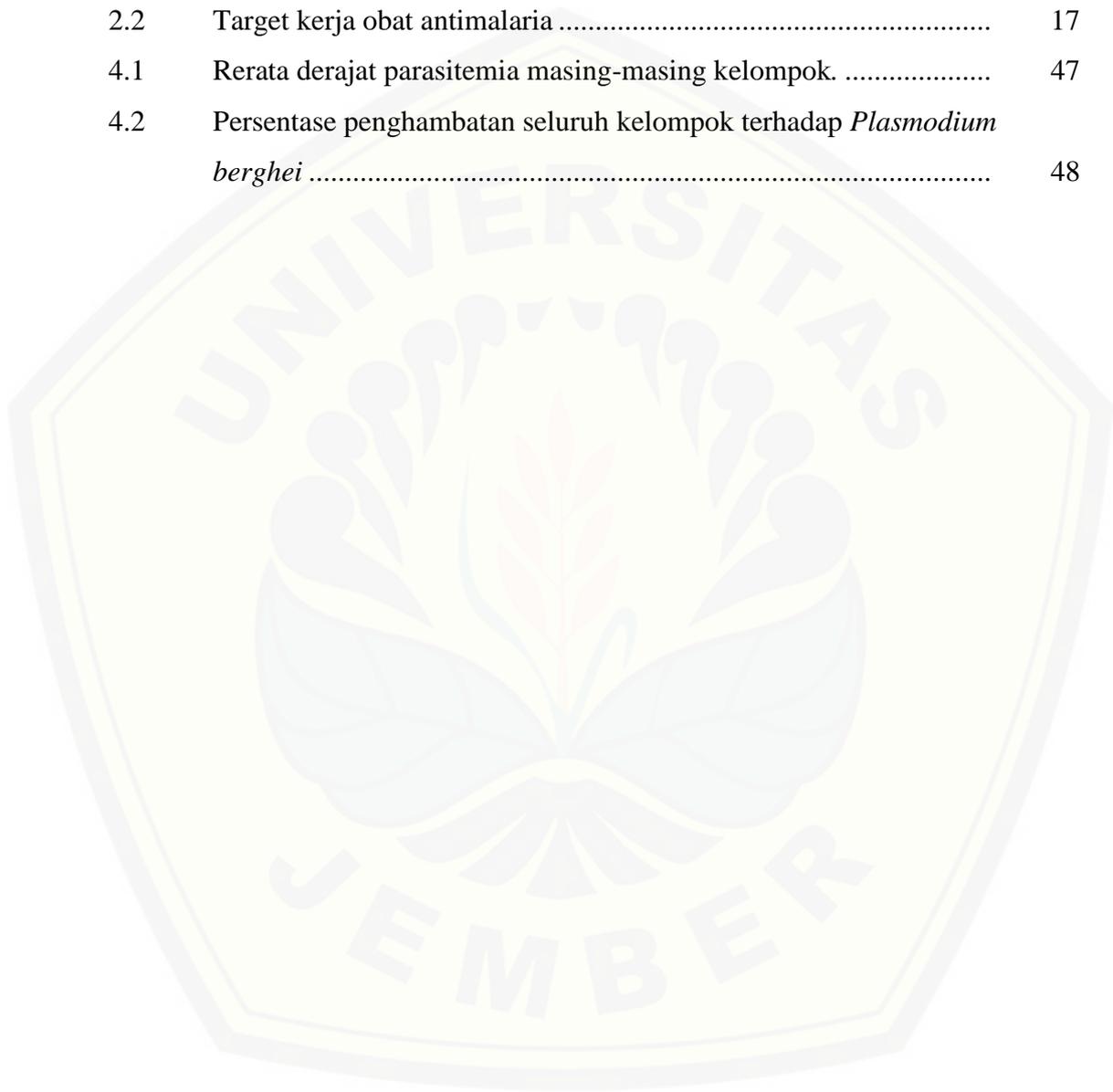


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1	Morfologi <i>Plasmodium</i> secara mikroskopis. 8
2.2	Siklus hidup <i>Plasmodium sp.</i> 11
2.3	Patofisiologi malaria 14
2.4	Alur penatalaksanaan pengobatan malaria..... 18
2.5	Morfologi rimpang bangle 21
2.6	Kerangka konsep..... 28
3.1	Rancangan penelitian 30
3.2	Skema pembuatan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle 38
3.3	Cara perhitungan derajat parasitemia degan metode <i>zig-zag pattern</i> 42
3.4	Skema alur penelitian..... 44
4.1	Sediaan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle 45
4.2	Gambaran <i>multiple infection</i> hapusan darah mencit yang terinfeksi <i>P.berghei</i> 46
4.3	Gambaran trophozoit dan <i>double infection</i> hapusan darah mencit yang terinfeksi <i>P.berghei</i> 46
4.4	Diagram rerata derajat parasitemia pada seluruh kelompok..... 48
4.5	Diagram persentase penghambatan masing-masing kelompok terhadap pertumbuhan <i>Plasmodium berghei</i> 49

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Klasifikasi morfologi <i>Plasmodium</i>	8
2.2 Target kerja obat antimalaria	17
4.1 Rerata derajat parasitemia masing-masing kelompok.	47
4.2 Persentase penghambatan seluruh kelompok terhadap <i>Plasmodium berghei</i>	48



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Ethical Clearance	64
Lampiran B. Hasil determinasi tumbuhan bangle.....	65
Lampiran C. Surat tugas penelitian.....	66
Lampiran D. Perhitungan dosis granul efervesen ekstrak etanol bangle (<i>Zingiber cassumunar</i>).....	67
Lampiran E. Perhitungan derajat parasitemia	70
Lampiran F. Perhitungan persentase penghambatan dan persentase pertumbuhan.....	77
Lampiran G. Hasil analisis	78
Lampiran H. Dokumentasi penelitian	80

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit infeksi parasit oleh *Plasmodium* melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina. Terdapat lima jenis spesies *Plasmodium* penyebab malaria di Indonesia yaitu *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*), *Plasmodium vivax* (*P.vivax*), *Plasmodium ovale* (*P.ovale*), *Plasmodium malariae* (*P.malariae*), dan *Plasmodium knowlesi* (*P. knowlesi*) (Elyazar *et al.*, 2011). *World Health Organization* (WHO) memperkirakan sekitar 214 juta kasus baru malaria dengan kematian 438 ribu jiwa di seluruh dunia (Kemenkes RI, 2016). Hasil evaluasi Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur menunjukkan bahwa terjadi penurunan kasus malaria dari 282 kasus tahun 2015 menjadi 152 kasus tahun 2016 (Kemenkes, 2016). Penurunan kasus malaria tersebut disebabkan karena pemerintah telah melakukan upaya eliminasi malaria secara bertahap di seluruh wilayah melalui strategi spesifik program malaria yang terdiri dari akselerasi, intensifikasi, dan eliminasi (Kemenkes, 2016).

Pengobatan malaria saat ini di Indonesia menggunakan *Artemisin-based Combination Therapy* (ACT) yang telah direkomendasikan WHO. Tiga tipe ACT yang digunakan di Indonesia yaitu dihydroartemisin-piperakuin, artemeter-lumefanrin, dan artesunat-amodiakuin (Harijanto, 2011). Saat ini, di perbatasan Thailand-Kamboja telah dilaporkan adanya resistensi ACT (Yusuf, 2014). Resistensi ACT di Indonesia masih belum dilaporkan tetapi diindikasikan telah terjadi resistensi. Hal tersebut dibuktikan bahwa sebanyak 11.59% pasien malaria *falciparum* mengalami kegagalan selama pengobatan ACT di Pesawaran, provinsi Lampung, Indonesia (Suwandi, 2014). Resistensi ACT tersebut dapat disebabkan karena penggunaan dalam waktu lama sehingga menyebabkan timbulnya strain yang resisten terhadap ACT khususnya komponen artemisin (Suwandi, 2015).

Berkembangnya resistensi terhadap pengobatan malaria mendorong penelitian untuk mencari potensi tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria. Kandungan bioaktif beberapa tanaman sebagai antimalaria sudah

banyak diteliti, salah satunya adalah curcumin. Curcumin secara efektif menghambat pertumbuhan *P.falciparum* (Reddy *et al.*, 2005). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa kombinasi curcumin dan artemisin efektif mengurangi derajat parasitemia pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan meningkatkan *survival rate* 95% dan mencegah kekambuhan (Vathsala *et al.*, 2012). Banyak pendapat ahli terkait mekanisme curcumin sebagai antimalaria. Aktivitas pro-oksidan curcumin menginduksi kerusakan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) *P. falciparum*. Curcumin mengganggu proses *histone acetylation* selama transkripsi melalui penghambatan PfGCN5 (Wiley, 2015). Curcumin juga berikatan dengan *sarcoenoplasmic reticulum* Ca^{2+} -ATPase (SERCA) malaria sehingga dapat menahan kemampuan metabolik parasit dalam menghasilkan ATP yang memicu kematian parasit. Curcumin dapat membunuh parasit malaria saat fase trophozoit (Haddad *et al.*, 2011).

Curcumin terkandung di berbagai tanaman tradisional salah satunya adalah bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) (Kaewchoothong, 2009). Bangle merupakan tanaman herbal dari famili *Zingiberaceae* yang sering digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia (Lim, 2016). Masyarakat mengonsumsi rimpang bangle sebagai obat tradisional dengan cara direbus untuk pereda nyeri, inflamasi, obat demam, obat sembelit, obat masuk angin, dan obat caceng. Rimpang bangle mengandung berbagai senyawa seperti alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, saponin, pati, tanin, curcumin, *phenylbutanoids*, *naphthoquinones*, *vanillin*, *veratric acid*, *terpenoids*, dan β -sitosterol (Koontongkaew *et al.*, 2014). Penelitian Armiyanti *et al.* (2013) membuktikan bahwa bangle dapat menghambat pertumbuhan derajat parasitemia dimana pada kelompok yang diterapi ekstrak rimpang bangle dan artemisin memiliki derajat parasitemia sebesar 1,3% dan kelompok yang hanya diberi bangle memiliki derajat parasitemia sebesar 2,5% sedangkan kelompok yang tidak diberi terapi memiliki derajat parasitemia sebesar 6,1%.

Kelemahan bangle ketika dikonsumsi dalam bentuk ekstrak adalah rasanya yang pahit dan tidak mudah larut dalam air. Oleh karena itu, sediaan ekstrak bangle perlu diubah menjadi bentuk yang lebih praktis yaitu granul

efervesen agar mudah dikonsumsi. Granul efervesen sangat cocok untuk produk dengan rasa pahit karena akan menutupi rasa tersebut (Purwandari, 2007). Sediaan granul efervesen mempunyai warna, bau, rasa yang menarik, mudah larut dalam air, lebih stabil secara kimia dibandingkan sediaan tablet efervesen, serta tidak segera menggumpal atau mengeras karena dibuat dengan menambahkan senyawa asam dan basa (Noerwahid, 2016). Granul efervesen memiliki keunggulan dibandingkan sediaan tablet dan kapsul, yaitu granul efervesen lebih praktis dikonsumsi bagi orang yang memiliki masalah sulit menelan seperti orang tua dan anak-anak serta lebih mudah dan lebih cepat dicerna oleh tubuh karena pada saat dikonsumsi zat aktif dalam keadaan terlarut (Allen, 2002). Melihat manfaat aplikatif pada granul efervesen bangle dan belum adanya penelitian terkait uji aktivitasnya sebagai obat antimalaria maka diperlukan pengembangan penelitian granul efervesen rimpang bangle lebih lanjut. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dalam uji aktivitas granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai antimalaria secara *in vivo*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang didapat sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai antimalaria secara *in vivo*?
2. Berapakah nilai *Inhibitory Concentration of 50% (IC50)* dari granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai antimalaria secara *in vivo*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki dua tujuan, yaitu tujuan umum dan tujuan khusus yang diuraikan sebagai berikut:

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui aktivitas granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai antimalaria secara *in vivo*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui derajat parasitemia setiap kelompok perlakuan yang diberi granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) pada berbagai dosis.
2. Mengetahui persentase penghambatan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) pada berbagai dosis terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebagai terapi antimalaria secara *in vivo*.
3. Mengetahui nilai *Inhibitory Concentration of 50%* (IC50) dari granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai antimalaria secara *in vivo*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapat dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memberikan sediaan obat baru dalam bentuk granul efervesen yang praktis untuk dikonsumsi dan mudah diterima oleh masyarakat sebagai terapi antimalaria.
2. Meningkatkan pemanfaatan fitofarmaka bagi dunia kedokteran.
3. Sebagai dasar pengobatan alternatif dan terapi komplementer malaria oleh masyarakat untuk mencegah komplikasi malaria yang menyebabkan kematian.
4. Memberikan pengetahuan baru yang dapat dijadikan sebagai studi pustaka untuk penelitian selanjutnya terkait peran granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai terapi antimalaria.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria

World Malaria Report 2015 menyebutkan bahwa malaria telah menyerang 106 negara di dunia. Indonesia merupakan salah satu negara endemis malaria dan sering mengalami Kejadian Luar Biasa (KLB) terutama di wilayah Indonesia bagian timur. Penyakit ini dapat menyebabkan kematian terutama terhadap kelompok risiko tinggi yaitu bayi, anak balita, dan ibu hamil. (Kemenkes, 2016).

2.1.1 Definisi Malaria

Malaria merupakan penyakit parasitik yang ditularkan oleh protozoa genus *Plasmodium* melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina. Kata malaria berasal dari istilah Italia “Mala Aria” yang artinya adalah udara buruk (Krishna, 2009). Hal tersebut dikarenakan dahulu malaria banyak terdapat di rawa-rawa dan mengeluarkan bau busuk. Penyakit ini memiliki nama lain di beberapa daerah Indonesia maupun dunia seperti demam roma, demam rawa, demam tropik, demam pantai, demam charges, demam kura, dan palludisme (Prabowo, 2008).

2.1.2 Epidemiologi Malaria

Penyakit malaria merupakan salah satu penyakit infeksi utama di dunia dan infeksi ketiga teratas dalam jumlah kematian (Setiati *et al*, 2014). Malaria umumnya menyerang daerah tropis. Sebanyak 3.4 milyar orang di daerah tropis dan sekitar 1.2 milyar pada daerah endemis yang memiliki risiko tinggi terkena malaria. Berdasarkan *World Malaria Report*, terdapat 211 juta kasus malaria pada tahun 2015 yang meningkat menjadi 216 kasus dengan mortalitas malaria sebanyak 45.000 jiwa pada tahun 2016 (WHO, 2017). Indonesia merupakan negara endemis malaria karena lingkungannya yang tropis cocok untuk pertumbuhan *Plasmodium*. Spesies *Plasmodium* yang dominan di Indonesia adalah *P.falciparum* (62%) dan *P.vivax* (37%) sedangkan *P. ovale* dan *P. malariae* biasanya ditemukan di wilayah Indonesia bagian Timur (WHO, 2017).

Prevalensi malaria di Indonesia pada tahun 2016 sebanyak 6% masyarakat berisiko tinggi terhadap transmisi malaria dan 94% berisiko rendah terhadap transmisi malaria. Dalam 10 tahun terakhir ini sudah terjadi perubahan peta endemisitas infeksi malaria di Indonesia, sebagian besar endemisitas tinggi di Papua dan Kalimantan sudah menurun. Mortalitas malaria di Indonesia juga terus menurun dari tahun 2014 sebesar 0,15 menjadi 0,08 (per 100.000) di tahun 2016 (WHO, 2016).

Prevalensi malaria dapat dilihat dari berbagai karakteristik. Berdasarkan karakteristik tempat tinggal, penduduk yang tinggal di pedesaan memiliki prevalensi yang lebih tinggi yaitu sebesar 7,1% terhadap prevalensi penduduk perkotaan sebesar 5%. Berdasarkan karakteristik pekerjaan, populasi dengan pekerjaan petani/nelayan/buruh memiliki prevalensi tertinggi yaitu 7,8%. Berdasarkan kelompok umur, kelompok umur 25-34 tahun (usia produktif) memiliki prevalensi tertinggi (Kemenkes RI, 2016).

2.1.3 Etiologi Malaria

Malaria disebabkan oleh infeksi parasit oleh *Plasmodium* melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina. Sebagian besar nyamuk *Anopheles* menggigit pada malam hari, puncak gigitan nyamuk dari malam sampai fajar (Shi *et al.*, 2007). Terdapat lima jenis spesies *Plasmodium* penyebab malaria di Indonesia yaitu *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.ovale*, *P.malariae*, dan *P.knowlesi* (Elyazar *et al.*, 2011).

Plasmodium falciparum ditemukan pada area tropis dan subtropis. *P.falciparum* ditemukan oleh Welch pada tahun 1897 (Chia, 2006). Hampir semua wilayah di Indonesia merupakan area transmisi *P.falciparum* seperti Sumatera, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara Timur, Maluku, dan Papua. *Plasmodium falciparum* mempunyai ciri-ciri tertentu yang berbeda dengan spesies lainnya, maka diklasifikasikan dalam subgenus *Laverania*. Morfologi khas *P.falciparum* (lihat Tabel 2.1 dan Gambar 2.1) diantaranya seperti eritrosit terinfeksi tidak mengalami perubahan ukuran, terkadang terdapat titik *Maurer*, dan bentuk gametosit seperti bulan sabit atau *banana shape*. *Plasmodium falciparum* menyebabkan malaria tersiana maligna. *Plasmodium falciparum* dapat

menyebabkan malaria berat karena dapat bermultiplikasi cepat pada eritrosit dan dapat menyebabkan kehilangan darah yang berat (anemia berat). *Plasmodium falciparum* dapat menyebabkan *clot* pada pembuluh darah kecil, jika hal tersebut terjadi pada otak dapat menyebabkan malaria serebral (Anwar *et al.*, 2014).

Plasmodium vivax ditemukan paling banyak di Asia, Amerika Latin, dan di beberapa bagian Afrika. *Plasmodium vivax* ditemukan oleh Labbe pada tahun 1899 (Paniker, 2013). *Plasmodium vivax* termasuk mayoritas *Plasmodium* yang menginfeksi wilayah Indonesia terutama di wilayah Nusa Tenggara Timur, Maluku dan Papua (Surjadjaja, 2016). Morfologi khas *P.vivax* (lihat Tabel 2.1 dan Gambar 2.1) diantaranya seperti trofozoit tua berbentuk ameboid, gametosit berbentuk lonjong atau bulat, eritrosit terinfeksi membesar, dan sering ada titik *schuffner* pada sitoplasma eritrosit. *Plasmodium vivax* dapat berdormansi pada liver (hipnozoit) yang dapat aktif kembali dan menyebabkan relaps beberapa bulan atau tahun setelah gigitan nyamuk *Anopheles*. *Plasmodium vivax* menyebabkan malaria tersiana benigna (Anwar *et al.*, 2014).

Plasmodium ovale banyak ditemukan di Afrika (khususnya Afrika Timur) dan di Pulau Pasifik Timur. *Plasmodium ovale* ditemukan oleh Stepphens pada tahun 1922 (Paniker, 2013). Secara biologi dan morfologi mirip dengan *P. vivax*, perbedaannya yaitu *P.ovale* dapat menginfeksi individu yang golongan darah Duffy negative (Setiati, 2014). Morfologi khas *P.ovale* (lihat Tabel 2.1 dan Gambar 2.1) diantaranya yaitu trofozoit tua berbetuk bulat, eritrosit terinfeksi membesar dan berbentuk tidak teratur dengan ujung bergerigi, serta selalu ada titik *schuffner* pada sitoplasma eritrosit. *Plasmodium ovale* menyebabkan malaria tersiana (Anwar *et al.*, 2014).

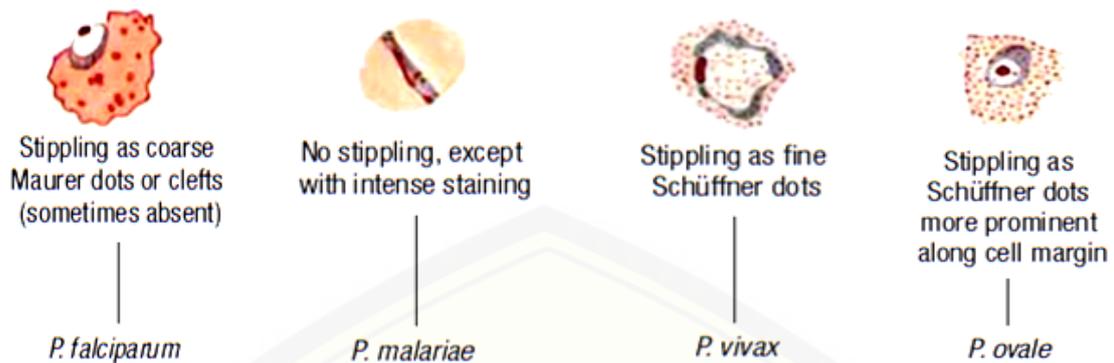
Plasmodium malariae ditemukan di berbagai belahan dunia dan memiliki ciri khas yaitu siklus kuartan. *Plasmodium malariae* ditemukan oleh Grassi dan Vellei pada tahun 1980 (Paniker, 2013). Morfologi khas *P.ovale* (lihat Tabel 2.1 dan Gambar 2.1) adalah erirosit tidak berubah atau lebih kecil dan bentuknya tidak berubah, serta terdapat titik *Zieman* (Anwar *et al.*, 2014). *Plasmodium malariae* menyebabkan malaria kuartana. Jika penyakit ini tidak diobati dapat menyebabkan infeksi kronik dan komplikasi seperti sindrom nefrotik.

Plasmodium knowlesi ditemukan di Asia Tenggara sebagai patogen kera jenis Makaka berekor panjang. *Plasmodium knowlesi* ditemukan oleh Robert dan Biraj Mohan Das Gupta dari suku Bengali (India) pada tahun 1931 (Arsin, 2012). *Plasmodium knowlesi* memiliki siklus replikasi 24 jam. Karena siklus hidupnya yang singkat, jumlah parasit dalam tubuh dapat cepat meningkat, sehingga infeksi *P. knowlesi* berpotensi menjadi penyakit yang berat. Morfologi *P. knowlesi* memiliki kemiripan dengan beberapa spesies *Plasmodium* yang lain. Morfologi stadium trofozoit muda mirip dengan *P.falciparum* dan penampilan trofozoit dewasa mirip dengan *P. malariae*. Ukuran eritrosit terinfeksi tidak membesar dan sitoplasma amoeboid mirip dengan *P.vivax*. Beberapa penelitian sebelumnya mengatakan terdapat bintik *Schuffner* namun peneliti lain menyebutnya sebagai bintik *Sinton* atau *Mulligan*, jumlah inti merozoit pada skizon *P. knowlesi* yang ditemukan relatif sedikit yaitu 3-10 inti (Ompusunggu *et al.*, 2015).

Tabel 2.1 Klasifikasi Morfologi *Plasmodium*

Morfologi	<i>P.falciparum</i>	<i>P.malariae</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.ovale</i>
Trofozoit muda	Cincin halus, Infeksi, multiple Bentuk accole 1-2 titik, kromatin kecil	Cincin tebal 1 titik kromatin	Cincin tebal 1 titik kromatin	Cincin tebal 1 titik kromatin
Trofozoit tua	Cincin membesar agak tidak teratur	Bulat dengan kromatin di tengah dan bentuk pita pigmen jelas	Tidak teratur, ameboid	Bulat, kompak
Skizon	Jarang tampak dalam darah tepi 8-32 buah merozoit	8-10 buah merozoit, tersusun sebagai roset, biasanya di tengah	12-18 buah merozoit, susunan teratur	8-14 buah merozoit susunan tidak teratur
Gametosit	Seperti bulan sabit	Lonjong atau bulat	Lonjong atau bulat	Lonjong atau bulat
Besar eritrosit	Tidak berubah	Tidak berubah atau lebih kecil	Membesar	Membesar
Bentuk eritrosit	Kadang-kadang berubah dan ada krenasi	Tidak berubah	Tidak berubah	Sering tidak teratur dengan ujung bergerigi
Titik-titik	Kadang ada titik Maurer	Jarang ada titik Zieman	Sering ada titik Schuffner	Selalu ada titik Schuffner

Sumber: (Anwar *et al.*, 2014)



Gambar 2.1 Morfologi *Plasmodium* secara Mikroskopis (Sumber: WHO, 2010)

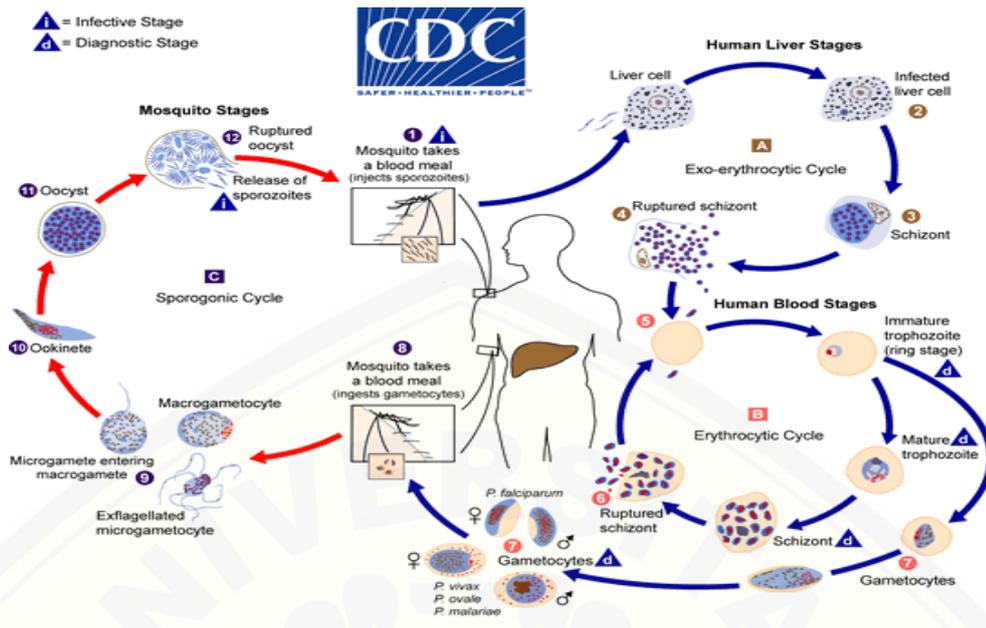
2.1.4 Siklus Hidup *Plasmodium*

Siklus hidup *Plasmodium* dibagi menjadi dua tahap yaitu seksual yang terjadi di dalam tubuh nyamuk dan aseksual yang terjadi di dalam tubuh manusia. Siklus aseksual dimulai ketika nyamuk *Anopheles* betina yang mengandung sporozoit menghisap darah manusia. Sporozoit masuk ke dalam aliran darah manusia terbawa ke hati dan menginfeksi sel hati dalam beberapa jam setelah gigitan. Pada saat ini belum ada gejala. Di dalam sel-sel hati, sporozoit akan mengalami replikasi aseksual yang disebut sebagai siklus eksoeritrositer. Siklus eksoeritrositer terjadi selama 10-14 hari dimana sporozoit menjadi schizon dan menghasilkan banyak merozoit. Jumlah merozoit dan schizon yang dihasilkan oleh satu sel sporozoit tidak sama pada masing-masing spesies *Plasmodium*. Jumlah merozoit *P. falciparum* di dalam satu sel schizon dewasa sebanyak 32 dan lama siklusnya 24 jam, artinya reproduksi tinggi dan cepat sehingga kepadatan trophozoit pada darah sangat tinggi. Jumlah merozoit *P. vivax* dan *P. ovale* sebanyak 16 dan lama siklusnya 48 jam, artinya reproduksi rendah dan lebih lambat sehingga kepadatan trophozoit pada darah sering rendah. Sedangkan jumlah merozoit *P. malariae* sebanyak 8 dan lama siklusnya 72 jam, artinya reproduksi lebih rendah dan lebih lambat. Ini mungkin yang menjadi penyebab jarangya spesies ini ditemukan (Hakim, 2011; Setiati *et al.*, 2014). Pada *P. vivax* dan *P. ovale* merozoit yang dilepaskan oleh skizon pra-eritrosit memasuki kembali sel hati yang baru (hipnozoit), dan membentuk stadium ekso-eritrosit sekunder dan

merozoit dari stadium ekso-eritrosit sekunder yang masuk dalam darah menyebabkan relaps (Anwar, 2014).

Setelah schizon pecah, merozoit akan masuk ke dalam aliran darah dan menginfeksi eritrosit. Merozoit yang menginfeksi eritrosit akan berkembang menjadi parasit dengan bentuk cincin (trofozoit) karena adanya vakuola di dalam sel parasit yang mendorong inti selnya ke tepi. Trofozoit kemudian bereplikasi aseksual dengan pembelahan inti menjadi schizon yang terdiri dari 10-30 inti bergantung spesies parasitnya. Setiap inti akan menjadi parasit baru yang akan keluar dari sel dengan melisis sel eritrosit dan keluar sebagai merozoit dan menginfeksi eritrosit lain. Dalam 10-14 hari, jumlah *Plasmodium* yang menginfeksi eritrosit sudah cukup banyak untuk menimbulkan gejala klinis. (Hakim, 2011; Anwar, 2014).

Sebagian trofozoit ada yang berkembang menjadi gamet jantan dan betina. Gamet akan terhisap bersama eritrosit saat nyamuk menghisap darah. Tahap ini berlanjut menjadi tahap seksual. Di dalam usus nyamuk, gamet akan keluar dari eritrosit yang lisis dan akan melakukan fertilisasi membentuk zigot. Zigot akan berkembang menjadi ookinet, parasit tersebut akan menembus dinding usus dan menempel pada permukaan luar dinding usus, dimana parasit berkembang menjadi ookista. Ookista pecah dan menghasilkan ribuan sporozoit baru yang akan mengikuti endolimfe nyamuk untuk menyebar ke bagian tubuh lainnya termasuk ke dalam kelenjar ludah nyamuk. Waktu yang dibutuhkan oleh sel gamet berkembang menjadi zigot untuk sampai ke dalam kelenjar ludah nyamuk disebut dengan masa inkubasi ekstrinsik yang berkisar antara 12-14 hari di dalam tubuh nyamuk. Setelah sporozoit berada di dalam air liur nyamuk, maka nyamuk *Anopheles* menjadi infeksiif seumur hidupnya dan siap menularkan parasit malaria (Hakim, 2011; Anwar, 2014). (lihat Gambar 2.2)



Gambar 2.2 Siklus hidup *Plasmodium* sp. (Sumber: CDC, 2016)

2.1.5 Patogenesis Malaria

Patogenesis malaria akibat dari interaksi kompleks antara parasit, inang, dan lingkungan. Siklus skizogoni (aseksual) pada manusia menyebabkan kerusakan eritrosit sehingga terjadi anemia. Adanya toksin malaria juga menyebabkan gangguan fungsi eritrosit. Eritrosit yang dirusak oleh *Plasmodium* tidak hanya eritrosit yang terinfeksi tetapi juga eritrosit yang tidak terinfeksi akibat perubahan intrinsik dan ekstrinsik. Perubahan pada eritrosit yang tidak terinfeksi akibat dari aktivitas makrofag yang meningkat pada limpa. Perubahan intrinsik meliputi deformabilitas sedangkan perubahan ekstrinsik dikarenakan sensitisasi komplemen (C3 dan C4) dan atau imunoglobulin (IgG dan IgA) pada eritrosit yang tidak terinfeksi. Keadaan anemia pada malaria juga diperberat oleh supresi pada sumsum tulang akibat peningkatan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) sehingga menghambat proses eritropoesis (Wahlgren *et al.*, 2005).

Kerusakan eritrosit terinfeksi maupun yang tidak terinfeksi, peningkatan fagositosis oleh mononuklear limpa dan lisis yang dimediasi *complement-fixing malaria antigen-antibody*, menyebabkan hipertrofi RES (*Reticuloendothelial System*) dan berkontribusi terhadap terjadinya splenomegali. Splenomegali pada

malaria disebabkan peningkatan kerja limpa untuk mengeliminasi eritrosit terinfeksi melalui mekanisme imun dan pengenalan perubahan deformabilitas eritrosit. Limpa mengalami pembesaran dan pembendungan serta pigmentasi sehingga mudah pecah (Buffet *et al.*, 2011).

Selama proses eritrositik, eritrosit yang mengandung parasit memicu makrofag yang sensitif endotoksin untuk melepaskan berbagai mediator seperti TNF- α , IL-1 dan IL-6 yang bekerja langsung pada hipotalamus anterior untuk mengubah titik set termoregulator melalui stimulasi sintesis prostaglandinE dalam pusat termoregulator di hipotalamus. Endotoksin tersebut mungkin berasal dari saluran cerna parasit serta parasit malaria sendiri dapat melepaskan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) yang merupakan suatu monokrin, ditemukan dalam peredaran darah manusia yang terinfeksi malaria. TNF dan sitokin dapat menimbulkan demam, hipoglikemia, dan sindrom pernafasan (Tambajong, 2000).

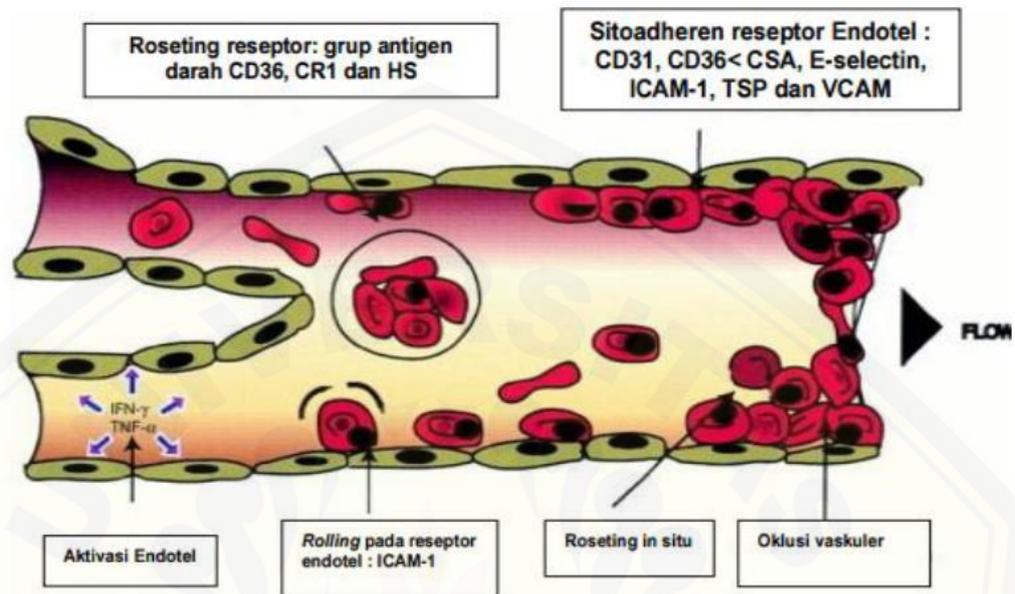
Tropozoit selama siklus eritrositik terus berkembang menjadi schizon hingga eritrosit lisis. Lisisnya eritrosit tersebut menyebabkan timbulnya demam. Demam yang terjadi pada malaria bersifat periodik. Demam periodik meliputi fase menggigil, dingin, dan berkeringat. Siklus demam tersebut bergantung pada spesies *Plasmodium*. Demam tersebut dimulai dengan periode menggigil dan kedinginan. Setelah 1-2 jam akan diikuti peningkatan suhu tubuh pada penderita. Setelah fase demam akan diikuti diaforesis dimana penderita akan mengeluarkan keringat hingga suhu tubuh normal kembali. Demam pada *P.vivax* dan *P.ovale* muncul setelah 18 sampai 40 hari setelah pertama kali infeksi. Demam tersebut muncul dalam siklus 72 jam (setiap hari pertama dan hari keempat) dimana siklus lisis eritrosit terjadi setiap 4 hari. Siklus demam tersebut disebut sebagai demam quartana. *Plasmodium malariae* memiliki siklus demam yang berbeda yaitu timbul gejala demam 20 hari setelah terinfeksi dengan perubahan demam setiap 48 jam (setiap hari pertama dan hari ketiga) dimana siklus lisis eritrosit setiap 3 hari. Siklus demam pada *P.malariae* ini disebut sebagai demam tertiana. Berbeda dengan *Plasmodium* sebelumnya, *P.falciparum* memiliki masa inkubasi hingga 15 hari dengan periode demam 24-48 jam diikuti gejala berat. Periode demam pada *P.falciparum* disebut sebagai demam tropika (Herchline, 2017).

Eritrosit yang terinfeksi oleh *P.falciparum* juga membentuk tonjolan (*knobs*) pada permukaannya. Tonjolan tersebut mengandung antigen dan bereaksi dengan antibodi malaria dan berhubungan dengan afinitas eritrosit yang mengandung parasit terhadap endotelium kapiler. Eritrosit yang terinfeksi menempel pada endotelium dan membentuk gumpalan yang mengandung kapiler yang bocor sehingga menimbulkan anoksia dan edema jaringan (Setiati *et al.*, 2014).

Pada malaria berat, mekanisme patogenesisnya berkaitan dengan invasi merozoit ke dalam eritrosit sehingga menyebabkan eritrosit yang mengandung parasit mengalami perubahan struktur dan biomolekuler sel untuk mempertahankan kehidupan parasit. Perubahan tersebut meliputi mekanisme diantaranya transport membran sel, sitoaderensi, sekuestrasi, dan rosetting (Harijanto, 2000). Sitoaderensi adalah peristiwa melekatnya *Parasit-Red Blood Cell* (P-RBC) dengan permukaan endotel vaskuler. Sitoaderensi terjadi akibat adanya molekul adhesif pada permukaan knob P-RBC yaitu *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membran Protein-1* (PfEMP-1) akan melekat dengan molekul adhesif pada permukaan vaskular berupa CD36, trombospondin, *Intercellular-Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1), *Endothel Leucocyte Adhesion Molecule-1* (ELAM-1), E-selectin, TSP, dan *Glycosaminoglycan Chondroitin Sulfate A* (lihat Gambar 2.2). Sitoaderensi menyebabkan P-RBC matur tidak beredar dalam sirkulasi sehingga tetap berada di mikrovaskular, yang disebut sebagai sekuestrasi. Hanya *P.falciparum* yang mengalami sekuestrasi. Sekuestrasi terjadi pada organ vital dan hampir semua jaringan dalam tubuh (Harijanto, 2006).

Parasit-Red Blood Cell juga dapat berikatan dengan 10 atau lebih eritrosit non parasit. Mekanisme tersebut disebut rosetting. Saat ini telah diidentifikasi lima reseptor rosetting pada eritrosit, yaitu: antigen golongan darah A dan B, CD36, *Complement Receptor 1* (CR1), dan *heparan sulfate like glycosaminoglycans*. Rosetting dan sitoaderensi menyebabkan oklusi vaskuler lokal atau dalam jaringan sehingga menyebabkan komplikasi malaria seperti malaria serebral penyebab kematian (lihat Gambar 2.3). *Plasmodium falciparum*, *P.vivax*,

dan *P.ovale* membentuk *rosset* tetapi hanya *P.falciparum* yang dapat menyebabkan malaria berat (Autino *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Patofisiologi malaria (Sumber: Depkes RI, 2013)

2.1.6 Manifestasi Klinis Malaria

Manifestasi umum malaria dibagi menjadi tiga berdasarkan fase yaitu inkubasi, prodromal, dan gejala umum. Pada masa inkubasi saat hari ke-8 hingga ke-37 belum terdapat gejala yang dominan. Keluhan muncul saat fase prodromal. Keluhan prodromal dapat terjadi sebelum terjadinya demam yaitu berupa malaise, lesu, sakit kepala, sakit tulang belakang, nyeri pada tulang dan otot, anoreksia, perut tidak enak, diare ringan dan kadang merasa dingin di punggung. Keluhan prodromal sering terjadi pada *P.vivax* dan *P.ovale* sedangkan pada *P.falciparum* dan *P.malariae* keluhan prodromal tidak jelas (Harijanto, 2000).

Manifestasi ketiga disebut gejala klasik malaria (trias malaria) yang terdiri dari demam periodik, anemia, dan splenomegali. Demam periodik ini dibagi menjadi tiga periode yaitu periode dingin, periode panas, dan periode berkeringat. Pada periode dingin dimulai dengan menggigil, kulit dingin dan kering, seluruh badan gemetar, pucat sampai sianosis. Periode ini berlangsung antara 15 menit sampai 1 jam diikuti dengan meningkatnya temperatur. Periode

selanjutnya adalah periode panas. Wajah penderita terlihat merah, kulit panas dan kering, nadi cepta dan panas tubuh tetap tinggi hingga 40⁰C atau lebih, respirasi meningkat, nyeri kepala, muntah-muntah, nyeri retroorbital, dan dapat terjadi syok. Periode ini berlangsung lebih lama dari fase dingin hingga 2 jam atau lebih, diikuti dengan keadaan berkeringat. Periode ketiga adalah periode berkeringat. Penderita berkeringat mulai dari temporal, diikuti seluruh tubuh, penderita merasa lelah dan sering tertidur. Bila penderita bangun akan merasa sehat dan dapat melakukan pekerjaan biasa (Harijanto, 2006).

Trias klasik lainnya adalah anemia dan splenomegali. Anemia merupakan gejala yang sering ditemui pada infeksi malaria akibat destruksi eritrosit selama proses infeksi. Destruksi eritrosit yang berlebihan tersebut akan membuat spleen melakukan pekerjaan lebih berat sehingga terjadi splenomegali. Kelainan pada limpa akan terjadi setelah 3 hari dari serangan akut dimana limpa akan membengkak nyeri, dan hiperemis (Harijanto, 2006; Mansyor, 2001).

Pada malaria *falciparum* dapat terjadi manifestasi malaria berat. Penderita malaria dengan komplikasi umumnya digolongkan sebagai malaria berat yang menurut WHO didefinisikan sebagai infeksi *P.falciparum* dengan satu atau lebih komplikasi meliputi malaria serebral, anemia berat, *respiratory-distress*, hipoglikemia, syok, gagal ginjal akut, *blackwater fever*, ikterus (WHO, 2011; Siregar, 2015).

2.1.7 Diagnosis Malaria

Diagnosis malaria dapat ditegakkan melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Anamnesis bertujuan untuk mengetahui riwayat pasien seperti keluhan pasien, usia, riwayat berkunjung di daerah yang endemik malaria, riwayat tempat tinggal di daerah endemik, riwayat pernah sakit malaria, riwayat minum obat antimalaria, riwayat kehamilan, dan riwayat pernah mendapatkan transfusi. Diagnosis klinis malaria adalah diagnosis malaria berdasarkan pada pemeriksaan secara klinis yaitu seperti trias klasik malaria meliputi demam berkala ($\geq 37,5^0\text{C}$), anemia, dan splenomegali. Gejala yang paling sering terjadi adalah demam dan menggigil, yang bisa disertai sakit kepala,

mialgia, artralgia, kelemahan, muntah, diare, trombositopenia, hipoglikemia, disfungsi paru dan ginjal, serta perubahan neurologis. Pada penderita dengan malaria berat ditemukan tanda-tanda klinis seperti temperatur rektal $\geq 40^{\circ}\text{C}$, nadi cepat dan lemah, tekanan darah sistolik $< 70\text{mmHg}$, frekuensi nafas > 35 kali, penurunan kesadaran, ptekie, purpura, hematoma, dehidrasi, ikterus, pembesaran limpa dan hepar, gagal ginjal, kaku kuduk dan reflex patologis positif. (Setiati *et al.*, 2014; Anwar *et al.*, 2014)

Pemeriksaan penunjang malaria sangat penting untuk menegaskan diagnosis pasti. Tes diagnostik yang direkomendasikan WHO (2017) yaitu dengan pemeriksaan mikroskopis dan *Rapid Diagnostic Test* (RDT). Selain itu juga terdapat pemeriksaan imunoserologi, pemeriksaan serologi, pemeriksaan biomolekuler, dan pemeriksaan kimia darah. *Gold standart* penegakan diagnosis malaria adalah dengan pemeriksaan mikroskopis dengan ditemukannya parasit dalam darah. Hapusan darah yang dibuat yaitu hapusan darah tebal dan tipis untuk menentukan ada tidaknya parasit malaria, spesies dan stadium *Plasmodium*, dan kepadatan parasit. *Rapid Diagnostic Test* berfungsi untuk mendeteksi antigen parasit malaria dengan menggunakan metode immunokromatografi dalam bentuk dipstik. Tes serologi berguna untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik terhadap malaria atau pada keadaan dimana parasit sangat minimal (Harijanto, 2000).

2.1.8 Pengobatan Malaria Di Indonesia

Pengobatan malaria yang dianjurkan saat ini dengan pemberian ACT. Pemberian kombinasi ini untuk meningkatkan efektifitas dan mencegah resistensi. Penggunaan kombinasi malaria adalah penggunaan dua atau lebih obat anti malaria yang farmakodinamik dan farmakokinetiknya sesuai, bersinergi dan berbeda cara terjadinya resistensi (Depkes RI, 2013). *Artemisin-based Combination Therapy* mempunyai banyak manfaat karena akan memperpanjang waktu resistensi dan mencegah terjadinya resistensi, mengurangi resiko terjadinya pengulangan gejala klinis "*recrudescence*", dan mengurangi waktu paruh obat yang panjang sehingga dapat mempercepat kesembuhan (Simamora, 2007).

Mekanisme ACT berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan parasit. Derivat dari artemisin seperti artemether, arteether, dan artesunate bertindak cepat melawan gametosit parasit pada fase seksual. Sinergi pada terapi kombinasi dengan artemisin seperti contohnya artemisin kombinasi dengan kuinolon karena memiliki persamaan target pada heme atau heme polimerase di (*food vacuole*) FV. Kombinasi meflokuin dan artemisin dengan afinitas yang tinggi akan mengikat membran fosfolipid. Kombinasi terapi yang lain dari kelompok kuinolin metanol yaitu kuinin dan meflokuin. Keduanya bersinergi aktif dengan artemisin, namun bukan untuk semua komponen dari kuinolin metanol. Hal serupa ditemukan bahwa artemisin juga dapat bersinergi dengan komponen obat antimalaria dari kelompok 2 amino aril alcohol (Simamora, 2007). Selain mekanisme di atas, beberapa mekanisme kerja dan target dari obat malaria yang telah diteliti oleh peneliti pendahulu, sebagai berikut (lihat Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Target Kerja Obat Antimalaria

Lokasi target	Jalur mekanisme	Molekul target	Terapi yang ada
Sitosol	Metabolisme folat	Dihydrofolate reductase	Pyrimethamine, Proguanil
		Dihydropteroate synthase	Sulfadoxine, Dapsone
		Thymidylate synthase	
Membrane parasit	Phospholipid synthesis ransport membran	Glycolysis	Lactate dehydrogenase
		Choline transporter	
		unique channels	
Vakuola makanan	Heme polymerization	Hemozoin	Quinolines
		Hemoglobin hydrolysis	Plasmeppsins
		Falcipains	
Mitokondria	Pembentukan radikal bebas	Unknown	Artemisin
		Transport elektron	Cyt.C. Oxidoreductase
Apikoplas	Protein synthesis	Apikoplast ribosom	Antibiotics
	DNA synthesis	DNA gyrase	Quinolones
	Transkripsi	RNA polymerase	Rifampin

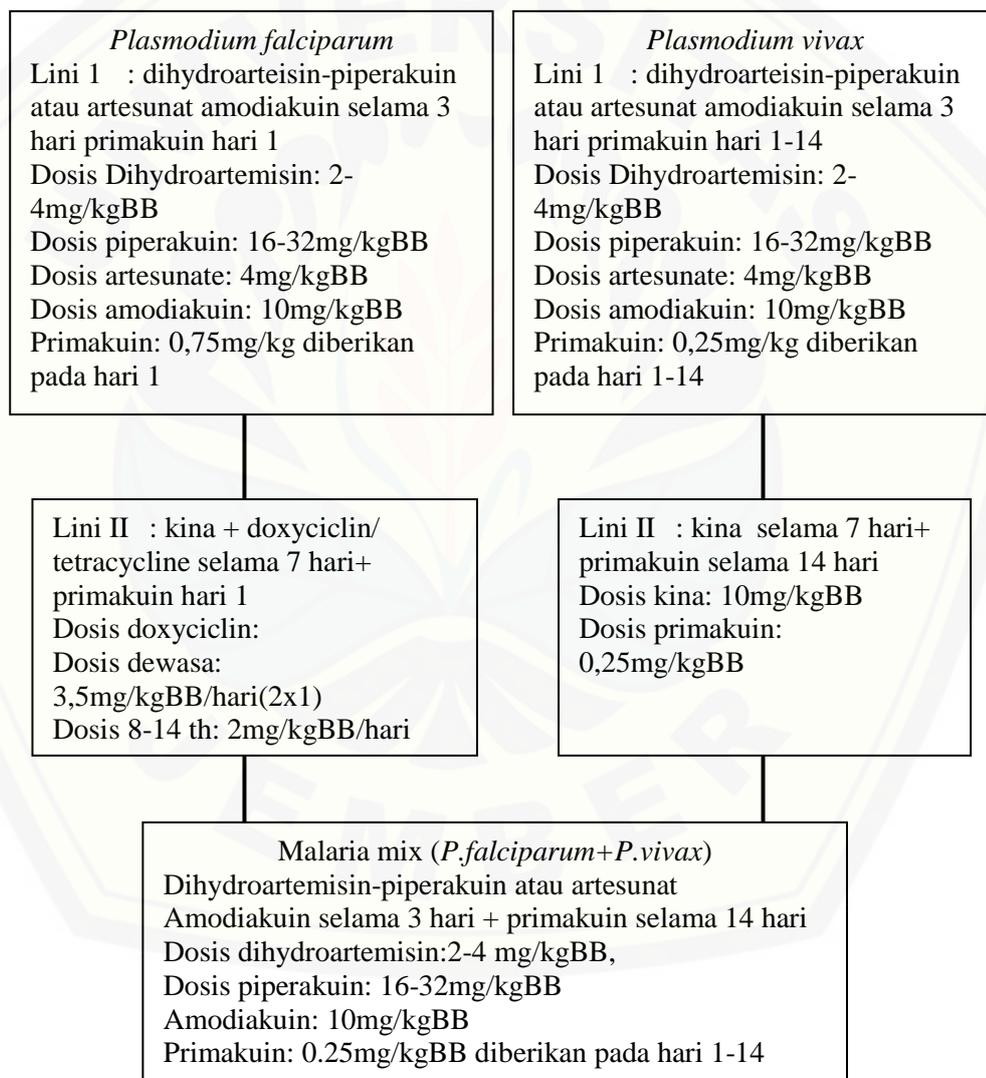
(Sumber: WHO, 2010)

Pengobatan malaria di Indonesia secara spesifik dibagi menjadi dua, yaitu pengobatan malaria tanpa komplikasi dan pengobatan malaria dengan komplikasi. Malaria tanpa komplikasi diobati dengan pemberian ACT secara oral.

Malaria berat diobati dengan injeksi artesunat atau artemer dilanjutkan dengan ACT oral. Pengobatan malaria juga dibedakan sesuai dengan jenis *Plasmodium*.

a. Pengobatan malaria tanpa komplikasi

Pengobatan malaria tanpa komplikasi ditentukan oleh jenis *Plasmodium* dan ada tidaknya kasus resistensi pada obat yang akan digunakan pada daerah tersebut. Di Indonesia mayoritas kasus malaria akibat *P.falciparum* dan *P.vivax*. Alur pengobatan berdasarkan Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2013, sebagai berikut. (lihat Gambar 2.4) .



Gambar 2.4 Alur Penatalaksanaan Pengobatan Malaria (Sumber: Depkes 2013)

b. Pengobatan malaria dengan komplikasi

Penanganan malaria berat yang cepat dan benar akan menyelamatkan penderita dari kematian. Pengetahuan yang luas tentang manifestasi malaria berat, evaluasi fungsi organ yang terlibat, deteksi parasit dengan cepat serta langkah-langkah tindakan dan pengobatan sangat diperlukan. Berdasarkan Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2013, prinsip tindakan untuk malaria berat adalah sebagai berikut.

1. Tindakan umum
2. Pengobatan terhadap malaria
 - a) Obat anti malaria
 - b) *Exchange transfusion*
3. Pengobatan komplikasi

Malaria berat diobati dengan injeksi artesunat atau artemer dilanjutkan dengan ACT oral.

2.1.9 Kasus Resistensi *Plasmodium* Terhadap Obat Anti Malaria (OAM)

Berdasarkan WHO (2017) resistensi parasit terhadap obat antimalaria telah dilaporkan 3 dari 5 spesies malaria yang telah diketahui yaitu *P.falciparum*, *P.vivax*, dan *P.malariae*. Di Indonesia, adanya *P. vivax* resisten terhadap klorokuin pertama kali di laporkan pada tahun 1991 dari Irian Jaya, kemudian menyusul laporan dari Sumatera, Kalimantan, dan beberapa daerah lain di Indonesia (Baird, 1991). Resistensi parasit menyebabkan penundaan atau *clearance* parasit menjadi tidak sempurna terhadap darah pasien ketika pasien dalam masa pengobatan. Masalah dari resistensi obat antimalaria yaitu resisten terhadap satu obat berarti resisten terhadap obat lain yang memiliki kesamaan bahan kimia atau kemiripan dalam *mode of action*. Resistensi terhadap artemisin dan ACT menurut WHO (2017) didefinisikan sebagai berikut:

- Resistensi artemisin didefinisikan sebagai penundaan terhadap *clearance* parasit selama pengobatan dengan artesunat monoterapi atau dengan ACT. Peristiwa ini disebut sebagai resistensi parsial.

- Resistensi ACT didefinisikan sebagai resistensi terhadap 2 komponen obat, misalnya resistensi parsial artemisin dan resisten obat sejenisnya (*one partner*).
- Kegagalan ACT didefinisikan sebagai kegagalan pengobatan diikuti pengobatan dengan ACT, terlepas dari adanya resisten terhadap artemisin.

Resistensi *P.falciparum* ditemukan pada *Artemisin Combination Therapy* (ACT). ACT merupakan pengobatan lini pertama pada malaria yang disarankan oleh WHO. Studi yang telah dilakukan di Thailand dan Kamboja untuk menilai efikasi terapi artesunat-mefloquine menunjukkan bahwa terdapat tingginya kegagalan terapi ACT di beberapa provinsi di Thailand dan Kamboja ditandai dengan adanya waktu *clearance* yang memanjang oleh strain parasit pada pasien malaria. Resistensi ACT di Indonesia masih belum dilaporkan tetapi diindikasikan telah terjadi resistensi. Hal tersebut dibuktikan bahwa sebanyak 11.59% pasien malaria *falciparum* mengalami kegagalan selama pengobatan ACT di Pesawaran, provinsi Lampung, Indonesia (Suwandi, 2014). Beberapa usaha yang dianjurkan oleh WHO dalam mengatasi adanya resistensi yaitu terdiri dari 5 tahap, yaitu: menghentikan penyebaran parasit yang resisten, meningkatkan monitoring dan survey untuk mengevaluasi pengobatan ACT, memperbaiki akses untuk mendiagnosis dan pengobatan rasional dengan ACT, penelitian terhadap resistensi artemisin, memotivasi, dan menggerakkan sumber daya dalam mengatasi resistensi obat antimalaria (Rajendran, 2013).

2.2 Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*)

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan akan sumber daya alamnya. Berbagai jenis flora telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat herbal baik yang telah diteliti ataupun belum khasiatnya, salah satunya adalah tanaman bangle. Bangle merupakan salah satu tanaman herbal tetapi belum dimanfaatkan secara optimal.

2.2.1 Klasifikasi Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Klasifikasi tanaman bangle adalah sebagai berikut.

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb
Sinonim	: <i>Zingiber cassumunar</i>
Nama umum	: Bangle

2.2.2 Morfologi Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)



Gambar 2.5 Morfologi rimpang bangle (Sumber: Muhlisah, 2011)

Bangle merupakan tanaman herbal semusim, tumbuh tegak, tinggi 1-1,5m, membentuk rumpun yang agak padat, berbatang semu, terdiri dari pelepah daun yang dipinggir ujungnya berambut sika. Batang bangle tumbuh tegak dan memiliki rumpun yang rapat. Batang semu bangle tersusun atas pelepah daun. Daun tunggal dan letaknya berseling, berbentuk lonjong, tipis, ujung runcing, pertulangan menyirip, panjang 25-35 cm, lebar 20-40 mm, dan berwarna hijau. Bunga bangle muncul dari permukaan tanah, berasal dari rimpang samping. Bunga berbentuk gelendong, dan tangkainya merupakan tangkai semu yang tersusun dari tumpukan daun penumpu bunga. Bentuk rimpang bangle agak bulat

pendek dan tidak banyak bercabang dengan kulit luar berwarna coklat muda dan daging rimpang berwarna oranye tua atau kecoklatan (lihat Gambar 2.5).

2.2.3 Kandungan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Kandungan senyawa kimia di dalam rimpang bangle antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, minyak atsiri (1,8%), steroid, gula, lemak, sineol dan pinen. Bangle atas dasar bahan kering mengandung 42 komponen seperti sabinen, terpinen-4-ol, seskuifeladren, sineol, asam dan gom, asam-asam organik, albuminoid serta kurkuminoid (casumunin A,B,C) (Hanani, 2000). Berdasarkan analisis proksiat bangle menunjukkan kandungan air 72,38%, abu 5,60%, protein kasar 0,23%, serat kasar 8,52%, karbohidrat 11,73%, dan leak 1,54%. Analisis fitokimia mengandung alkaloid, saponin, fenol hidrokuinon, flavonoid, triterpenoid yang rendah serta tidak mengandung steroid (Hermansyah, 2014). Derivat phenylbutenoid yang diisolasi dari rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) meliputi : [1] [(E)-4-(3',4'-dimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol], [2] [(E)-4-(2',4',5'-trimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol] dan [3] [(E)-4-(3',4',1-trimethoxyphenyl)but-3-en-1-ol] yang semuanya menunjukkan aktivitas imunostimulan, namun yang tertinggi adalah derivat nomer 1 (Chairul *et al.*, 2009).

2.2.4 Manfaat Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Rimpang bangle telah lama dipakai masyarakat di daerah sebagai obat tradisional. Tanaman herbal ini berkhasiat sebagai obat demam, obat nyeri perut, obat sembelit, obat masuk angin, obat cacing, obat pegal linu. Berdasarkan penelitian sebelumnya, bangle mempunyai banyak sekali potensi diantaranya seperti: antimikroba, anti-inflamasi, antioksidan, imunostimulan, dan antimalaria.

a. Aktivitas antimikroba

Terpinen-4-ol (32%) dan sabinen (34%-44%) bertanggungjawab terhadap kemampuan bangle sebagai antimikroba. 5% minyak pada bangle berpotensi melawan *dermatophytes* dan jamur pada konsentrasi yang rendah daripada

melawan bakteri gram positif dan negatif. Hal tersebut mengindikasikan bahwa bangle lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan jamur dibandingkan bakteri (Singh, 2015).

b. Anti-inflamasi

Aktivitas antiinflamasi bangle diperankan oleh (E)-4-(3', 4'-dimethoxyphenyl)-3-en-2-ol. Mekanisme bangle secara *in vitro* dan *in vivo* sebagai antiinflamasi melalui penghambatan pada jalur CO dan LO (Jeenapongsa *et al.*, 2003). Fenil butanoid yang diisolasi dari rimpang bangle juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi melalui efek penghambatan terhadap produksi NO oleh makrofag (Kwaechotoong *et al.*, 2012). Curcumin pada konsentrasi tinggi atau keadaan tertentu dapat menyebabkan peningkatan ROS terutama dalam bentuk radikal hidroksil yang dibuktikan dalam penelitian Cui *et al.* (2007). Aktivasi PPAR γ karena peningkatan ROS juga dapat menghambat aktivasi NF- κ B, sehingga menyebabkan *downregulation* sitokin-sitokin proinflamasi dan ekspresi molekul-molekul adesi di endotel yang berperan penting dalam patomekanisme komplikasi pada malaria, yaitu pada proses sitoaderen dan roseting (Mimche *et al.*, 2011).

c. Antioksidan

Senyawa yang bertanggungjawab sebagai antioksidan pada bangle adalah *curcuminoids*. Jenis *curcuminoids* yang baru ditemukan pada bangle adalah cassumunin A dan B, memiliki potensi melindungi dari ROS. *Phenylbutenoid* pada bangle juga mampu menangkap radikal bebas melalui *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) *assay* pada penelitian Bua-in dan Paisooksantivana (2009). Bangle mengandung curcumin yang tinggi sehingga tanaman ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan pro-oksidan.

d. Imunostimulan

Bangle juga menunjukkan aktivitas sebagai imunostimulan pada derivat *phenylbutanoid* (Chairul *et al.*, 2009). Senyawa flavonoid dalam bangle dapat memacu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan meningkatkan aktivitas IL-12 (Siska, 2008). Curcumin memiliki kemampuan sebagai imunomodulator, meningkatkan sistem bawaan (*innate immune system*), dan

menurunkan respon sitokin pro-inflamasi serta ekspresi molekul adesi pada sel endotel manusia. Sebagai pro-oksidan, curcumin dapat meningkatkan ROS yang mengaktifasi reseptor PPAR γ atau mengaktifasi faktor transkripsi Nrf2, sehingga terjadi upregulasi CD36 yang memediasi fagositosis secara non-opsonisasi oleh makrofag (Mimche *et al.*, 2011).

e. Antimalarial

Aktivitas antimalarial pada spesies *Curcuma* famili *Zingiberaceae* ditunjukkan dengan kemampuan curcumin menginduksi kerusakan DNA melalui peningkatan pro-oksidan pada *P.falciparum*. Curcumin juga mengganggu proses *histone acetylation* melalui penghambatan PfGCN5. Curcumin juga berikatan dengan *sarcoenoplasmic reticulum* Ca²⁺-ATPase (SERCA) malaria sehingga dapat menahan kemampuan metabolik parasit dalam menghasilkan ATP yang memicu kematian parasit. Curcumin dapat membunuh parasit malaria saat fase trophozoit (Haddad *et al.*, 2011). Curcumin yang terkandung dalam tanaman kunyit secara efektif menghambat pertumbuhan *P.falciparum* (Reddy *et al.*, 2005). Curcumin juga memiliki target terhadap tubulin. Curcumin dapat mengganggu pembentukan tubulin sehingga proses pembelahan sel parasit terhambat. Hal tersebut didukung oleh penelitian Chakrabarti *et al.* (2013) bahwa konsentrasi curcumin pada *Curcuma longa* dengan dosis 35 μ m dan 50 μ m dapat membersihkan parasit hingga 70-90% selama 48 jam. Penelitian Armiyanti *et al.* (2013) membuktikan bahwa bangle dapat menghambat pertumbuhan derajat parasitemia dimana pada kelompok yang diterapi ekstrak rimpang bangle dan artemisin memiliki derajat parasitemia sebesar 1,3% dan kelompok yang hanya diberi bangle memiliki derajat parasitemia sebesar 2,5% sedangkan kelompok yang tidak diberi terapi memiliki derajat parasitemia sebesar 6,1%.

2.3. Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle

Granul efervesen merupakan granul atau serbuk kasar yang dapat bereaksi membebaskan karbondioksida (CO₂) sehingga menghasilkan buih. Granul efervesen dibuat dari bahan ekstrak etanol rimpang bangle yang ditambah dengan senyawa asam dan basa. Ekstrak rimpang bangle didapatkan melalui

proses ekstraksi melalui metode maserasi. Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Tujuan ekstraksi adalah memisahkan bahan padat dan bahan cair suatu zat dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 96%. Etanol memiliki gugus polar dan non-polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan non polar pada bangle. Etanol 96% mempunyai kekuatan ekstraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid. Selain itu, ekstraksi dengan pelarut etanol lebih aman dibandingkan dengan pelarut metanol (Heryanto, 2015).

Bentuk sediaan granul efervesen mempunyai warna, bau, dan rasa yang menarik. Beberapa keuntungan lain dari granul efervesen adalah penyiapan larutan dalam waktu singkat, penggunaannya lebih mudah, lebih stabil secara fisik dan kimia serta tidak segera menggumpal atau mengeras bila dibanding dengan sediaan serbuk, dapat diberikan kepada orang yang mengalami kesulitan menelan tablet atau kapsul dan bentuk granul efervesen akan larut dengan lengkap dalam air sehingga lebih mudah untuk diabsorpsi dan adanya karbonat dapat memberikan rasa yang menyegarkan (Egeten *et al.*, 2016).

Dalam pembuatan granul efervesen membutuhkan campuran senyawa asam serta bahan pembantu. Sumber asam bertujuan untuk mempermudah dalam proses pembuatan. Penggunaan asam sitrat tunggal menyebabkan campuran menjadi lengket dan sulit menjadi granul, sedangkan penggunaan asam tartrat tunggal membuat granul mudah menggumpal (Anam *et al.*, 2013). Natrium bikarbonat sebagai campuran dapat meningkatkan kadar total padatan terlarut dan dapat memperbaiki rasa tetapi memiliki fluiditas yang buruk dan kompresibilitas yang rendah sehingga perlu bahan tambahan seperti *Polivinil Piroolidon* (PVP) untuk memperbaiki kompresibilitas tanpa diubah menjadi natrium karbonat (Siregar, 2010 dan Murdianto & Syahrumsyah, 2012). Jadi dalam pembuatan sediaan granul efervesen perlu pemilihan formula dengan konsentrasi bagian asam dan basa serta bahan pengikat agar dapat menghasilkan granul efervesen yang baik.

2.4 *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei adalah hemoprotzoa yang menyebabkan malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. Secara analisis molekuler *P. berghei* sama seperti golongan *Plasmodium* yang menginfeksi manusia dengan model ini kemungkinan dapat dilakukan manipulasi pada hospes sehingga dapat dipelajari perubahan imunologis yang terjadi selama infeksi malaria (Sosilawati, 2011).

2.4.1 Klasifikasi *Plasmodium berghei*

Menurut Levine 1990, klasifikasi *P. berghei* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Protozoa
Subfilum	: Apicomplexa
Kelas	: Sporozoasida
Subkelas	: Coccidiasina
Ordo	: Eucoccidiorida
Subordo	: Haemospororina
Famili	: Plasmodiidae
Genus	: Plasmodium
Spesies	: <i>Plasmodium berghei</i>

2.4.2 *Plasmodium berghei* dalam Penelitian Malaria

Plasmodium berghei banyak ditemukan dalam penelitian malaria karena *P.berghei* mempunyai ukuran genom yang paling mirip dengan genom *P.falciparum* sehingga diharapkan memiliki manifestasi klinis seperti *P.falciparum* (Ngaliyatun, 2013).

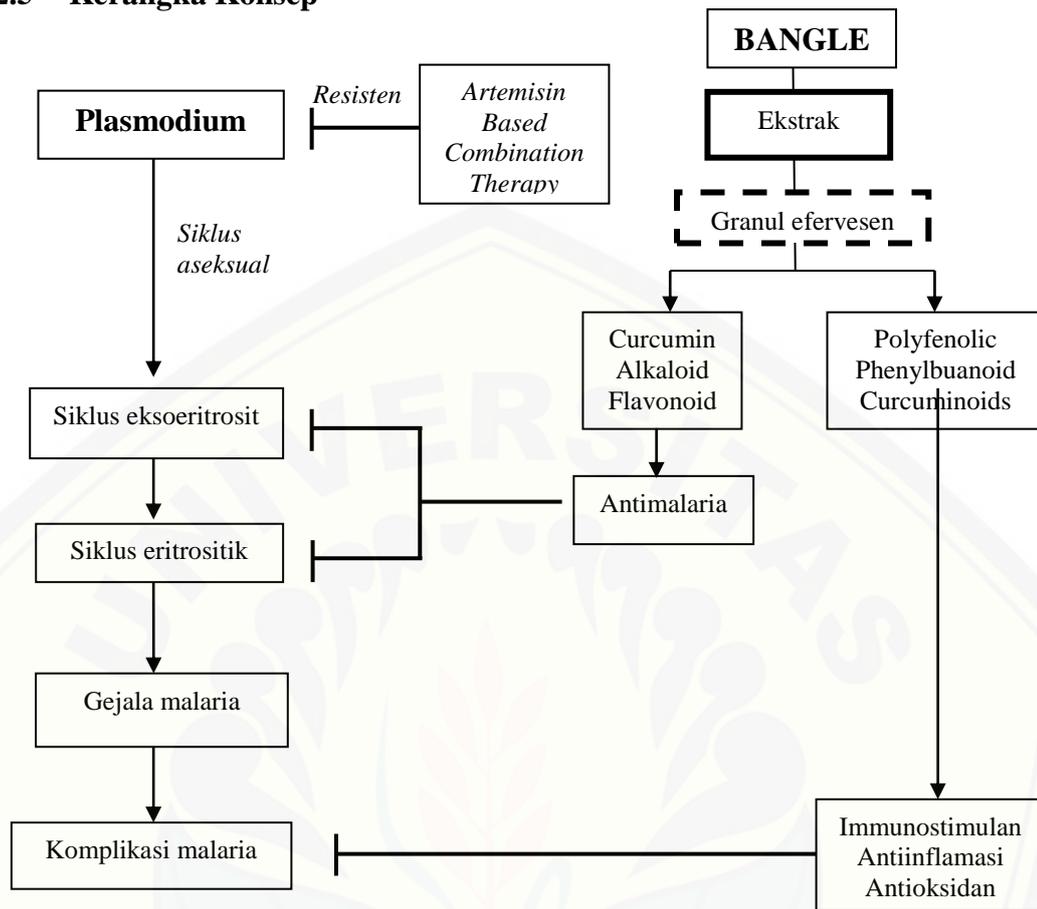
Alasan penggunaan *P.berghei* dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- Plasmodium berghei* memiliki kesamaan morfologi dengan *P.falciparum*.
- Plasmodium berghei* memiliki kesamaan protein dengan *P.falciparum* yang berperan pada invasi eritrosit.

- c. *Plasmodium berghei* belum pernah ditemukan dapat menyebabkan malaria pada manusia dan umumnya ditularkan melalui suntikan darah hewan pengerat terinfeksi ke hewan pengerat lainnya.
- d. Ketersediaan teknologi penanaman atau kultivikasi in vitro dan produksi dalam skala besar terhadap berbagai fase siklus hidup (Jerry, 2006).

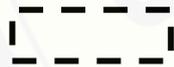


2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

Keterangan:

-  : Menghambat
-  : Penelitian yang sudah diteliti
-  : Penelitian yang akan diteliti

Malaria terjadi ketika manusia tergigit nyamuk *Anopheles* betina yang mengandung sporozoit *Plasmodium*. Fase berkembangnya *Plasmodium* dalam tubuh manusia disebut sebagai fase aseksual. Sporozoit *Plasmodium* melalui vaskular masuk ke hepar. *Plasmodium* berkembang menjadi schizon yang berisi banyak merozoit. Siklus ini disebut sebagai siklus eksoeritrosit. Schizon yang berisi merozoit akan pecah kemudian merozoit beredar melalui vaskular untuk menginfeksi eritrosit. Merozoit akan berkembang menjadi trophozoit dan sebagian

menjadi gametosit. Siklus ini disebut sebagai siklus eritrositik. Selama proses aseksual akan timbul gejala malaria. Keadaan ini jika dibiarkan akan menimbulkan komplikasi terutama pada malaria *falciparum*.

Pengobatan malaria saat ini menggunakan *Artemisin-based Combination Therapy* (ACT). Resistensi ACT di Indonesia masih belum dilaporkan tetapi diindikasikan telah terjadi resistensi. Hal tersebut dibuktikan bahwa sebanyak 11.59% pasien malaria *falciparum* mengalami kegagalan selama pengobatan ACT di Pesawaran, provinsi Lampung, Indonesia.

. Bangle merupakan salah satu tanaman famili *Zingiberaceae* yang mengandung berbagai senyawa seperti curcumin, alkaloid, *phenylbutanoid*, dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria. Senyawa tersebut juga dibuktikan dapat menghambat proses terjadinya komplikasi malaria. Penelitian terkait bangle sebagai antimalaria yang sudah dilakukan yaitu terkait aktivitas ekstrak dan fraksi bangle. Oleh karena itu, peneliti ingin mengembangkan penelitian terkait bangle dengan mengubah sediaan menjadi granul efervesen ekstrak etanol bangle. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas granul efervesen ekstrak etanol bangle sebagai antimalaria. (lihat Gambar 2.6)

2.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah maka hipotesis peneliti adalah granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas sebagai antimalaria.

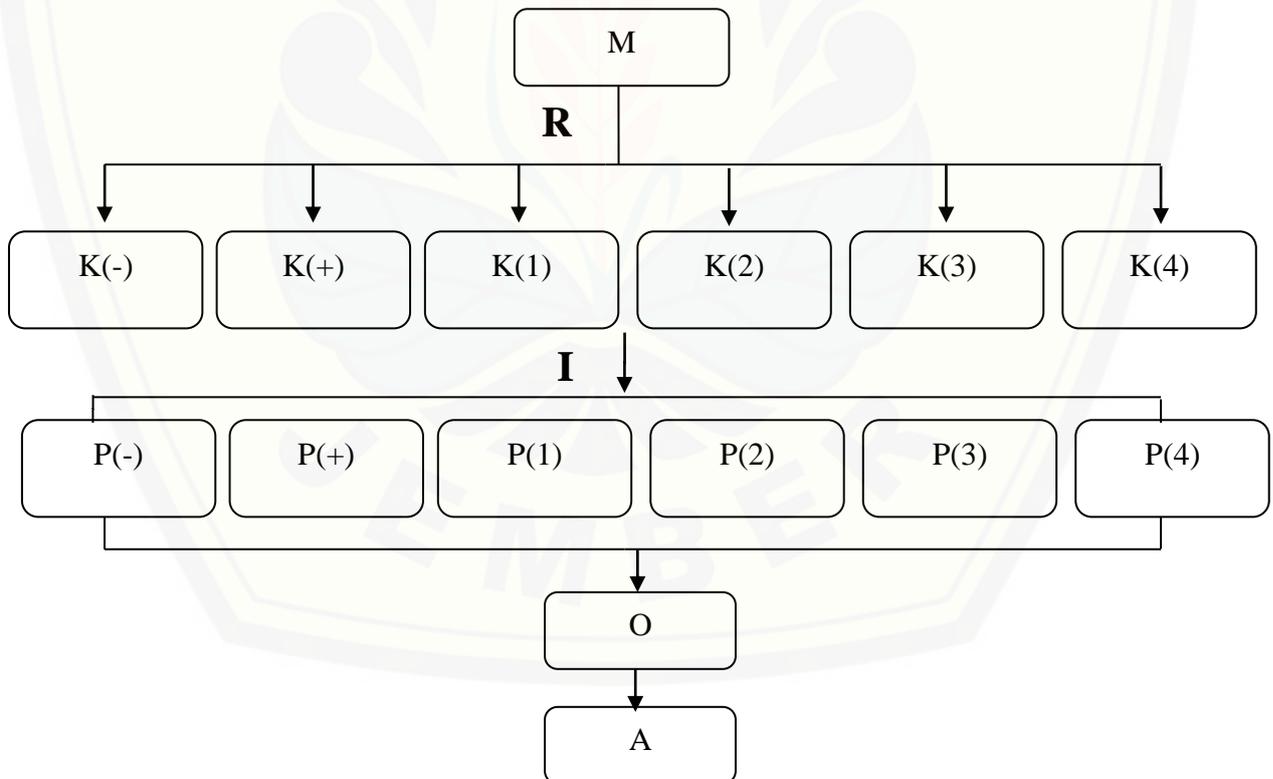
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris (*True experimental design*) dan menggunakan desain *randomized posttest only control design*. Desain ini terdiri dari enam kelompok yang dipilih secara acak.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan eksperimental *randomized posttest only control design* yang terdiri atas satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif, dan empat kelompok perlakuan.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan :

M	= mencit
R	= randomisasi
K(-)	= kelompok kontrol negatif
K(+)	= kelompok kontrol positif
K(1)(2)(3)(4)	= kelompok perlakuan satu, dua, tiga, dan empat
I	= induksi malaria dengan <i>Plasmodium berghei</i>
P(-)	= perlakuan kontrol negatif tidak diberi terapi standar malaria dan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle selama 4 hari
P(+)	= perlakuan kelompok kontrol positif dengan pemberian terapi standar malaria selama 4 hari
P(1)	= perlakuan pemberian granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,183g/20gBB selama 4 hari
P(2)	= perlakuan pemberian granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,092g/20gBB selama 4 hari
P(3)	= perlakuan pemberian granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,046g/20gBB selama 4 hari
P(4)	= perlakuan pemberian granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,023g/20gBB selama 4 hari
O	= observasi kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan satu, dua, tiga, dan empat
A	= analisis data

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan hewan coba, induksi malaria, perlakuan pada hewan percobaan, dan pengambilan sampel untuk menentukan derajat parasitemia dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penghitungan jumlah eritrosit pada mencit donor menggunakan hemositometer bersama dengan analisis di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pemeriksaan derajat parasitemia dilakukan di Laboratorium

Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan sediaan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle bekerjasama dengan mahasiswa farmasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi dan Farmasetika Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah mencit galur Balb/c jantan karena strain ini dapat menimbulkan respon imunitas terhadap induksi malaria oleh *P.berghei*.

3.4.2 Sampel

Pada penelitian ini terdapat kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi sampel penelitian adalah sebagai berikut.

- a. Mencit galur balb/c jantan
- b. Umur dua sampai tiga bulan
- c. Berat rata-rata 20-30 gram

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah mencit yang sakit dan atau cacat sebelum proses randomisasi.

3.4.3 Jumlah Sampel

Perhitungan jumlah sampel menggunakan rumus Federer sebagai berikut.

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$5(r-1) \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$R \geq 4$$

Keterangan:

T : jumlah kelompok

R : jumlah sampel dalam kelompok

Menurut perhitungan dengan menggunakan rumus federer besar sampel yang dibutuhkan minimal 4 ekor untuk masing-masing kelompok. Dalam penelitian ini setiap kelompok terdiri atas 4 ekor mencit, sehingga jumlah sampel sebanyak 24 mencit.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian dosis granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle. Pemberian dosis dibedakan menjadi empat dosis yaitu 0,183g/20gBB, 0,092g/20gBB, 0,046g/20gBB, 0,023g/20gBB.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah derajat parasitemia, persentase penghambatan pertumbuhan *P.berghei*, dan nilai *Inhibitory Concentration Of 50% (IC50)*

3.5.3 Variabel Luar

Variabel luar dalam penelitian ini terdiri dari variabel yang dapat dikendalikan dan variabel yang tidak dapat dikendalikan.

a. Variabel luar dapat dikendalikan

Variabel luar yang dapat dikendalikan dalam penelitian ini meliputi umur hewan coba, berat badan hewan coba, jenis kelamin, galur hewan coba, pemeliharaan hewan coba, lama perlakuan, dan jenis perlakuan hewan coba.

b. Variabel luar yang tidak terkendali

Variabel luar yang tidak terkendali adalah stres psikologis dan status imunologis hewan coba selama penelitian ini berlangsung.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Uji Aktivitas Antimalaria

Aktivitas antimalaria diukur melalui persentase penghambatan terhadap *Plasmodium* yang didapat dari perhitungan derajat parasitemia masing-masing sampel hewan uji yang terinfeksi *P.berghei* dari hari pertama (H0) ketika mencit pertama kali terinfeksi *P.berghei* sampai dengan hari kelima (H4).

3.6.2 Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*)

Tahap pertama pembuatan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle yaitu ekstraksi bangle. Rimpang bangle diekstrak menggunakan larutan etanol 96% dengan metode maserasi. Tahap kedua yaitu formulasi granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle dengan metode granulasi basah yaitu mencampurkan ekstrak bangle dengan larutan asam tartrat, asam sitrat, natrium bikarbonat, laktosa, dan aspartam.

3.6.3 Derajat Parasitemia

Derajat parasitemia adalah jumlah persentase eritrosit yang terinfeksi dalam 1000 eritrosit pada sediaan hapusan darah tipis yang diwarnai pewarnaan giemsa dan diamati melalui mikroskop dengan perbesaran 1000x. Derajat parasitemia dihitung pada masing-masing hewan uji yang terinfeksi *P.berghei*.

3.6.4 Persentase Penghambatan Terhadap *Plasmodium*

Persentase penghambatan adalah kemampuan setiap dosis dari granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle dalam menghambat pertumbuhan *P.berghei* pada mencit. Persentase penghambatan didapatkan dengan membandingkan rata-rata persentase pertumbuhan kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol. Data persentase penghambatan parasit dianalisis dengan probit untuk memperoleh nilai *Inhibitory Concentration of 50% (IC50)*.

3.6.5 Nilai *Inhibitory Concentration of 50%* (IC50)

Inhibitory Concentration of 50% (IC50) adalah ukuran aktivitas antimalaria yaitu dosis sediaan obat uji yang mampu menghambat pertumbuhan parasit malaria hingga 50%. Sediaan yang diuji adalah granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dalam menghambat 50% pertumbuhan *Plasmodium* sebagai terapi antimalaria secara in vivo.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Preparasi Hewan coba

- a. Alat: kandang, tempat makan dan minum, sekam, dan sonde, neraca OHAUS untuk menimbang berat badan mencit.
- b. Bahan: mencit jantan galur Balb/c berat badan 20-30 gram dan berumur 2-3 bulan dan pakan standar Turbo 521.

3.7.2 Induksi malaria

- a. Alat: gunting dan objek glass untuk pengambilan sampel derajat parasitemia dan minorset, parafin, spuit 1 cc, dan tabung *Ethylene Diamine Tetraacetic* (EDTA) untuk pembedahan mencit adalah
- b. Bahan: darah donor mencit yang telah terinfeksi *P.berghei* dengan derajat parasitemia sebesar 10-15% dan larutan *Phospat Buffered Salin* (PBS) untuk induksi malaria serta *P.berghei* strain ANKA untuk induksi malaria

3.7.3 Pembuatan granul efervesen bangle

- a. Alat: blender, toples kaca, *rotary evaporator*, saringan, *beaker glass*, *water bath*, corong pisah, gelas ukur, pengaduk, mikropipet, mikrotip, eppendorf, dan pipet, lemari pendingin untuk menyimpan ekstrak
- b. Bahan: rimpang bangle, etanol 96%, larutan asam tartrat, asam sitrat, natrium bikarbonat, laktosa, dan aspartam.

3.7.4 Perlakuan

Bahan yang digunakan untuk perlakuan adalah granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle, ACT (dihydroartemisin, piperaquin, primakuin), pelarut *Tween* 80% dan aquades.

3.7.5 Pembuatan hapusan darah dan pembedahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan dan penggunaan hapusan adalah pewarna giemsa, metanol, minyak emersi, dan aquades. Bahan yang digunakan untuk pembedahan adalah kloroform.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan galur Balb/c dengan berat badan 20-30 gram dan berusia 2-3 bulan. Hewan coba dipelihara dalam 6 kandang dan satu kandang berisi 4 mencit. Mencit diadaptasi selama 1 minggu di laboratorium dan diberi pakan standar Turbo 521 dan diberi air secara *ad libitum*. Pada hari perlakuan, semua hewan coba ditimbang dan masing-masing diberi tanda pada ekornya untuk membedakan antar mencit. Sebanyak 24 mencit dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor, yaitu sebagai berikut.

- a. Kelompok 1 : kontrol negatif, mencit yang diinduksi malaria
- b. Kelompok 2 : kontrol positif, mencit yang diinduksi malaria dan diberikan terapi standar malaria
- c. Kelompok 3 : mencit yang diinduksi malaria dan diberikan granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,183g/20gBB selama 4 hari
- d. Kelompok 4 : mencit yang diinduksi malaria dan diberikan granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,092g/20gBB selama 4 hari
- e. Kelompok 5 : mencit yang diinduksi malaria dan diberikan granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,046g/20gBB selama 4 hari
- f. Kelompok 6 : mencit yang diinduksi malaria dan diberikan granul efervesen ekstrak etanol bangle dengan dosis 0,023g/20gBB selama 4 hari

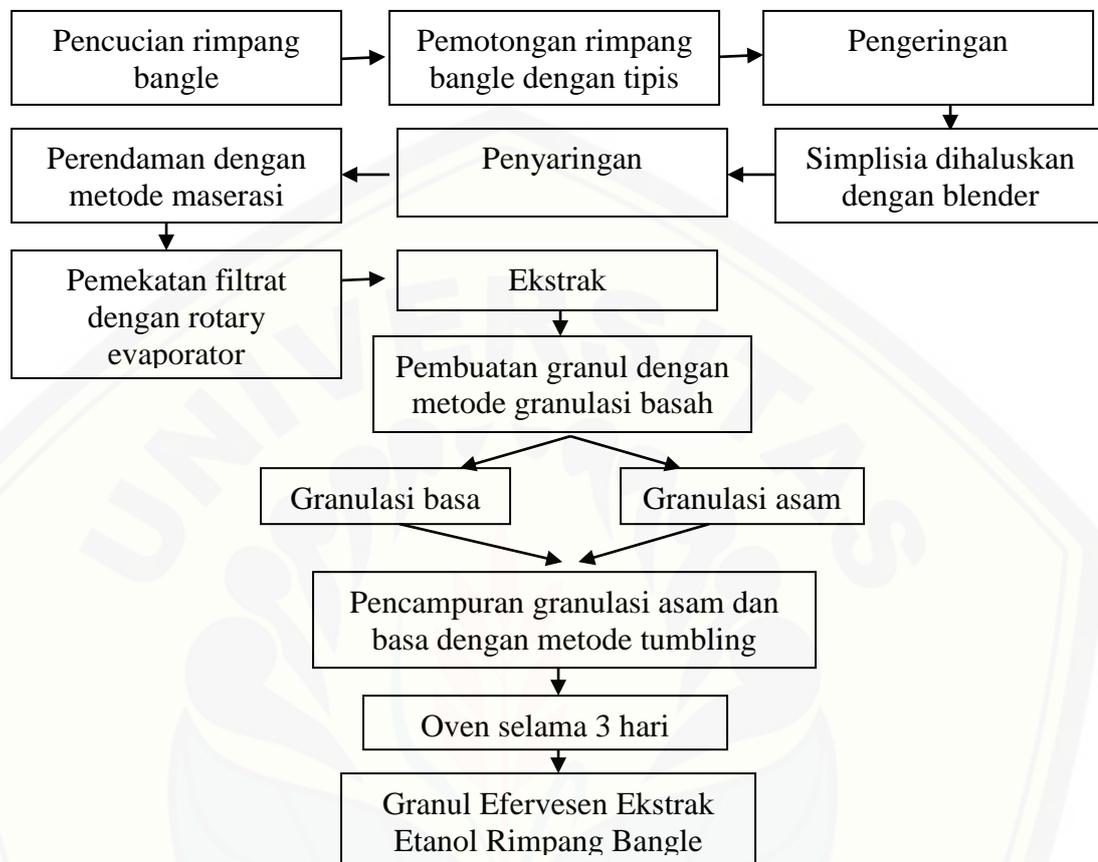
3.8.2 Pembuatan Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle. Pembuatan granul efervesen terdiri dari beberapa tahap (lihat Gambar 3.2). Sebanyak 55 kg rimpang bangle dicuci hingga bersih, dipotong tipis, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung karena minyak atsiri yang terkandung di dalam rimpang bangle dapat menguap. Setelah proses pengeringan selama kurang lebih 7 hari didapatkan 7 kg simplisia. Sebanyak 7 kg simplisia diambil 2,7 kg untuk dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu dilakukan pengayakan. Pembuatan sediaan ekstrak etanol rimpang bangle dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 2,7 kg simplisia direndam dengan etanol 96% pada maserator selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Ekstrak yang dihasilkan disaring dengan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat. Residu dimaserasi kembali dengan cara yang sama sebanyak tiga kali. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 405 gram. Ekstrak kental dibiarkan dalam suhu ruang agar sisa etanol dapat menguap sampai habis dan ekstrak menjadi kering.

Tahap selanjutnya yaitu pembuatan granul efervesen ekstrak etanol bangle. Granul efervesen dibuat dengan metode granulasi basah. Metode ini menggunakan proses granulasi terpisah antara komponen asam dan basa. Tahap pertama membuat granulasi komponen asam. Sebanyak 327 mg ekstrak ditambahkan dengan 1800mg laktosa, 316mg asam sitrat, 184mg asam tartrat, 100mg aspartam. Aduk hingga homogen. Kemudian ditambahkan larutan PVP 1% sedikit demi sedikit sampai terbentuk massa granul. Kemudian granul asam disisihkan lalu diayak menggunakan ayakan mesh 16 dan di oven dengan suhu 40-50°C selama 24 jam.

Tahap kedua yaitu pembuatan granul basa. Granul basah dibuat dengan mencampurkan 585mg natrium bikarbonat dengan larutan (PVP) 1% sampai terbentuk massa granul. Kemudian diayak dengan ayakan mesh 16 dan dikeringkan pada suhu 40-50°C selama 24 jam dalam oven. Selanjutnya granul

komponen asam dan komponen basa dicampur dengan metode tumbling kemudian di oven selama 3 hari (Purwandari, 2007).



Gambar 3.2 Skema Pembuatan Granul Efervesen Ekstrak Etanol Rimpang Bangle

3.8.3 Penetapan Dosis Terapi Standar Malaria

Dosis tunggal harian yang diperlukan manusia sebagai obat antimalaria falciparum adalah 3,2mg/kgBB dihidroartemisin dan 16mg/kgBB piperaquin serta 0,75 g/kgBB primakuin. Rumus perhitungannya untuk 20 gram BB mencit adalah sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \text{Dosis dihidroartemisin} &= \text{dihidroartemisin} \times \text{nilai konversi} \times \text{BB manusia} \\ &= 3,2 \times 0,0026 \times 70 = 0,5824 \text{ mg/20gBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis piperaquin} &= \text{piperaquin} \times \text{nilai konversi} \times \text{BB manusia} \\ &= 16 \times 0,0026 \times 70 = 2,912 \text{ mg/20gBB} \end{aligned}$$

$$\text{Dosis primakuin} = \text{dosis primakuin} \times \text{nilai konversi} \times \text{BB manusia}$$

$$= 0,75 \times 0,0026 \times 70$$

$$= 0,1365 \text{mg}/20\text{gBB}$$

3.8.4 Penetapan Dosis Granul Efervesen Ekstrak Etanol Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Penelitian Nurmasari (2013) menyatakan bahwa dalam 1 g bangle terdapat 33,2 mg curcumin sehingga didapatkan dosis ekstrak bangle sebesar 22,6 mg/25gBB. Sehingga dilakukan konversi dosis pada mencit 20 gram.

$$\text{Dosis ekstrak: } \frac{20}{25} = \frac{x}{22,6}$$

$$x = 18,08 \text{ mg}/20\text{gBB}$$

Berdasarkan penelitian oleh Purwandari (2007) di dalam 3,312 gram granul mengandung 327 mg ekstrak, sehingga dosis granul sebagai berikut

$$\text{Dosis 1} : \frac{3,312 \times 18,08}{327} = 0,183 \text{ g}/20\text{gBB}$$

$$\text{Dosis 2} : \frac{1}{2} \times 0,183 = 0,092 \text{ g}/20\text{gBB}$$

$$\text{Dosis 3} : \frac{1}{2} \times 0,092 = 0,046 \text{ g}/20\text{gBB}$$

$$\text{Dosis 4} : \frac{1}{2} \times 0,046 = 0,023 \text{ g}/20\text{gBB}$$

3.8.5 Infeksi *Plasmodium berghei*

A. Pembiakan *Plasmodium berghei* Pada Mencit Donor

Pembiakan *P.berghei* dilakukan dalam laminar (LAV). Isolat yang berisi darah hewan coba yang sudah terinfeksi *P. berghei* dari simpanan beku dicairkan dalam suhu ruangan. Isolat dapat didapatkan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Isolat yang sudah cair disentrifuge dengan kecepatan 2000rpm selama 5 menit. Lapisan yang terbentuk ada dua, yaitu lapisan supernatant dan pellet. Lapisan supernatant diambil sehingga yang tertinggal hanya lapisan pellet.

Lapisan pellet dalam eppendorf dicuci dengan PBS dan sentrifuge lagi selama 5 menit. Lapisan supernatant diambil kembali dan yang tertinggal hanya

lapisan pellet. Eppendorf yang berisi lapisan pellet diukur volumenya kemudian dicampurkan dengan medium *complete* dengan volume yang sama. Sediaan tersebut diinjeksikan pada mencit sebanyak kurang lebih 200 μ L (0,2) ml secara intraperitoneal untuk digunakan sebagai mencit donor. Setiap hari dilakukan pemeriksaan derajat parasitemia melalui ekor mencit donor. Jika derajat parasitemia mencit donor telah mencapai 10%-15%, darah mencit donor diambil melalui intrakardial untuk diinjeksi ke 24 ekor mencit sebagai sampel penelitian.

b. Induksi *Plasmodium berghei* pada sampel mencit

Pembiakkan pada hewan coba disebut inokulasi. Inokulasi dilakukan apabila derajat parasitemia pada hewan coba mencapai 10%-15% (Budiarti, 2011). Darah yang terinfeksi diambil dari mencit donor secara intrakardial menggunakan spuit 1cc. Darah terinfeksi dimasukkan ke dalam tabung EDTA supaya tidak terjadi koagulasi. Darah dari EDTA diambil 10 μ L dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam eppendorf pertama yang berisi PBS dengan pengenceran 100 kali. Campuran darah dan PBS di dalam eppendorf disuspensikan kemudian diambil 10 μ L untuk dimasukkan ke dalam eppendorf kedua yang berisi PBS 990 μ L (pengenceran 10.000 kali). Campuran dalam eppendorf kedua diteteskan pada hemositometer untuk menghitung jumlah eritrosit. Hemositometer dilihat pada mikroskop, selanjutnya dihitung jumlah eritrositnya pada semua kotak yang berjumlah 25 buah yang dibatasi 3 garis di tiap kotak. Jumlah eritrosit yang terlihat menentukan jumlah pengenceran yang dibutuhkan untuk inokulasi.

$$\text{Jumlah pengenceran} = \frac{n \times a \times b \times 10}{5 \times 10}$$

Keterangan:

- n : jumlah eritrosit yang dilihat
 a : pengenceran yang dilakukan
 b : persen derajat parasitemia

3.8.6 Pemberian Granul Efervesen Ekstrak Etanol Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*)

Pemberian terapi kepada kelompok perlakuan dimulai saat mencit pertama kali terinfeksi *P.berghei* yang dihitung sebagai hari ke-0. Pemberian granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle dibagi dalam empat tingkatan dosis. Berdasarkan perhitungannya maka kelompok perlakuan 1 diberikan dosis 0,183mg/20grBB, kelompok perlakuan 2 diberikan dosis 0,092mg/20grBB, kelompok perlakuan 3 diberikan dosis 0,046mg/20grBB, dan kelompok perlakuan 4 diberikan dosis 0,023mg/20grBB. Lama pemberian terapi selama 4 hari berdasarkan metode Peter yang dimodifikasi (Nurmasari, 2013).

3.8.7 Pembuatan Hapusan Darah Sediaan Tetes Darah Tipis

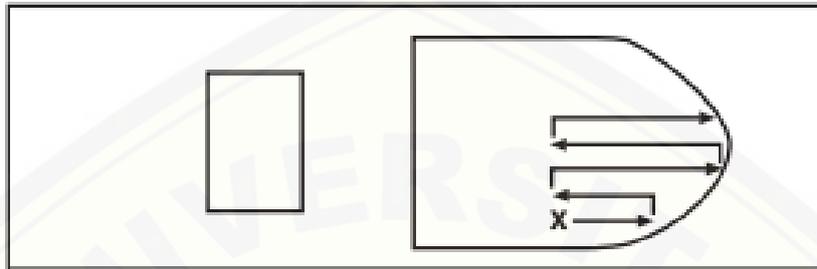
Hapusan darah dibuat setiap hari selama perlakuan. Hapusan darah dibuat dengan cara meneteskan darah dari ekor mencit yang telah digunting sekitar 0,5cm menggunakan gunting bedah pada *object glass*. Setelah itu diratakan menggunakan *object glass* lain. Hapusan dibiarkan kering dan difiksasi dengan menggunakan metanol. Setelah kering hapusan diwarnai menggunakan pewarnaan giemsa menutupi semua bagian hapusan darah, kemudian dibiarkan terlebih dahulu sekitar 20-30 menit lalu dibilas dengan air. Setelah proses pewarnaan selesai, preparat hapusan darah tipis dibiarkan hingga kering. Hapusan darah dibuat hingga hari kelima (H4).

3.8.8 Penentuan Derajat Parasitemia

Hapusan darah diamati mulai dari induksi *Plasmodium* pertama kali hingga perlakuan selama 4 hari dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali menggunakan minyak emersi. Sel darah merah normal berwarna ungu, sedangkan pada sel darah yang terinfeksi parasit berwarna merah dengan sitoplasma berwarna biru di sekitarnya. Perhitungan jumlah parasit dilakukan hingga mencapai 1000 eritrosit tidak bergantung pada jumlah lapang pandang yang dilihat. Cara menghitungnya yaitu dengan menggerakkan slide secara zig-zag (lihat Gambar

3.3) untuk menghitung eritrosit yang terinfeksi pada lapang pandang lain. Derajat parasitemia dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi} \times 100\%}{1000 \text{ eritrosit}}$$



Gambar 3.3 Cara perhitungan derajat parasitemia dengan metode *zig-zag pattern* (Sumber: WHO, 2010)

3.8.9 Perhitungan Persentase Penghambatan

Pengamatan hapusan darah tipis meliputi perhitungan jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit malaria tiap 1000 eritrosit (persen parasitemia) yang kemudian dihitung persentase pertumbuhan dan persentase penghambatan dengan cara perhitungan sebagai berikut.

$$\% \text{ pertumbuhan} = \% \text{ parasitemia rata-rata } H_4 - \% \text{ parasitemia rata-rata } H_0$$

Keterangan:

H₃ : hari keempat setelah terinfeksi malaria atau 72 jam setelah terapi

H₀ : hari pertama setelah terinfeksi malaria

Persentase penghambatan dihitung dengan cara:

$$\% \text{ penghambatan} = 100\% - \frac{X_e}{X_k} \times 100\%$$

Keterangan :

X_e : persen pertumbuhan rata-rata parasit yang diberi bahan uji dosis tertentu

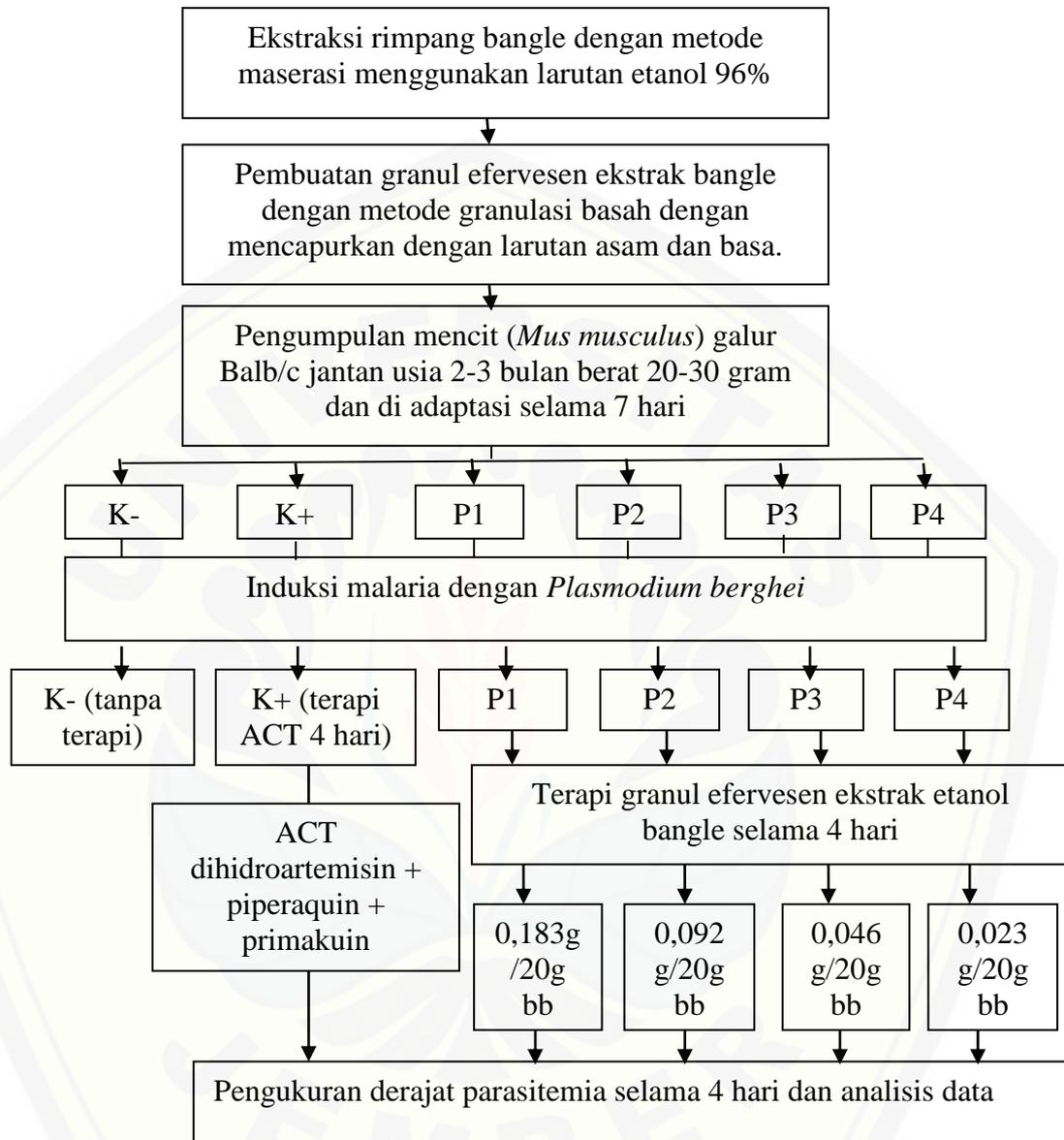
X_k : persen pertumbuhan rata-rata parasit pada kontrol negative

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah persentase penghambatan terhadap pertumbuhan *P.berghei*. Data tersebut diuji normalitas dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk*. Data tersebut juga dilihat hubungan antara kedua variabel dengan uji Korelasi *Pearson*. Data ini kemudian dianalisis dengan analisis probit hingga ditemukan nilai konsentrasi granul efervesen ekstrak etanol bangle sebagai antimalaria secara *in vivo* atau *Inhibitory Concentration Of 50% (IC50)*. Hasil analisis tersebut disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas dalam bentuk narasi.



3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.4 Skema Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan uraian yang telah disampaikan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas antimalaria yang rendah dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara in vivo.
- b. Granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki *Inhibitory Concentration Of 50% (IC₅₀)* sebesar 0,012 g/20gBB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil peneliian yang diperoleh maka diperlukan saran sebagai berikut:

- a. Penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas granul efervesen ekstrak etanol bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) agar dapat diketahui dosis yang aman untuk dikonsumsi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai terapi antimalaria ataupun terapi komplementer bersama ACT.
- b. Penelitian lebih lanjut tentang uji klinik mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, dan efek samping dalam penggunaan granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sehingga dapat dipakai dalam praktek kedokteran dan pelayanan kesehatan formal (fitofarmaka).

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, V.L. 2002. *The Art, Science And Technology Of Pharmaceutical Compounding*. 2nd Ed. Washington D.C.: American Pharmaceutical Association.
- Anam, C., Kawiji, dan R. Setiawan. 2013. Kajian karakteristik fisik dan sensori serta aktivitas antioksidan dari granul effervescent buah beet (*Beta vulgaris*) dengan perbedaan metode granulasi dan kombinasi sumber asam. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2(2): 2302-0733
- Andriani, S. 2015. Uji Aktivitas Fraksi N-Heksana Ekstrak Metanol Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Sebagai Terapi Komplemener Malaria Secara In Vivo. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Anwar, C dan Y.Mursal. 2014. *Atlas Parasitologi Kedokteran*. Edisi II. Jakarta: Hipokrates.
- Arifianti, L., R.D. Oktarina, dan I. Kusumawati. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengekstraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun orthosiphon stamineus Benth. *E-Journal Planta Husada*. 2(1):1-4.
- Armiyanti.Y., W.S Utami., dan L. Ameliana. 2013. Potensi Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar* Roxb.) Terstandar Sebagai Granul Efervesen Untuk Mencegah Komplikasi Pada Malaria. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Autino B., Y. Corbett, F.Castelli, dan D. Taramelli. 2012. Mediterranean Journal of hematology and infectious diseases. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 4(1): e2012061.
- Baird JK, Basri H, Purnomo, Bangs MJ, Subianto B, dan Patchen LC. 1991. Resistance to chloroquine by *Plasmodium vivax* in Irian Jaya, Indonesia. *Am J Trop Med Hyg*. 44(5): 547-52.
- Budiarti, C. 2011. Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) Secara In Vivo. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Buffet P.A., Safeukui I, dan Dplaine G. 2011. The pathogenesis of *Plasmodium falciparum* malaria in human: insights from splenic physiology. *Journal Of The American, Society of Hematology*. 117(2): 381-392.

- Carvalho, LH dan A.U. Kretti. 1991. Antimalarial chemoteraphy with natural products and chemically defined molecules. *Mem Inst Oswaldo Cruz* (Suppl.II): 181-184
- Chairul, Praptiwi, dan S. M Chairul. 2009. Phagocytosis Effectivity Test of Phenylbutenoid Compounds Isolated from Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Rhizome. *Biodiversitas*. 10(1): 40-43.
- Chakrabarti, R., P.S.Rawa, dan S.Patankar. 2013. Celuller effecs of curcumin on *Plasmodium falciparum* include disruption of microtubules. *PLoS ONE*. 8(3): 1-14.
- Chanwitheesuk,A., A. Teerawutgulrag., dan N. Rakariyatham. 2002. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry*. 92:491-497.
- Chia, Y. 2006. Biochemical and Immunological Characterization of Plasmodium falciparum (Welch, 1897) Erythrocyte Membrane Protein (PfEMP)-1 Domains". Tidak diterbitkan. *Disertasi*. Germany: Departemen of Biology Faculty of Mathematics Informatics and Natural Sciences University of Hamburg.
- Cui, L., dan J. Miao. 2007. Cytotoxic effect of curcumin on malaria parasite Plasmodium falciparum: inhibition of histone acetylation and generation of reactive oxygen species. *Antimicrob Agents Chemother*. 51:488-494
- Departemen Kesehatan RI. 2013. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Egeten, K.R., P.V.Y Yamlean, dan H.S.Supriati. 2016. Formulasi dan pengujian sediaan granul effervescent dari buah nenas (*Ananas comosus* L. (Merr.)). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(3):116-121.
- Elyazar, I.R.F., S.L.Hay, dan J. K.Baird. 2011. Malaria distribution, prevalence, drug resistance and control in indonesia. *NCBI*. (74): 41-175.
- Haddad, M., M. Sauvain, dan E. Deharo. 2011. Curcuma as paraticidal agent. *Planta Me*. 77:672-678
- Hakim, L. 2011. Malaria: epidemiologi dan diagnosis. *Electronic Journal Pusat Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan*. 3(2) :107-116
- Hanani, E., dan C. Dilanka. 2000. Pola kromatografi lapis tipis dan gas cair rimpang dan akar *Zingiber cassumunar*. Makalah pada Kongres Nasional

- Obat Tradisional Indonesia, Surabaya 20-22 September 2000. Universitas Airlangga.
- Handoko, T. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi Empat. Jakarta: Gaya Baru.
- Harijanto, P.N. 2000. *Epidemiologi, patogenesis, manifestasi klinis, dan penanganan*. Jakarta: EGC.
- Harijanto, P.N. 2006. *Malaria. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*. Edisi IV. Jakarta.: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Harijanto, P.N. 2011. ACT Sebagai Obat Pilihan Malaria Ringan Di Indonesia. *CDK*. 38 (2): 112-114.
- Herchline, T. 2017. *Malaria Clinical Presentation*. <https://emedicine.medscape.org/malariaclinicalpresentation/>. [diakses pada 18 Desember 2017)
- Hermansyah, B., dan W. S. Utami. 2015. Bioactivity of a Compound of Standardized Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Extract Fraction as a Complimentary Therapy to Prevent Malaria Complications. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 1(2): 19-25.
- Heryanto, D., P.Wahlanto, dan S.Rahma. 2015. Formulasi dan Evaluasi Lotion dari Ekstrak Daun Nampong (*Chromolaena odorata*) dengan Basis Asam Stearat.<http://repo.stikesmucis.ac.id/jurnal/mahasiswa.php?detail=mahasiswa&id=548&cd=0b2173ff6ad6a6fb09c95f6d50001df6&name=12DF277005%20INTISARI.pdf>. [diakses pada tanggal 07 November 2017].
- Iswantini, Silitonga, Martatilofa, dan Darusman. 2011. *Zingiber cassumunar, Guazuma ulmifolia, dan Murraya paniculata* extracts as antiobesity: In vitro Inhibitory effect on pancreatic lipase activity. *J. Biosci*. 18(1): 6-10
- Jerry, F.H.S. 2006. Pengaruh Pemberian Minyak *Pandanus conoideus* Terhadap Gambaran Histologis Hepar pada Mencit Swiss yang Diinfeksi Plasmodium berghei ANKA. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Kaewchoothong, A. 2009. Preparation and quality control of *Zingiber cassumunar* extract with high-yielded anti-inflammatory active compounds. *Tesis*. Thailand: Master of science in herb sciences of Prince of Songkla University.
- Kemenkes RI,. 2016. *Malaria*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI.
- Koontongkaew, S., O. Poachanukoon, S. Sireeratawong, T. Dechatiwongse, P. Khonsung, K. Jaijoy, R. Soawakontha, dan M. Chanchai. 2014. Safety

evaluation of *Zingiber cassumunar* Roxb. Rhizome extract: acute and chronic toxicity studies in rats. *Journal of Tropical Medicine*. 1-2.

Krishna, DR.A. 2009. *Mengenal Kesehatan Anda Info Kesehatan Umum Untuk Masyarakat*. Jakarta: Informasi Medika.

Lim, T. K. 2016. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*. Vol 1. Switzerland: Springer.

Lou J., R. Lucas, G.E Grau., 2001. Pathogenesis of cerebral malaria : recent experimental data and possible applications for human. *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (4) : 810-820.

Lusiana dan Helen. 2009. Isolasi dan uji anti Plasmodium secara in vivo senyawa alkaloid dari *Alburtisia papuana becc*. Tidak diterbitkan. *Skripsi*. Bogor: IPB

Lv, Haining dan G. She. 2011. *Naturally occurring diarylheptanoids-a supplementary version*. Beijing: Academy of chemistry of globe publications.

Mansyor, A. 2001. Malaria. *Kapita Selekt Kedokteran Jilid I*. Edisi Ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Mimche, P.N., D. Taramelli, L. Vivas. 2011. The plant-based immunomodulator curcumin as a potential candidate for the development of an adjunctive therapy for cerebral malaria. *Malar J*. 10(1): S10.

Muhlisah, F. 2011. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Munoz, V., M. Souvain, dan G. Bourdy. 2000. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in bolivia: part ii. Antimalarial activity of some plants used by Mosekena Indians. *J Ethnopharmacol* 2000; 139-55.

Murdianto, W., dan H. Syahrumsyah. 2012. Pengaruh natrium bikarbonat terhadap kadar vitamin c total padatan terlarut dan nilai sensoris dari sari buah nanas berkarbonasi. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2-5

Muti'ah, R. 2012. Penyakit malaria dan mekanisme kerja obat-obat antimalaria. *Jurnal Kedokteran UIN Maulana Malik Ibrahim*. Vol (1):80-91

Ngaliyatun, Widiyanti, Syaifudin. 2013. Uji daya infektivitas *Plasmodium berghei* iradiasi pada hati, limpa mencit menggunakan *Nested-PCR*. *Unnes J life Sci*. 2(2): 111-117.

- Nindatu dan Maria. 2008. Efek antimalaria senyawa flavonoid kulit batang cempedak (*artocarpus champeden spreng*) pada morfologi dan aktivitas biokimiawi parasit malaria. Tidak diterbitkan. *Disertasi*. Magister Farmasi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Noerwahid, A. 2016. Formulasi Granul Effervescent Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kuli Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) dan Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum*). *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nurmasari, D.P. 2013. Peranan Ekstrak Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) Terhadap Produksi Nitric Oxide dan Malondialdehyde Pada Mencit Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Ompusunggu, S., R.M. Dewi, R.Yuliawaty, B.A.S ihite, R. Ekowatiningsih, H.Siswanto, Siswanto, dan B.S.Utami. 2015. Penemuan baru *Plasmodium knowlesi* pada manusia di Kalimantan tengah. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 43 (2):63-76.
- Prabowo, A. 2008. *Mencegah dan Menangani Malaria*. Jakarta: Puspa Swara.
- Paniker, M.D., dan C. K. Jayaram. 2013. *Paniker's Textbook Of Medical Parasitology Seventh Edition*. Jaypee Brothers. Medical Publisher (P) Ltd.
- Purwandari, L.E. 2007. Optimasi Campuran Asam Sitrat-Asam Tartrat dan Natrium Bikarbonat sebagai Eksiipen dalam Pembuatan Granul Effervescent Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) secara Granulasi Basah dengan Meode Desain Factorial. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Rachmadenawanti, E. 2015. Uji Aktivitas Fraksi Diklorometana Ekstrak Metanol Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) Sebagai Terapi Komplementer Malaria Secara In Vivo. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Rajendran, J. 2013. Artemisin-based therapy for malaria. *American Journal Of Medicines And Medical Sciences*. 3(4):89-90.
- Reddy, C.R., P.G Vatsala, V.G. Keshamouni, dan P.N Rangarajan. 2005. Curcumin for malaria therapy. *Elsevier*. 326(2): 472-474
- Santoso, Y.E. 2015. Uji Aktivitas Fraksi Metanol Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) Sebagai Terapi Komplementer Malaria Secara In Vivo. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

- Sarwono, J. 2009. *Statistic itu mudah: panduan lengkap untuk belajar komputasi statistic menggunakan SPSS 16*. Universitas Atmajaya Yogyakarta: Yogyakarta
- Setiati, S., I.Alwi., A.W.Sudoyo, M.Simadibrata, B. Setiyohadi, dan A.F.Syam. 2014. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1*. Edisi VI. Jakarta: Interna Publishing.
- Shi, Q., M. Lynch, M. Romero, dan J. M. Burns. 2007. Enhanced protection against malaria by chimeric merozoite surface protein vaccine. *Infection and immunity*. 75(3): 1349-1358.
- Simamora D., dan L.E.Fitri. 2007. Resistensi obat malaria: mekanisme dan peran obat kombinasi obat antimalaria. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 23 (2): 83-91.
- Singh, C.B., Manglebi, Swapana, dan S.B.Chanu. 2015. Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology of Zingiber cassumunar Roxb. (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(1): 01-06
- Siregar. 2015. Malaria berat dengan berbagai komplikasi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 15(3): 4-6.
- Sosilawati, A. 2011. Diferensiasi Leukosit Mencit yang Disuntikkan *Plasmodium berghei*. http://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/46708/5/BAB%20II%20Tinjauan%20Pustaka_%20B11aso.pdf. [Diakses pada tanggal 07 November 2017].
- Surjadjaja, C., A.Surya, J, dan K.Baird. 2016. Epidemiology of *Plasmodium vivax* in Indonesia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 121-132
- Suwandi, J.F., Supargiyono, W. Asmara, dan H. Kusnanto. 2014. Mapping and prevalence of malaria falciparum patients with ACT failed therapy, in Hanura Public Health Center, Pesawaran Lampung, Indonesia. *Open Journal of Epidemiology*. 4: 169-177
- Suwandi. 2015. Gen pfatp6 dan resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap golongan artemisin. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*. 5(9):142.
- Tambajong E.H. 2000. *Patobiologi Malaria dalam Malaria : Epidemiologi, Pathogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Utami,W.S., B Hermansyah, dan L. Ameliana. 2016. Pengembangan Obat Herbal Tersandar Ekstrak Bangle (*Zingiber Cassumunar* Roxb.) Terhadap Ekspresi ICAM-1 dan Kadar IL-10 Sebagai Terapi Komplementer Untuk Mencegah Komplikasi Pada Malaria. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Vathsala, P.G., C. Dende, V.Arun, D. Bhattacharya, G. Das, P.N. Rangaraja, G. Padmanaban. 2012. Curcumin-arteether combination therapy of *Plasmodium berghei*-infected mice prevents recrudescence through immunomodulation. *NCBI*. 7(1): e29442.
- Wahlgren M., C. J. Treutiger, dan J. Gysin. 2005. Cytoadherence and Rosetting in the Pathogenesis of Severe Malaria in Malaria : Molecular and Clinical Aspect. Editor Mats Wahlgren and Peter Perlmann. *Harwood academic publisher*. 284-323
- WHO. 2011. Malaria. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>. Diakses tanggal 07 November 2017.
- WHO. 2016. http://www.who.int/malaria/publications/country-profiles/profile_idn_en.pdf [diakses pada 10 Desember 2017].
- WHO. 2017. Fact Sheet: World Malaria Report 2016. <http://www.who.int/malaria/media/world-malaria-report-2016/en/> [diakses pada 10 Desember 2017].
- Wiley, J. 2015. Phytoterapies: efficacy, safety, regulation. *Library of Congress Cataloguing*. ISBN 978-1-118-26806-3
- Yusuf,Y. 2014. Bukti munculnya malaria resisten artemisin di asia. *Jurnal Bionature*. 14(2):128-132.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. ETHICAL CLEARANCE

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 1.154/H25.1.11/KE/2017

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

**UJI AKTIVITAS GRANUL EFERVESEN EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE
(*Zingiber cassumunar Roxb.*) SEBAGAI ANTIMALARIA SECARA IN VIVO**

Nama Peneliti Utama : Herlin Karismaningtyas (NIM. 142010101082)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 02 Oktober 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian

Nuryanti, Sp.PK


LAMPIRAN B. HASIL DETERMINASI TUMBUHAN BANGLE



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
No. 2062/UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Dr. Wiwien Sugih Utami, M.Sc
NIM : 197609222005012001
Jur./Fak./PT : F. Kedokteran / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Zingiber montanum (J.König) Link ex A.Dietr. {Syn. *Amomum cassumunar* (Roxb.) Donn; *Amomum montanum* J.König; *Amomum xanthorrhiza* Roxb. ex Steud.; *Cassumunar roxburghii* Colla; *Jaegera montana* (J.König) Giseke; *Zingiber anthorrhiza* Horan.; *Zingiber cassumunar* Roxb.; *Zingiber cliffordiae* Andrews; *Zingiber luridum* Salisb.; *Zingiber purpureum* Roscoe; *Zingiber xantorrhizon* Steud. ; Family – Zingiberaceae; Vernacular name –; Bangle (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 10 Agustus 2016

Mengetahui,
Pembantu Dekan I,

Ketua Laboratorium




Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP. 195910091986021001

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.

LAMPIRAN C. SURAT TUGAS PENELITIAN



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN
 Jalan Kalimantan No. 37 Jember Telp. 0331-337818, 339385 Fax.0331-337818

Surat Tugas

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : dr. Wiwien Sugih Utami, M.Sc
 NIP : 197609222005012001
 Jabatan : Ketua Peneliti

memberi tugas kepada:

No.	Nama	NIM	Jabatan
1.	Ferry Fitria Ayu Andika	142010101019	Pembantu Peneliti
2.	Kesy Sasta Handani	142010101021	Pembantu Peneliti
3.	Rudy Gunawan	142010101023	Pembantu Peneliti
4.	Herlin Karismaningtyas	142010101082	Pembantu Peneliti
5.	Fikriatul Hidayah	132210101010	Pembantu Peneliti
6.	Meylani Nur Riskiana	132210101026	Pembantu Peneliti

untuk mengikuti/membantu melaksanakan:

kegiatan penelitian skema Hibah Bersaing tahun anggaran 2016 dengan judul
 "Pengembangan Obat Herbal Terstandar Ekstrak Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*)
 terhadap Ekspresi ICAM-1 dan Kadar IL-10 sebagai Terapi Komplementer untuk Mencegah
 Komplikasi pada Malaria"

Tanggal : 12 Mei 2016 s.d. 30 Oktober 2016
 Tempat : Jember

Demikian surat tugas ini diterbitkan untuk dilaksanakan dengan penuh tanggung jawab.

Jember, 11 Mei 2016

Mengetahui
 Ketua Lembaga Penelitian
 Universitas Jember

Ketua Peneliti,

Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., Ph.D
 NIP 196905171992011001

dr. Wiwien Sugih Utami, M.Sc
 NIP 197609222005012001

Tiba di
 Pada tanggal
 Mengetahui,

Berangkat dari
 Pada tanggal
 Mengetahui,



CERTIFICATE NO : QMS/173

LAMPIRAN D. PERHITUNGAN DOSIS GRANUL EFERVESEN EKSTRAK ETANOL BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Dosis granul efervesen ekstrak etanol rimpang bangle yang digunakan untuk pengujian antimalaria *Plasmodium berghei* secara *in vivo* adalah dosis 0,183 g/20gBB, 0,092 g/20gBB, 0,046 g/20grB, 0,023 g/20gBB. Volume suspense granul efervesen ekstrak etanol bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diberikan pada tiap hewan coba dengan berat 20-30 gram adalah 0,2 ml. volume total suspense ekstrak etanol rimpang bangle yang dibuat untuk setiap dosis pada setiap harinya adalah 0,8 ml untuk setiap hewan coba di setiap kelompok.

a) Dosis 0,183 g/20gBB

Dosis 0,183 g/20gBB yang diberikan pada tiap hewan coba dibuat dengan cara menimbang dosis granul efervesen ekstrak etanol bangle yang diperoleh dari perhitungan sebagai berikut.

Setelah dilakukan pengujian, granul yang baik terbuat dari 327 mg ekstrak ditambah dengan 1800mg laktosa, 316mg asam sitrat, 184mg asam tartrat, 100mg aspartam, dan 585mg natrium bikarbonat. Sehingga 327 mg ekstrak terkandung dalam 3.312 gram granul. Oleh karena itu dosis granul sebagai berikut:

$$\frac{327 \text{ mg}}{3.312 \text{ g}} = \frac{18,08 \text{ mg}}{x}$$

X = 0,183 g/20gBB dalam 0,2 ml suspensi granul ekstrak etanol bangle

Granul efervesen ekstrak etanol bangle yang dibutuhkan untuk membuat 0,8 ml suspensi yaitu:

= jumlah mencit dalam setiap kelompok x 0,183 g/20gBB

= 4 x 0,183

= 0,732 g

Selanjutnya 0,732 g ditambah dengan aquades sampai volume 0,8 ml.

b) Dosis 0,092 g/20gBB

Dosis 0,092 diperoleh dari perhitungan:

$$= \frac{1}{2} \times 0,183 \text{ g/20gBB}$$

= 0,092 g/20gBB dalam 0,2 suspensi granul efervesen ekstrak etanol bangle.

Granul efervesen ekstrak etanol bangle yang dibutuhkan untuk membuat 0,8 ml suspensi :

$$= \text{jumlah mencit dalam setiap kelompok} \times 0,092$$

$$= 4 \times 0,092$$

$$= 0,368 \text{ g}$$

Selanjutnya 0,368 ditambah dengan aquades sampai volume 0,8 ml.

c) Dosis 0,046 g/20gBB

Dosis 0,046 diperoleh dari perhitungan:

$$= \frac{1}{2} \times 0,092 \text{ g/20gBB}$$

= 0,046 g/20gBB dalam 0,2 suspensi granul efervesen ekstrak etanol bangle.

Granul efervesen ekstrak etanol bangle yang dibutuhkan untuk membuat 0,8 ml suspensi :

$$= \text{jumlah mencit dalam setiap kelompok} \times 0,046$$

$$= 4 \times 0,092$$

$$= 0,184 \text{ g}$$

Selanjutnya 0,184 g ditambah dengan aquades sampai volume 0,8 ml.

d) Dosis 0,023 g/20gBB

Dosis 0,023 diperoleh dari perhitungan:

$$= \frac{1}{2} \times 0,046 \text{ g/20grBB}$$

= 0,023 g/20gBB dalam 0,2 suspensi granul efervesen ekstrak etanol bangle.

Granul efervesen ekstrak etanol dibutuhkan untuk membuat 0,8 ml suspensi :

$$= \text{jumlah mencit dalam setiap kelompok} \times 0,023$$

$$= 4 \times 0,092$$

$$= 0,092 \text{ g}$$

Selanjutnya 0,092 g ditambah dengan aquades sampai volume 0,8 ml.

e) Dosis ACT

Dosis tunggal harian yang diperlukan manusia sebagai obat antimalaria falciparum adalah 3,2mg/kgBB dihidroartemisin dan 16mg/kgBB piperaquin serta 0,75 g/kgBB primakuin.

$$\begin{aligned}\text{Dosis artemisin} &= \text{dihidroartemisin} \times \text{nilai konversi} \times \text{BB manusia} \\ &= 3,2 \times 0,0026 \times 70 = 0,5824 \text{ mg/20gBB dalam } 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Dosis primakuin} &= \text{dosis primakuin} \times \text{nilai konversi} \times \text{BB manusia} \\ &= 0,75 \times 0,0026 \times 70 \\ &= 0,1365 \text{ mg/20gBB dalam } 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

Artemisin diberikan selama 4 hari sedangkan primakuin hanya diberikan pada hari pertama terapi saja.

LAMPIRAN E. PERHITUNGAN DERAJAT PARASITEMIA**E.1 Tabel derajat parasitemia pada kelompok 0,183 g/20gBB**

0.183 g/20gBB	Derajat Parasitemia				Rata-Rata
	Hewan Coba	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
H0	1	0.5	0.5	0.5	0.5
	2	0.5	0.5	0.5	
	3	0.5	0.5	0.5	
	4	0.5	0.5	0.5	
	rata-rata	0.5	0.5	0.5	
H1	1	1	1	1	1.04
	2	0.3	0.5	0.4	
	3	1.8	1.3	1.6	
	4	1.1	1.5	1	
	rata-rata	1.05	1.075	1	
H2	1	1.4	1.3	1.4	1.63
	2	1	1.4	1.2	
	3	1.9	2	2.3	
	4	1.7	1.8	2.2	
	rata-rata	1.5	1.625	1.775	
H3	1	2	2.4	2	3.31
	2	3.2	3.3	3.3	
	3	4	3.8	3.8	
	4	4.3	3.8	3.8	
	rata-rata	3.375	3.325	3.225	
H4	1	2.4	2.5	2.5	4.06
	2	4.1	4.3	4.1	
	3	3.7	3.7	4	
	4	5.9	5.8	5.7	
	rata-rata	4.025	4.075	4.075	

E.2 Tabel derajat parasitemia pada kelompok 0,092 g/20gBB

0.092 g/20gBB	Derajat Parasitemia				Rata-Rata
	Hewan Coba	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
H0	1	0.6	0.6	0.6	0.58
	2	0.5	0.5	0.5	
	3	0.6	0.6	0.6	
	4	0.6	0.6	0.6	
	rata-rata	0.575	0.575	0.575	
H1	1	0.5	0.4	0.5	0.77
	2	0.5	0.7	1.1	
	3	0.7	1	0.9	
	4	1	1	0.9	
	rata-rata	0.675	0.775	0.85	
H2	1	1.5	1.5	1.8	1.96
	2	2.3	2.1	2.5	
	3	2.1	2.1	2.2	
	4	1.9	1.9	1.6	
	rata-rata	1.95	1.9	2.025	
H3	1	2	1.8	2	2.43
	2	3.8	3	4	
	3	1.8	2.8	2.8	
	4	1.7	1.7	1.7	
	rata-rata	2.325	2.325	2.625	
H4	1	3	2.8	3.4	4.48
	2	5.5	5.4	5	
	3	4.7	4.9	4.7	
	4	4.8	4.8	4.8	
	rata-rata	4.5	4.475	4.475	

E.3 Tabel derajat parasitemia pada kelompok 0,046 g/20gBB

0.046 g/20gBB	Derajat Parasitemia				
	Hewan Coba	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-Rata
H0	1	0.6	0.6	0.6	0.6
	2	0.5	0.5	0.5	
	3	0.5	0.5	0.5	
	4	0.8	0.8	0.8	
	rata-rata	0.6	0.6	0.6	
H1	1	1.3	1.5	1.2	0.84
	2	0.5	0.8	0.5	
	3	0.4	0.4	0.4	
	4	0.9	1.2	1	
	rata-rata	0.775	0.975	0.775	
H2	1	2.4	2.3	2.3	2.28
	2	3	2.8	2.7	
	3	1.6	1.8	1.5	
	4	2.2	2.5	2.2	
	rata-rata	2.3	2.35	2.175	
H3	1	2.9	2.7	2.7	3.3
	2	3.8	3.4	3.4	
	3	1.2	2.7	2.3	
	4	4.8	5	4.7	
	rata-rata	3.175	3.45	3.275	
H4	1	5.9	5.2	5	4.9
	2	7	6.3	6	
	3	3.3	3.3	3	
	4	3.7	5.1	5	
	rata-rata	4.975	4.975	4.75	

E.4 Tabel derajat parasitemia pada kelompok 0,023 g/20gBB

0.023 g/20gBB	Derajat Parasitemia				
	Hewan Coba	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-Rata
H0	1	0.5	0.5	0.5	0.53
	2	0.5	0.5	0.5	
	3	0.5	0.5	0.5	
	4	0.6	0.6	0.6	
	rata-rata	0.525	0.525	0.525	
H1	1	1.4	1.3	1.3	1.59
	2	1.7	1.2	1.5	
	3	2.1	1.6	1.7	
	4	1.8	1.8	1.7	
	rata-rata	1.75	1.475	1.55	
H2	1	1.6	1.5	1.5	2.04
	2	3.3	1.4	1.9	
	3	2.7	2	2.5	
	4	2	2.1	2	
	rata-rata	2.4	1.75	1.975	
H3	1	2.3	2.4	2.4	2.58
	2	3.9	1.6	2	
	3	1.9	1.6	1.9	
	4	4	3.3	3.7	
	rata-rata	3.025	2.225	2.5	
H4	1	5	4.9	5	5.09
	2	5.6	5.5	5.6	
	3	4.9	5.1	4.8	
	4	4.9	4.9	4.9	
		5.1	5.1	5.075	

E.5 Tabel derajat parasitemia pada kelompok kontrol positif

Kel. Kontrol (+)	Rata-Rata Derajat Parasitemia				
	Hewan Coba	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-Rata
H0	1	0.5	0.5	0.5	0.55
	2	0.5	0.5	0.5	
	3	0.5	0.5	0.5	
	4	0.7	0.7	0.7	
	rata-rata	0.55	0.55	0.55	
H1	1	0.7	0.4	0.3	0.72
	2	0.3	0.3	0.3	
	3	0.6	0.6	0.6	
	4	1.5	1.5	1.5	
	rata-rata	0.775	0.7	0.675	
H2	1	0.1	0.1	0.1	0.11
	2	0.1	0.1	0.1	
	3	0	0.1	0	
	4	0.1	0.3	0.2	
	rata-rata	0.075	0.15	0.1	
H3	1	0.2	0	0.1	0.1
	2	0.3	0.1	0.1	
	3	0.1	0	0	
	4	0.1	0.1	0.1	
	rata-rata	0.175	0.05	0.075	
H4	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	
	3	0	0	0	
	4	0	0	0	
	rata-rata	0	0	0	

E.6 Tabel derajat parasitemia pada kelompok kontrol negatif

Kel. Kontrol (-)	Rata-Rata Derajat Parasitemia				
	Hewan Coba	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-Rata
H0	1	0.8	0.8	0.8	1.45
	2	2.1	2.1	2.1	
	3	1	1	1	
	4	1.9	1.9	1.9	
	rata-rata	1.45	1.45	1.45	
H1	1	4.2	4.2	3.8	4.49
	2	6.3	6.3	6.5	
	3	4.4	4.2	4.6	
	4	3.1	3.3	3	
	rata-rata	4.5	4.5	4.475	
H2	1	3.6	4.3	4.2	6.09
	2	9.4	9.5	9.4	
	3	7.2	7	7.4	
	4	3.3	3.8	4	
	rata-rata	5.875	6.15	6.25	
H3	1	10.2	10.1	10.3	10.28
	2	13.4	11.8	11.9	
	3	12.4	12.4	12.3	
	4	6.1	6.2	6.3	
	rata-rata	10.525	10.125	10.2	
H4	1	12.4	12.3	12.5	11.36
	2	12.3	12.4	12.3	
	3	12.9	12.9	12.8	
	4	7.8	7.8	7.9	
	rata-rata	11.35	11.35	11.375	

**LAMPIRAN F. PERHITUNGAN PERSENTASE PENGHAMBATAN
DAN PERSENTASE PERTUMBUHAN**

F.1 Perhitungan Persentase Pertumbuhan

Dosis	Sampel	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
0.023 g/20gBB	1	4.3	4.4	4.5
	2	5.1	5	5.1
	3	4.4	4.6	4.3
	4	4.3	4.3	4.3
	Rata-Rata	4.5	4.575	4.55
0.046 g/20gBB	1	5.3	4.6	4.7
	2	6.5	5.8	5.5
	3	2.8	2.8	2.7
	4	2.9	4.5	4.5
	Rata-Rata	4.38	4.425	4.35
0.092 g/20gBB	1	2.4	2.2	2.8
	2	5	4.9	4.5
	3	4.1	4.3	4.2
	4	4.2	4.2	4.2
	Rata-Rata	3.925	3.9	3.925
0.183 g/20gBB	1	1.9	2	2
	2	3.6	3.8	3.6
	3	3.2	3.2	3.5
	4	5.4	5.3	5.2
	Rata-Rata	3.53	3.575	3.575
Kontrol Positif	1	-0.5	-0.5	-0.5
	2	-0.5	-0.5	-0.5
	3	-0.5	-0.5	-0.5
	4	-0.7	-0.7	-0.7
	Rata-Rata	0.55	0.55	0.55
Kontrol Negatif	1	11.6	11.5	11.7
	2	10.2	10.3	10.2
	3	11.9	11.9	11.8
	4	5.9	5.9	6
	Rata-Rata	9.9	9.9	9.925

F.2 Perhitungan Persentase Penghambatan

1. Dosis 0,023 g/20gBB

$$\text{Replikasi 1} : 100\% - (4.5/9.9 \times 100\%) = 54.29 \%$$

$$\text{Replikasi 2} : 100\% - (4.575/9.9 \times 100\%) = 53.78\%$$

$$\text{Replikasi 3} : 100\% - (4.55/9.925 \times 100\%) = 54.16\%$$

2. Dosis 0,046 g/20gBB

$$\text{Replikasi 1} : 100\% - (4.38/9.9 \times 100\%) = 55.80 \%$$

$$\text{Replikasi 2} : 100\% - (4.425/9.9 \times 100\%) = 55.30\%$$

$$\text{Replikasi 3} : 100\% - (4.35/9.925 \times 100\%) = 56.17\%$$

3. Dosis 0,092 g/20gBB

$$\text{Replikasi 1} : 100\% - (3.925/9.9 \times 100\%) = 60.35 \%$$

$$\text{Replikasi 2} : 100\% - (3.9/9.9 \times 100\%) = 60.61\%$$

$$\text{Replikasi 3} : 100\% - (3.925/9.925 \times 100\%) = 60.45\%$$

4. Dosis 0,183 g/20gBB

$$\text{Replikasi 1} : 100\% - (3.53/9.9 \times 100\%) = 64.39 \%$$

$$\text{Replikasi 2} : 100\% - (3.575/9.9 \times 100\%) = 63.89\%$$

$$\text{Replikasi 3} : 100\% - (3.575/9.925 \times 100\%) = 63.98\%$$

5. ACT

$$\text{Replikasi 1} : 100\% - (0.55/9.9 \times 100\%) = 94.44 \%$$

$$\text{Replikasi 2} : 100\% - (0.55/9.9 \times 100\%) = 94.44\%$$

$$\text{Replikasi 3} : 100\% - (4.55/9.925 \times 100\%) = 94.46\%$$

LAMPIRAN G. HASIL ANALISIS

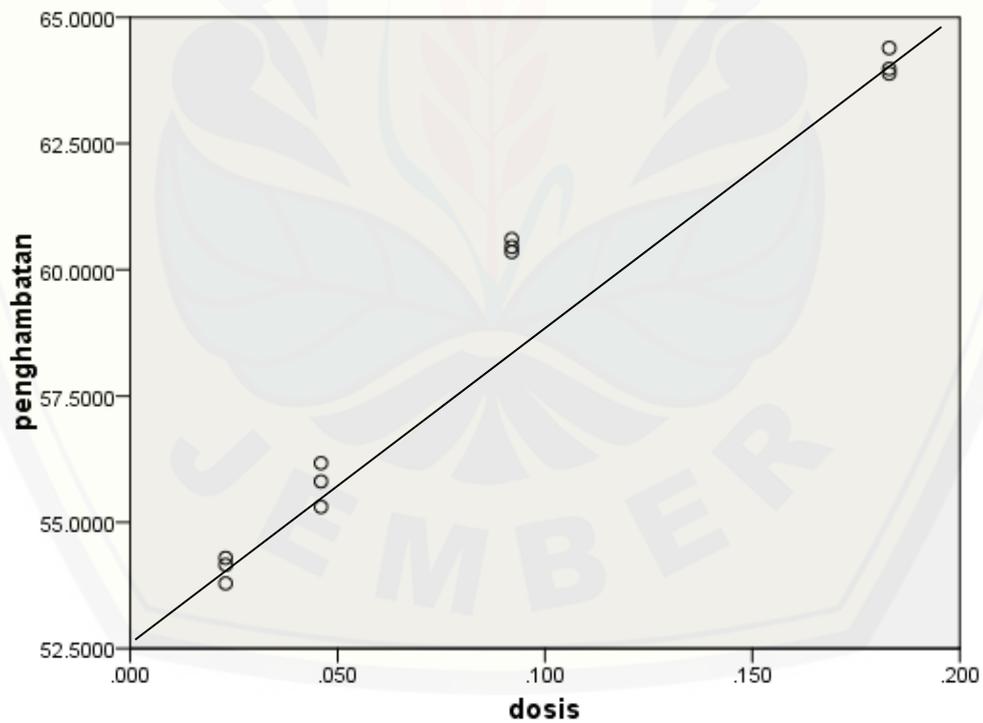
G.1 Hasil Uji Normalitas *Saphiro-Wilk*

Tests of Normality

		Shapiro-Wilk		
dosis		Statistic	df	Sig.
penghambatan	0.183	.880	3	.325
	0.092	.986	3	.771
	0.046	.991	3	.821
	0.023	.934	3	.506

a. Lilliefors Significance Correction

G.2 Hasil Uji *Scatterplot Graphic*



G.3 Hasil Uji Korelasi Pearson**Correlations**

		Dosis	Penghambatan
Dosis	Pearson Correlation	1	.974**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	12	12
Penghambatan	Pearson Correlation	.974**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	12	12

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

G.4 Hasil Analisis Probit**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for dosis		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	.000	.000	.000
.020	.000	.000	.000
.030	.000	.000	.000
.040	.000	.000	.000
.050	.000	.000	.000
.060	.000	.000	.000
.070	.000	.000	.000
.080	.000	.000	.000
.090	.000	.000	.000
.100	.000	.000	.000
.150	.000	.000	.000
.200	.000	.000	.001
.250	.000	.000	.001
.300	.000	.000	.002
.350	.001	.000	.004
.400	.002	.000	.008
.450	.005	.000	.015
→ .500	.012	.000	.027
.550	.032	.004	.056
.600	.085	.047	.283
.650	.236	.117	7.598
.700	.692	.235	319.858

a. Logarithm base = 10.

LAMPIRAN H. DOKUMENTASI PENELITIAN

H.1 Proses Penjemuran Bangle



H.2 Proses Pengayakan



H.3 Proses Maserasi



H.4 Pemekatan Filtrat dengan Rotary Evaporator



H.5 Ekstrak Kental Bangle



H.6 Kelompok Penelitian



H.7 Suspensi Granul Efervesen Ekstrak Etanol Bangle



H.8 Inokulasi *Plasmodium berghei* secara Inraperitoneal



H.9 Proses Penyondean



H.10 Gambaran Hapusan Darah Mencit Terinfeksi *P.berghei*

