



**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP  
PLASMODIUM BERGHEI SECARA *IN VIVO***

**SKRIPSI**

Oleh

**Ferry Fitriya Ayu Andika  
NIM 142010101019**

**PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP  
PLASMODIUM BERGHEI 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

**Ferry Fitriya Ayu Andika**  
**NIM 142010101019**

**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 kisah hidup saya ini. Sholawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita menuju jalan yang terang di muka bumi ini.

Dengan penuh cinta dan ketulusan hati, skripsi ini saya persembahkan untuk mereka yang berarti bagi kehidupan saya.

1. Orang tua saya tercinta, Ayah H. Kajim (Alm.) dan Ibu Hj. Sundari yang selalu memberikan do'a tiada henti, bimbingan, dukungan, kasih sayang, dan pengorbanan yang dilakukan setiap waktu.
2. Kakak-kakak saya, Syamsul Anam dan Achmad Sholeh yang selalu mendukung, memotivasi, dan menjaga saya sebagai adik yang sangat mereka sayangi.
3. Para pahlawan tanpa tanda jasa yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya manusia yang berilmu dan bertakwa.
4. Keluarga besar angkatan 2014 Elixir Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## MOTTO

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.”\*)

“Dan sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia lain.”\*\*)

“Hiduplah seperti bersepeda. Untuk bisa seimbang kita harus terus bergerak. Sekali kita diam, maka bersiaplah untuk terjatuh.”\*\*\*)

---

\*) Qur'an Surat Al-Mujadalah Ayat 11

\*\*) Hadist Riwayat Thabrani dan Daruquthi

\*\*\*) Albert Einstein

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ferry Fitriya Ayu Andika

NIM :142010101019

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumnar* Roxb.) terhadap *Plasmodium berghei* 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, 24 November 2017

Yang menyatakan,

Ferry Fitriya Ayu Andika

NIM.142010101019

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL RIMPANG  
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) TERHADAP  
PLASMODIUM BERGHEI SECARA *IN VIVO***

Oleh

**Ferry Fitriya Ayu Andika  
NIM 1420101019**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Bagus Hermansyah, M.Biomed  
Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yohanes Sudarmanto, M.Med.Ed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumnar* Roxb.) terhadap *Plasmodium berghei* secara *In Vivo*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Jumat, 24 November 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,



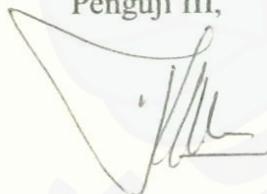
Dr.rer.biol.hum.dr. Erma S., M.Si  
NIP 19770222 200212 2 001

Penguji II,



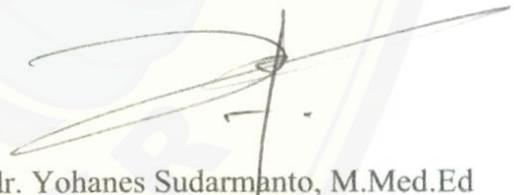
dr. Supangat, M.Kes.,Ph.D.,Sp.BA  
NIP 19730424 199903 1 002

Penguji III,



dr. Bagus Hermansyah, M.Biomed  
NIP 19830405 200812 1 001

Penguji IV,



dr. Yohanes Sudarmanto, M.Med.Ed  
NIP 19840119 200912 1 007

Mengesahkan,

Dekan,



dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 19700214 199903 2 001

## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) terhadap *Plasmodium berghei* secara *In Vivo*;** Ferry Fitriya Ayu Andika, 142010101019; 91 halaman; 2017; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Malaria adalah salah satu penyakit infeksi yang memiliki morbiditas cukup tinggi di dunia dan disebabkan oleh protozoa genus *plasmodium*. Berdasarkan *World Malaria Report* (WHO, 2014), kasus malaria di Indonesia tersebar di seluruh pulau dan provinsi dengan derajat endemisitas yang berbeda-beda dan yang tertinggi berada di Indonesia Timur. Meningkatnya resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria membutuhkan alternatif obat dari tanaman alam yang mempunyai potensi sebagai antimalaria salah satunya yaitu dengan memanfaatkan tanaman bangle. Tanaman bangle mudah ditemukan di Indonesia dan memiliki efek sebagai antimalaria. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol rimpang bangle sebagai antimalaria terhadap model tikus yang diinduksi dengan *Plasmodium berghei* secara *in vivo*.

Penelitian ini adalah *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan satu kelompok kontrol negatif dan empat kelompok eksperimental. Penelitian ini dilakukan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Farmasetika dan Biologi Fakultas Farmasi, Laboratorium Farmakologi, dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah mencit galur Balb/c dengan jumlah sampel 25 ekor.

Prosedur penelitian ini yaitu dengan memberikan perlakuan pada sampel mencit setelah dilakukan adaptasi selama tujuh hari. Perlakuan yang diberikan berupa induksi malaria dengan *Plasmodium berghei* pada semua kelompok penelitian. Mencit yang telah terinfeksi kemudian dibedakan menjadi kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan, mencit yang terinfeksi diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol rimpang bangle yang dosisnya

berbeda-beda, yaitu 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB, sedangkan pada kelompok kontrol negatif tidak diberikan terapi.

Indikator aktivitas antimalaria ditunjukkan dengan perbedaan persentase penghambatan yang didapatkan dari pengukuran derajat parasitemia selama lima hari yaitu dari  $H_0$  hingga  $H_4$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase penghambatan parasit dengan nilai tertinggi dimiliki oleh kelompok perlakuan dengan dosis 2,26 mg/20gramBB dengan persentase penghambatan sebesar  $57,35 \pm 0,31\%$  kemudian menurun diikuti oleh kelompok perlakuan dengan dosis 4,52 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, dan 18,08 mg/20gramBB dengan persentase penghambatan sebesar  $55,20 \pm 0,10\%$ ,  $45,47 \pm 0,82\%$ , dan  $40,27 \pm 0,70\%$ . Pada kelompok kontrol negatif persentase penghambatan yang didapat adalah nol.

Berdasarkan uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk*, menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dan berdasarkan grafik *scatter* menunjukkan bahwa data bersifat linear. Pada uji korelasi *Pearson*, menunjukkan nilai sig. sebesar 0,000 sehingga korelasi bermakna ( $p < 0,01$ ). Nilai korelasi *Pearson* sebesar 0,956 menunjukkan korelasi negatif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat dan arahnya berkebalikan atau negatif. Berdasarkan hasil analisis probit didapatkan nilai *Inhibitory Concentration of 50%* ( $IC_{50}$ ) sebesar 6,09 mg/20gramBB yang termasuk dalam kategori moderat.

Penelitian *in vivo* ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas sebagai terapi antimalaria dengan menekan terjadinya peningkatan pertumbuhan derajat parasitemia dan nilai  $IC_{50}$  sebesar 6,09 mg/20gramBB yang mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 50%.

## PRAKATA

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

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

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. Yohanes Sudarmanto, M.Med.Ed selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam proses penyusunan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.
3. Dr.rer.biol.hum.dr. Erma S., M.Si selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Supangat, M.Kes.,Ph.D.,Sp.BA selaku Dosen Penguji Anggota yang memberikan kritik dan saran yang membangun dalam proses penyusunan skripsi ini.
4. dr. Wiwien Sugih Utami, M.Sc yang telah membantu dan memberi bimbingan, nasehat, motivasi, dan saran yang membangun dalam proses penyusunan skripsi ini;
5. Ayah H. Kajim (Alm.) dan Ibu Hj. Sundari tercinta atas segala dukungan moril, doa, nasehat, dan semua curahan kasih sayang yang tak pernah putus.
6. Kakak-kakak saya, Syamsul Anam dan Achmad Sholeh yang selalu mendukung, memotivasi, dan menjaga saya sebagai adik yang sangat mereka sayangi.

7. Romadhon Ilham Imani yang selalu memberikan semangat, motivasi, dan dukungan pada saya di setiap harinya.
8. Tim penelitian sekaligus sahabat saya, Herlin Karismaningtyas, Kesy Sasta H., Rudy Gunawan, mbak Fikriatul H., dan mbak Meylani N.R. yang telah bersama-sama berjuang untuk menyelesaikan penelitian ini.
9. Sahabat-sahabatku Anis Rahmawati, Izza Alimatus, Monika Roosyidah, Yuli Lusiana, Annisa Sarfina, Annisa Dewi, Herlinda Puji, Desy Pratiwi, Aristanti Endahningtyas, Afifatun Hasanah, Nastiti Widoretno, Novia Adhitama, Afdini Safitri, Inmas Nur F., Herlina Antika, Sinta Paramita, Lisa Amalia, Umi Rahmawati, Ilvy Wiliyanti, dan Hikmah Nur Indah, yang telah memberikan motivasi dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Analis Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah membantu dorongan dan semangat dalam penyelesaian skripsi ini.
11. Civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Pak Ilham, Pak Ramto, Mas Anton, dan Mbak Ida yang senantiasa membantu kesulitan dalam pengurusan administrasi skripsi.
12. Seluruh angkatan 2014 (ELIXIR) yang telah berjuang bersama-sama demi gelar Sarjana.
13. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
14. 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, 24 November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Malaria</b> .....	6
2.1.1 Definisi Malaria .....	7
2.1.2 Etiologi dan Hospes Malaria .....	7
2.1.3 Transmisi Malaria .....	9
2.1.4 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i> .....	9

2.1.5	Patogenesis Malaria .....	11
2.1.6	Manifestasi Klinis Malaria .....	13
2.1.7	Diagnosis Malaria .....	15
2.1.8	Pengobatan Malaria di Indonesia .....	16
2.1.9	Resistensi <i>Plasmodium</i> terhadap Obat Anti Malaria (OAM) .....	18
<b>2.2</b>	<b><i>Plasmodium berghei</i></b> .....	18
2.2.1	Taksonomi <i>Plasmodium berghei</i> .....	19
2.2.2	Morfologi <i>Plasmodium berghei</i> .....	19
2.2.3	Siklus Hidup <i>Plasmodium berghei</i> .....	21
2.2.4	<i>Plasmodium berghei</i> sebagai Riset Ilmiah .....	21
<b>2.3</b>	<b>Tanaman Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)</b> .....	22
2.3.1	Taksonomi Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) ..	22
2.3.2	Morfologi Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) ....	23
2.3.3	Kandungan Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) ..	23
2.3.4	Mekanisme Kerja Rimpang Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) sebagai Antimalaria .....	25
<b>2.4</b>	<b>Ekstraksi Etanol Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)</b> .....	26
<b>2.5</b>	<b>Kerangka Teori</b> .....	28
<b>2.6</b>	<b>Kerangka Konsep</b> .....	30
<b>2.7</b>	<b>Hipotesis</b> .....	31
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	32
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian</b> .....	32
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian</b> .....	32
<b>3.3</b>	<b>Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	33
3.3.1	Populasi .....	33
3.3.2	Sampel .....	34
3.3.3	Jumlah Sampel .....	34
<b>3.4</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	35
<b>3.5</b>	<b>Variabel Penelitian</b> .....	35

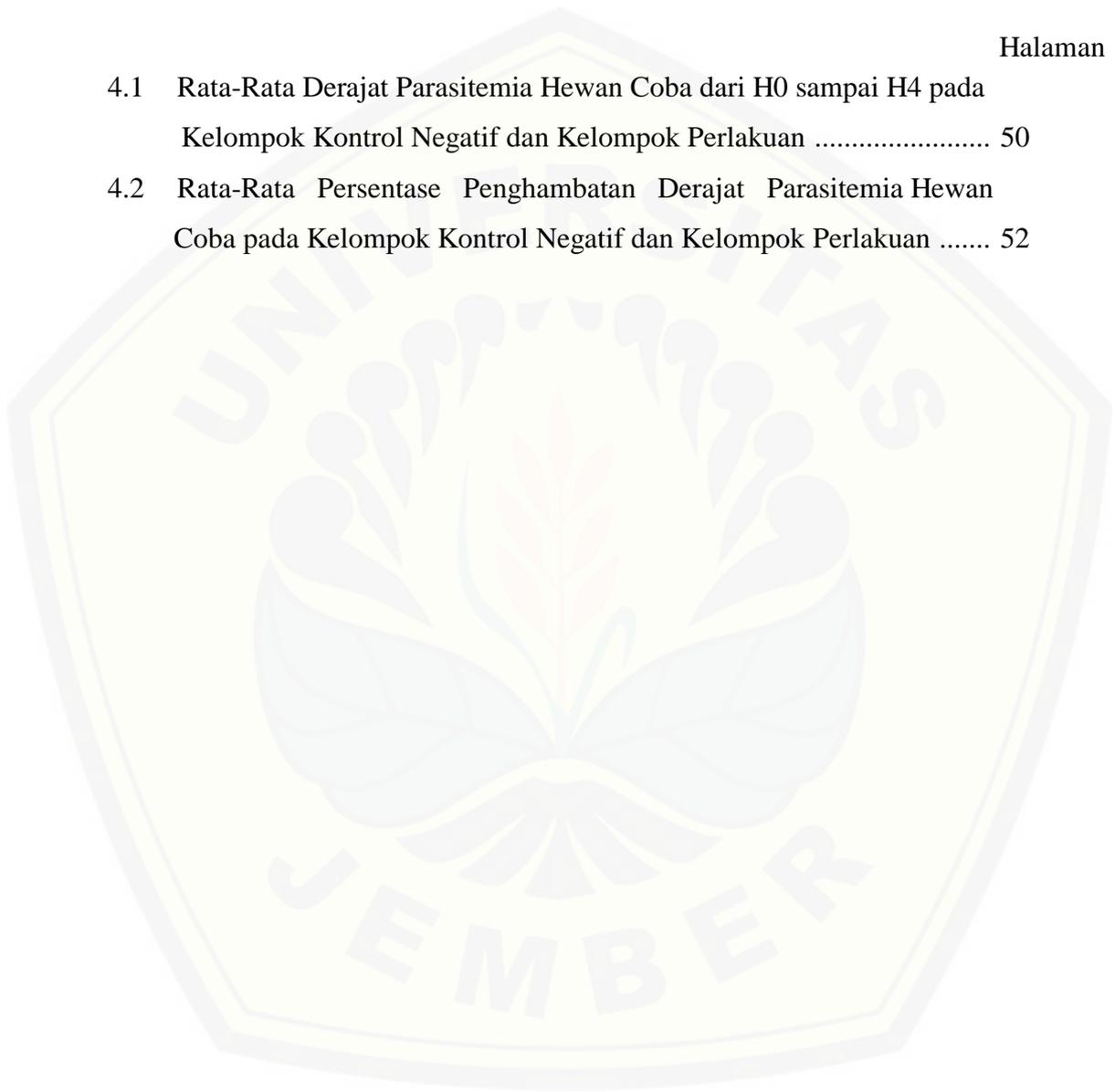
3.5.1	Variabel Bebas .....	35
3.5.2	Variabel Terikat .....	35
3.5.3	Variabel Luar Terkendali dan Tidak Terkendali .....	35
<b>3.6</b>	<b>Definisi Operasional .....</b>	<b>36</b>
3.6.1	Uji Aktivitas Antimalaria .....	36
3.6.2	Ekstrak Etanol Rimpang Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) .....	36
3.6.3	Derajat Parasitemia .....	37
3.6.4	Persentase Penghambatan terhadap <i>Plasmodium</i> ....	37
3.6.5	<i>Inhibitory Concentration of 50% (IC<sub>50</sub>)</i> .....	37
<b>3.7</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>38</b>
3.7.1	Alat Penelitian .....	38
3.7.2	Bahan Penelitian .....	38
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>39</b>
3.8.1	Pemilihan Hewan Coba .....	39
3.8.2	Persiapan Hewan Coba .....	39
3.8.3	Pembuatan Ekstrak Etanol Bangle .....	40
3.8.4	Penetapan Dosis Bangle .....	40
3.8.5	Tahap Perlakuan .....	41
3.8.6	Pembuatan Hapusan Darah Sediaan Tetes Darah Tipis .....	44
3.8.7	Pengamatan Histopatologi Derajat Parasitemia .....	44
3.8.8	Perhitungan Persentase Penghambatan .....	45
<b>3.9</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>46</b>
<b>3.10</b>	<b>Alur Penelitian .....</b>	<b>47</b>
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil Penelitian .....</b>	<b>48</b>
<b>4.2</b>	<b>Analisis Hasil Penelitian .....</b>	<b>54</b>
<b>4.3</b>	<b>Pembahasan .....</b>	<b>55</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>63</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan .....</b>	<b>63</b>

5.2 Saran .....	63
DAFTAR PUSTAKA .....	64
LAMPIRAN .....	70



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Rata-Rata Derajat Parasitemia Hewan Coba dari H0 sampai H4 pada Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Perlakuan .....	50
4.2 Rata-Rata Persentase Penghambatan Derajat Parasitemia Hewan Coba pada Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Perlakuan .....	52



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i> .....	10
2.2 Patogenesis pada Malaria Berat akibat <i>Plasmodium sp.</i> .....	13
2.3 Parasit Malaria Stadium <i>Ring Form</i> pada Hapusan Darah Tipis yang ditunjukkan pada Perbesaran 1000X .....	20
2.4 Rimpang Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) .....	23
2.5 Kerangka Teori .....	28
2.6 Kerangka Konsep .....	30
3.1 Skema Rancangan Penelitian .....	32
3.2 Lapang Pandang untuk Penghitungan Derajat Parasitemia .....	45
3.3 Alur Penelitian .....	47
4.1 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Perbesaran 1000x dengan Bentuk Parasit <i>Ring Form</i> atau <i>Tropozoit</i> .....	49
4.2 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Perbesaran 1000x dengan Bentuk Parasit <i>Skizon</i> atau <i>Multiple Infection</i> .....	49
4.3 Hubungan Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Bangle dengan Rata-Rata Derajat Parasitemia Hewan Coba dari $H_0$ sampai $H_4$ .....	51
4.4 Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Bangle dengan Hasil Rata-Rata Persentase Penghambatan Parasit Hewan Coba dari $H_0$ sampai $H_4$ .....	53

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
LAMPIRAN A. Persetujuan Etik Penelitian .....	70
LAMPIRAN B. Hasil Identifikasi Tanaman Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) .....	71
LAMPIRAN C. Surat Tugas Penelitian .....	72
LAMPIRAN D. Hasil Penghitungan Dosis Ekstrak Etanol Rimpang Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.) .....	73
LAMPIRAN E. Tabel Perhitungan Derajat Parasitemia $H_0$ sampai $H_4$ .....	76
LAMPIRAN F. Tabel Persentase Penghambatan .....	81
LAMPIRAN G. Hasil Analisis Statistik .....	82
LAMPIRAN H. Dokumentasi Penelitian .....	85

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Malaria adalah salah satu penyakit infeksi yang memiliki morbiditas cukup tinggi di dunia. Malaria disebabkan oleh protozoa genus *Plasmodium* yang memiliki lima jenis spesies yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium knowlesi*. Transmisi penyebaran malaria tersebut terjadi melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina (Natadisastra *et al.*, 2009) dan tempat perindukan potensial nyamuk *Anopheles* yaitu sanitasi lingkungan yang buruk (Laihad *et al.*, 2011). Diketahui pula bahwa malaria menjadi penyebab kematian ketiga pada kasus penyakit infeksi dan memiliki gambaran trias gejala klasik, yaitu demam periodik, anemia, dan splenomegali (Harijanto, 2014).

Berdasarkan *World Malaria Report* (WHO, 2014), kasus malaria di dunia pada tahun 2013 dilaporkan mencapai 3,2 milyar orang yang beresiko terinfeksi, 198 juta orang telah terinfeksi, dan 584 ribu meninggal akibat terinfeksi diantaranya 453 ribu anak-anak di bawah usia lima tahun. Kasus malaria di Indonesia tersebar di seluruh pulau dan provinsi dengan derajat endemisitas yang berbeda-beda, sehingga pemerintah melakukan pemantauan malaria melalui API (*Annual Parasite Incidence*). Berdasarkan data API, Indonesia bagian Timur masuk dalam stratifikasi malaria tinggi, sedangkan Jawa-Bali masuk dalam stratifikasi malaria rendah (Kemenkes RI, 2011).

Malaria pada tahun 2010 ditetapkan sebagai salah satu indikator dari target Pembangunan Milenium (MDGs) dengan target yang ingin dicapai adalah menghentikan penyebaran dan mengurangi kejadian insiden malaria hingga mencapai satu dari 1000 penduduk. Berdasarkan data API, upaya untuk menurunkan angka insiden malaria menunjukkan kecenderungan yang positif, hal tersebut dilihat dari penurunan kasus malaria sejak tahun 2012 sebesar 1,69/1000

menjadi 0,99/1000 penduduk pada tahun 2014 (Chaniago, 2015). Menurut *Global Malaria Programme* (GMP), malaria merupakan penyakit yang harus terus menerus dilakukan pengamatan, *monitoring* dan evaluasi, serta diperlukan formulasi kebijakan dan strategi yang tepat dalam penanganan insidensi di suatu negara (Kemenkes RI, 2011). Hal tersebut menjadikan malaria sebagai salah satu indikator pembangunan berkelanjutan (SDGs) tahun 2015-2030. Salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam penanganan malaria adalah pemberian Obat Antimalaria (OAM) yang dapat menghambat perkembangbiakan parasit yang beredar dalam darah penderita malaria.

Pengobatan malaria di Indonesia menggunakan OAM kombinasi yaitu *Artemisin-based-Combination Therapy* (ACT) (Depkes, 2012). Pengobatan malaria tersebut terdapat kendala yaitu terjadinya resistensi pengobatan malaria yang dapat mengakibatkan kematian maupun meluasnya kasus-kasus malaria (Yusuf, 2014), sehingga diperlukan suatu solusi untuk mencegah meluasnya atau komplikasi malaria, salah satunya melalui pemanfaatan tanaman herbal yang memiliki efek samping rendah, ekonomis, dan mudah yang dapat digunakan sebagai terapi alternatif malaria.

Tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) merupakan salah satu tanaman herbal dari famili *zingiberaceae*. Beberapa penelitian *in vivo* sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak rimpang bangle mengandung senyawa curcumin yang dapat menghambat aktivitas inflamasi pada *P. berghei* yang diinfeksi pada mencit model penelitian malaria (Ferreira *et al.*, 2010; Ghosh *et al.*, 2014; Chairul *et al.*, 2009). Curcumin tersebut bekerja sebagai immunomodulator untuk menurunkan sitokin proinflamasi (seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$ ) serta menurunkan adhesi molekul (ICAM1, VCAM1, dan E-selectin) yang sebelumnya terjadi overproduksi sitokin proinflamsi dan peningkatan adhesi molekul pada kasus malaria berat (Mimche *et al.*, 2011). Selain itu, tanaman bangle juga memiliki kandungan bioaktif lain yang dapat berperan sebagai imunostimulan antimalaria antara lain: phlobotannins, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, steroid, curcumin, *phenylbutenoid compound* dan glikosida. Beberapa penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa ekstrak metanol rimpang bangle berpotensi

menurunkan derajat parasitemia *Plasmodium*, meningkatkan fagositosis makrofag, serta meningkatkan kadar *Nitrit Oxide* (NO) dalam makrofag dan serum yang berperan sebagai respon imunitas awal pada penderita malaria sehingga dapat mengaktivasi ekspresi kaskade *Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma* (PPAR $\gamma$ ) dan faktor Nrf2 yang membantu dalam menurunkan sitokin proinflamasi dan adhesi molekul pada sel endotel (Arini *et al.*, 2014; Armiyanti *et al.*, 2014; Hermansyah *et al.*, 2015). Diketahui bahwa pelarut ideal yang sering digunakan adalah etanol atau campurannya dengan air yaitu etanol 96% yang merupakan pelarut pengestraksi yang lebih selektif dan mempunyai kekuatan ekstraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid dan merupakan pelarut pengestraksi yang terpilih untuk pembuatan ekstrak sebagai bahan baku sediaan *herbal medicine* (Arifianti *et al.*, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antimalaria ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap *P. berghei* secara *in vivo* pada hewan coba (mencit jantan galur Balb/c) yang diinfeksi *P. berghei*. Penggunaan *P. berghei* sebagai model parasit *P. falciparum* untuk menginduksi model hewan coba dikarenakan *P. berghei* memiliki kesamaan morfologi dan protein dengan *P. falciparum*, *P. berghei* belum pernah dilaporkan dapat menyebabkan malaria pada manusia dan dalam penelitian laboratorium umumnya ditularkan melalui suntikan darah hewan rodensia terinfeksi ke hewan rodensia lainnya, serta ketersediaan teknologi penanaman atau kultivasi *in vitro* dan produksi dalam skala besar terhadap berbagai fase siklus hidup (Rachmadenawanti, 2015; Jerry, 2006). Selain hal tersebut, dilakukannya metode ekstraksi dengan pelarut etanol diharapkan dapat menghasilkan informasi baru mengenai aktivitas larutan etanol pada proses ekstraksi rimpang bangle yang mempunyai efek terapi antimalaria.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah yang didapat adalah sebagai berikut.

1. Apakah ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas sebagai antimalaria mencit jantan galur balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?
2. Bagaimanakah perbedaan persentase penghambatan dari ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis 18,08 mg/20gramBB, 9,04mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB terhadap mencit jantan galur balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?
3. Berapakah nilai *Inhibitory Concentration of 50%* (IC50) dari ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB sebagai antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* 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 penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antimalaria ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Mengetahui aktivitas ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai terapi antimalaria mencit jantan galur balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan mengukur derajat parasitemia.
- b. Mengetahui perbedaan persentase penghambatan dari ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB terhadap mencit jantan galur balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
- c. Menentukan nilai *Inhibitory Concentration of 50%* (IC<sub>50</sub>) dari ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis dengan dosis 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB sebagai antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bagi peneliti, dapat menambah kemampuan peneliti dalam penulisan karya ilmiah dan menambah wawasan penelitian terkait tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai antimalaria.
- b. Bagi masyarakat, penelitian ini diharapkan dapat memberi tambahan informasi dan ilmu pengetahuan mengenai obat herbal dari tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sehingga dapat bermanfaat sebagai dasar pengobatan alternatif untuk menurunkan komplikasi malaria yang menyebabkan kematian.
- c. Bagi penelitian selanjutnya, penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan baru bagi perkembangan penelitian selanjutnya sebagai tinjauan pustaka yang berkaitan dengan obat herbal antimalaria dan mendorong para peneliti lain untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang dapat digunakan sebagai terapi *adjuvant* (komplementer) malaria, guna meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia dan tercapainya target SDG-s 2030.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Malaria

Indonesia merupakan salah satu negara endemik malaria dikarenakan tingginya kasus resistensi obat antimalaria (OAM) di Indonesia. Penyakit malaria sering menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB) di beberapa provinsi di Indonesia dengan derajat endemisitas yang berbeda-beda sehingga pemerintah melakukan pemantauan malaria dengan API (*Annual Parasite Incidence*). Menurut *Global Malaria Programme* (GMP), malaria merupakan penyakit yang harus terus menerus dilakukan pengamatan, monitoring dan evaluasi, serta diperlukan formulasi kebijakan dan strategi yang tepat dalam penanganan insidensi di suatu Negara (Kemenkes RI, 2011).

Penanggulangan parasit malaria telah dilakukan dengan berbagai upaya, tetapi prevalensinya tetap tinggi. Hal tersebut terjadi dikarenakan resistensi vektor terhadap insektisida dan adanya resistensi *Plasmodium sp.* terhadap OAM baik monoterapi maupun ACT. Resistensi tersebut timbul diakibatkan karena penggunaan obat antimalaria yang tidak adekuat dan tidak sesuai dengan aturan cara pemakaian. Mekanisme terjadinya resistensi OAM tersebut belum diketahui dengan pasti, tetapi diperkirakan resistensi tersebut terjadi karena mutasi gen yang diakibatkan oleh tekanan obat atau penggunaan obat dalam dosis subkuratif (Cholis, 2009). Oleh karena hal tersebut, perlu dilakukan upaya untuk mencari dan mengembangkan alternatif obat malaria baru yang efektif, aman, memiliki sedikit efek samping, terjangkau, dan mudah didapatkan terutama yang berasal dari tanaman. Berikut adalah uraian yang membahas mengenai tinjauan pustaka malaria.

#### 2.1.1 Definisi Malaria

Malaria adalah salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus *Plasmodium* yang dapat ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles betina* (*vector borne disease*). Awal tahun 1717, Giovanni Lancisi

membuat postulat bahwa malaria adalah sebuah racun yang dapat ditularkan oleh nyamuk (Arias, 2010). Kata malaria berasal dari istilah Italia “*Mala Aria*” yang artinya adalah udara buruk. Malaria memiliki arti udara buruk karena dahulu banyak terdapat di rawa-rawa dan mengeluarkan bau busuk (Arsin, 2012). Penyakit ini memiliki nama lain, seperti demam roma, demam rawa, demam tropik, demam pantai, demam charges, demam kura, dan palludisme (Prabowo, 2008). Anggapan saat ini diperbaharui bahwa malaria adalah infeksi parasit pada sel darah merah yang disebabkan oleh suatu protozoa genus *Plasmodium* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk (Handayani dan Haribowo, 2008). Parasit tersebut akan membelah diri dan bertambah banyak di dalam hati manusia dan kemudian menginfeksi sel darah merah pada tubuh manusia (Soedarto, 2011).

#### 2.1.2 Etiologi dan Hospes Malaria

Agen penyebab malaria adalah Protozoa darah genus *Plasmodium* yang banyak tersebar di wilayah tropis, misalnya di Amerika, Asia, dan Afrika. Penyebaran malaria dilakukan oleh vektor nyamuk *Anopheles* betina infeksiif, sebagian besar nyamuk *Anopheles* menggigit pada malam hari, puncak gigitan nyamuk dari malam sampai fajar (Shi *et al.*, 2007). Saat ini telah dilaporkan sekitar 200 spesies *Plasmodium* di seluruh dunia, sedangkan di Indonesia masih dikenal ada lima spesies yang dapat menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium knowlesi* (Perkins *et al.*, 2011; Arsin, 2012). Berikut adalah penjelasan mengenai lima spesies *Plasmodium* yang dikenal di Indonesia.

- a. *Plasmodium falciparum*, dilaporkan oleh Welch pada tahun 1897. *Plasmodium falciparum* merupakan penyebab dari malaria tertiana maligna, malaria tropika, atau malaria pernisiiosa, secara klinik berat karena dapat menyebabkan malaria serebral dan fatal. Masa inkubasi dari *P. falciparum* adalah 12 hari dengan gejala seperti nyeri kepala, demam tidak begitu nyata, dan terkadang dapat menyebabkan gagal ginjal (Rachmadenawanti, 2015).
- b. *Plasmodium vivax*, dilaporkan oleh Labbe pada tahun 1899. *Plasmodium vivax* dapat menyebabkan malaria vivax atau malaria tertiana benigna. Demam

terjadi setiap 48 jam atau setiap hari ketiga pada siang hari atau sore hari. Masa inkubasi dari *P. vivax* adalah antara 12 hari sampai dengan 17 hari. Pembengkakan limpa merupakan salah satu gejala yang menonjol (Paniker, 2013).

- c. *Plasmodium ovale*, dilaporkan oleh Stepphens pada tahun 1922 dapat menyebabkan malaria ovale. Masa inkubasi dari *P. ovale* adalah antara 12 hari sampai dengan 17 hari. Demam terjadi setiap 48 jam atau setiap hari ketiga. Malaria ovale ini ringan dan dapat sembuh dengan cepat (Paniker, 2013).
- d. *Plasmodium malariae*, dilaporkan oleh Grassi dan Velletri pada tahun 1980 dapat menyebabkan malaria malariae atau malaria kuartana. Masa inkubasi adalah 28 hari sampai dengan 30 hari. Malaria *P. malariae* ini bersifat ringan dan dapat diketahui saat pemeriksaan fisik (Ahmadi, 2010).
- e. *Plasmodium knowlesi*, mulai menimbulkan pertanyaan sebagai parasit malaria yang patogenik bagi manusia setelah dilakukan studi di Malaysia. Selain hal tersebut telah terjadi kasus tambahan yang dilaporkan dari negara-negara Asia lainnya. Diagnosis mikroskopik malaria oleh *P. knowlesi* ini terhambat dikarenakan morfologis *P. knowlesi* menyerupai *P. falciparum* atau *P. malariae*, tergantung pada fase darah. Di Indonesia tepatnya di Propinsi Kalimantan Selatan, telah dilakukan penelitian *P. knowlesi* yang berfokus pada karakteristik gen dari isolat malaria pada 22 penambang emas yang terinfeksi malaria. Dari penelitian tersebut terdapat 4 dari 22 sampel yang terdiagnosis terinfeksi malaria dilihat menggunakan PCR dengan spesifik *P. knowlesi* untuk kualitas ikatan 153-bp (Sulistyaningsih *et al.*, 2010)

Berdasarkan cara penularan penyakit malaria, penularan dibedakan menjadi dua yaitu penularan secara alamiah (*natural infection*) dan penularan tidak alamiah (*non-natural infection*). Penularan secara alamiah adalah penularan malaria dari manusia ke manusia melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina infeksi. Dalam tubuh nyamuk *Anopheles* betina dapat hidup lebih dari satu spesies *Plasmodium* secara bersamaan sehingga dapat menyebabkan terjadinya infeksi campuran atau *mixed infection*, paling banyak merupakan campuran antara *P. falciparum* dengan *P. vivax* atau *P. malariae* (Widoyono, 2011). Penularan secara tidak alamiah adalah

penularan malaria tidak melalui vektor nyamuk *Anopheles* tetapi melalui transfusi darah, jarum suntik, maupun penularan dari ibu hamil ke janin yang dikandungnya (Rachmadenawanti, 2015)

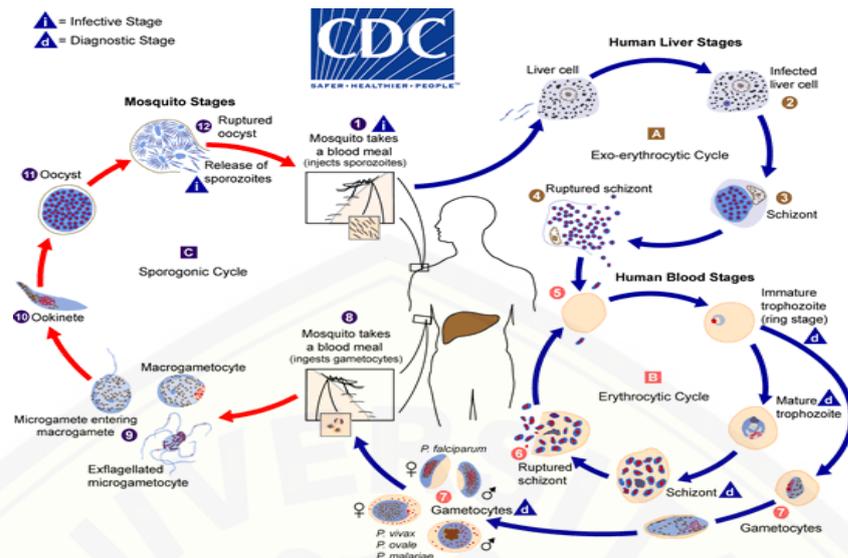
### 2.1.3 Transmisi Malaria

Penularan penyakit malaria dapat terjadi melalui dua cara, yaitu sebagai berikut.

- a. Penularan secara alamiah (*natural infection*) melaalui gigitan nyamuk *Anopheles*.
- b. Penularan non-alamiah, yaitu sebagai berikut.
  1. Malaria kongenital (bawaan), bayi yang dikandung oleh ibu yang terinfeksi malaria akibat sawar plasenta yang rusak.
  2. Penularan secara mekanik, melalui transfusi darah atau jarum suntik. Penularan melalui jarum suntik banyak terjadi pada para pecandu obat bius yang menggunakan jarum suntik yang tidak steril. Infeksi malaria melalui transfusi darah hanya menghasilkan siklus eritrosit saja sehingga dapat diobati dengan mudah.
  3. Penularan secara oral, pernah dibuktikan pada ayam (*P. Gallinassium*), burung dara (*P. Relection*), dan monyet (*P. Knowlesi*). Umumnya sumber infeksi malaria pada manusia adalah manusia lain yang sakit malaria, baik dengan gejala maupun tanpa gejala klinis (Widoyono, 2011).

### 2.1.4 Siklus Hidup *Plasmodium*

Dalam siklus hidupnya *Plasmodium* memiliki dua hospes, hospes definitif dan intermediet. Hospes definitif *Plasmodium* yaitu nyamuk *Anopheles* dimana terdapat siklus seksual yang membentuk sporozoit pada tubuh nyamuk sebagai sporogoni dan hospes intermediet *Plasmodium* yaitu manusia dimana terjadi siklus aseksual (Gambar 2.1) (Soedarto, 2008).



Gambar 2.1 Siklus Hidup *Plasmodium* (Sumber: *Center for Disease Control and Prevention*, 2016)

#### 2.1.4.a Siklus Hidup *Plasmodium* secara Aseksual pada Manusia

Siklus hidup ini terjadi di dalam tubuh nyamuk melalui proses sporogoni. Mikrogametosit (sel jantan) dan makrogametosit (sel betina) terhisap oleh vektor bersama darah penderita. Gametosit akan membesar ukurannya dan meninggalkan eritrosit. Pada tahap gametogenesis, mikrogamet akan mengalami eksflagelasi dan diikuti fertilisasi makrogametosit. Proses ini akan membentuk zigot yang kemudian akan berubah menjadi ookinet, parasit tersebut menembus dinding sel midgut, dimana parasit berkembang menjadi ookista. Ookista pecah dan membentuk sporozoit yang tinggal dalam kelenjar ludah vektor. Sporozoit infeksiif segera menginvasi sel-sel dan keluar dari kelenjar ludah. Perubahan dari mikrogametosit dan makrogametosit sampai menjadi sporozoit di dalam kelenjar ludah vektor disebut masa tunas ekstrinsik atau siklus sporogoni (Depkes RI, 2008). Jumlah sporokista pada setiap ookista dan lamanya siklus sporogoni, pada masing-masing spesies *Plasmodium* adalah berbeda. Jumlah sporozoit *P. vivax* dalam ookista adalah 30-40 butir dan siklus sporogoni selama 8-9 hari, sporozoit *P. falciparum* adalah 10-12 butir dan siklus sporogoni selama 10 hari, serta sporozoit *P. malariae* adalah 6-8 butir dan siklus sporogoni selama 26-28 hari (Widoyono, 2011; Santoso, 2015).

a. Siklus Hidup *Plasmodium* secara Seksual pada Nyamuk *Anopheles*

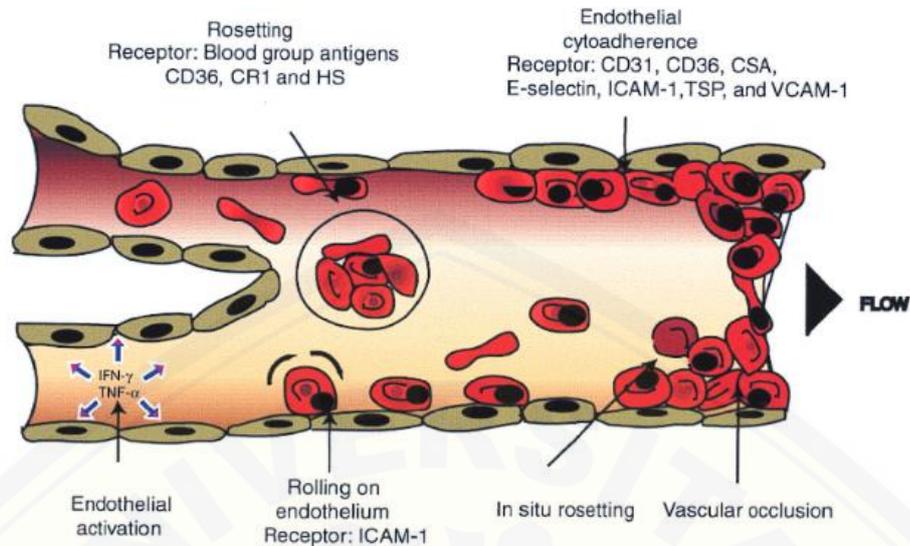
Siklus aseksual dimulai ketika nyamuk *Anopheles* betina infeksiif menghisap darah manusia, sporozoit yang berada dalam kelenjar ludah nyamuk *Anopheles* masuk kedalam aliran darah selama lebih kurang 30 menit. Sporozoit menuju ke hati dan menembus hepatosit, dan menjadi trophozoit. Trophozoit berkembang menjadi skizon hati yang terdiri dari 10.000 sampai 30.000 merozoit hati. Siklus ini disebut siklus eksoeritrositik yang berlangsung selama 9-16 hari. Pada *P. falciparum* dan *P. malariae* siklus skizogoni berlangsung lebih cepat sedangkan *P. vivax* dan *P. ovale* siklus ada yang cepat dan ada yang lambat (Depkes RI, 2013). Merozoit yang berasal dari skizon hati akan pecah dan menginfeksi sel darah merah. Eritrosit yang terinfeksi (skizon) akan pecah dan merozoit yang keluar akan menginfeksi sel darah merah lainnya. Siklus ini disebut siklus eritrositik. Sebagian trophozoit hati tidak langsung berkembang menjadi skizon, akan tetapi ada yang menjadi bentuk dorman yang disebut bentuk hipnozoit. Bentuk hipnozoit dapat tinggal di dalam sel hati selama berbulan-bulan bahkan sampai bertahun-tahun. Apabila penderita mengalami penurunan imunitas tubuh, maka parasit menjadi aktif sehingga menimbulkan kekambuhan (Widoyono, 2011). Masa inkubasi adalah rentang waktu sejak sporozoit masuk kedalam tubuh sampai timbulnya gejala klinis berupa demam. Lama masa inkubasi bervariasi tergantung spesies *Plasmodium*. Masa prapaten adalah rentang waktu sejak sporozoit masuk sampai parasit dapat dideteksi dalam darah dengan pemeriksaan mikroskopik (Santoso, 2015).

#### 2.1.5 Patogenesis Malaria

Patogenesis malaria terjadi akibat interaksi kompleks antara parasit, hospes, dan lingkungan. Pada malaria mekanisme patogenesisnya berkaitan dengan invasi merozoit ke dalam eritrosit, sehingga dapat menyebabkan eritrosit yang mengandung merozoit mengalami perubahan struktur dan biomolekuler sel untuk mempertahankan kehidupan parasit. Perubahan tersebut meliputi beberapa mekanisme, antara lain adalah transport membran sel, sitoadherens, sekuestrasi dan

*rosetting* (Gambar 2.2). Sitoaderens adalah peristiwa perlekatan eritrosit yang telah terinfeksi pada reseptor di bagian endotelium vena dan kapiler. Sitoaderens menyebabkan eritrosit terinfeksi matur tidak beredar kembali dalam sirkulasi. Proses sitoaderens memiliki dua keuntungan, yaitu proses maturasi akan lebih baik pada lingkungan microaerophilic dan eritrosit yang terinfeksi dapat terhindar dari pembersihan limpa. Eritrosit terinfeksi yang berada di jaringan mikrovaskular ini disebut eritrosit terinfeksi yang mengalami sekuestrasi. Proses sekuestrasi ini memegang peranan utama dalam patofisiologi malaria berat. Sekuestrasi hanya dapat dilakukan oleh *P. falciparum* dan terjadi pada organ vital dan hampir semua jaringan dalam tubuh. Sekuestrasi tertinggi terjadi di otak, diikuti dengan hepar dan ginjal, paru, jantung, usus dan kulit. Sekuestrasi dapat menyebabkan obstruksi perfusi jaringan (Baeti, 2010; Harijanto, 2014).

*Rosetting* adalah perlekatan antara satu eritrosit yang mengandung merozoit matang dengan diselubungi oleh sekitar sepuluh atau lebih eritrosit non parasit sehingga berbentuk seperti bunga. *Rosetting* menyebabkan obstruksi aliran darah lokal atau dalam jaringan sehingga mempermudah terjadinya sitoaderens. Beberapa reseptor rosetting telah diidentifikasi pada eritrosit, yaitu antigen golongan darah A dan B, CD 36, *Complement Receptor 1* (CR 1), dan HS like GAGs (Baeti, 2010). Sitokin terbentuk dari sel endotel, monosit, dan makrofag setelah mendapat stimulasi dari malaria toksin (LPS, GPI). Sitokin ini antara lain TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-3, LT, dan INF- $\gamma$ . TNF- $\alpha$  menyebabkan peningkatan molekul adhesi endotel ICAM-1, VCAM-1, dll dan juga meningkatkan IL-1 dan IL-6. Selain itu, aktivasi TNF- $\alpha$  juga dapat meningkatkan jumlah TNF- $\alpha$  itu sendiri (Harijanto, 2014).



Gambar 2.2 Patogenesis pada Malaria Berat akibat *Plasmodium sp.* (Sumber: Chen *et al.*, 2000)

#### 2.1.6 Manifestasi Klinis Malaria

Gejala klinik malaria berkaitan erat dengan proses patogenesis malaria. Penyakit malaria diawali gejala prodormal yang tidak spesifik diantaranya lesu, sakit, kepala, anoreksia, mual, muntah, dan demam yang tidak teratur. Malaria memiliki tiga gejala klinik utama (trias malaria) yaitu demam paroksismal, anemia, dan hepatosplenomegali (Natadisastra *et al.*, 2009).

Demam paroksismal dimulai ketika eritrosit yang mengandung parasit memicu makrofag yang sensitif endotoksin untuk melepaskan berbagai mediator. Endotoksin berasal dari parasit malaria menyebabkan pelepasan faktor nekrosis tumor (TNF) yang merupakan suatu monokin yang dapat ditemukan dalam peredaran darah manusia dan hewan yang terinfeksi parasit malaria. TNF dan sitokin dapat menimbulkan demam, hipoglikemia, dan sindrom penyakit pernapasan pada orang dewasa. Serangan demam malaria sangat khas terjadi selama 2–12 jam dengan tiga stadium. Stadium awal adalah rigoris (menggigil), penderita menggigil seperti kedinginan walaupun suhu terus menerus naik dan berlangsung selama 15–60 menit. Stadium akme (puncak demam), pada stadium ini suhu tetap tinggi mencapai  $41^{\circ}\text{C}$  ( $106^{\circ}\text{F}$ ) dan berlangsung selama 2–6 jam. Stadium sudoris, suhu mulai turun disertai banyak keringat sampai mencapai suhu

normal dan berlangsung selama dua sampai dengan empat jam. Pada stadium ini penderita merasa seolah-olah sudah sembuh dari malaria, dilanjutkan stadium tanpa demam atau aprexia dengan suhu tubuh normal. Serangan demam ini akan berulang dua atau tiga hari kemudian, tergantung dari jenis *Plasmodium*. Jenis demam pada malaria menurut ulangan demamnya ada dua jenis, yaitu tertiana dan kuartana. Demam paroksismal tertiana adalah demam yang berulang setiap 48 jam atau setiap hari ketiga, terjadi pada malaria akibat *P. falciparum*, *P. vivax*, dan *P. ovale*. Demam paroksismal kuartana adalah demam yang berulang setiap 72 jam atau setiap hari keempat, terjadi pada malaria akibat *P. malariae* (Natadisastra *et al.*, 2009).

Anemia dapat terjadi ketika penghancuran eritrosit. Fagositosis atau proses penghancuran tidak hanya pada eritrosit yang mengandung parasit tetapi juga terhadap eritrosit yang tidak mengandung parasit. Dearajat fagositosis RES (*Reticuloendothelial System*) meningkat menyebabkan lebih banyak eritrosit yang dihancurkan, umur eritrosit menjadi lebih pendek, dan depresi eritropoiesis (pembentukan eritrosit berkurang). Hal tersebut menimbulkan anemia dan hipoksemia jaringan. Anemia dapat memiliki tipe hemolitik, normokrom, normositer (Natadisastra *et al.*, 2009). Beratnya anemia tidak sebanding dengan parasitemia menunjukkan adanya kelainan eritrosit terjadi juga pada eritrosit yang tidak mengandung parasit. Faktor lain yang menyebabkan terjadinya anemia adalah karena terbentuknya antibodi terhadap eritrosit (Harijanto, 2014).

Limpa merupakan organ retikuloendotelial sistem yang dapat memproduksi limfosit. Limpa penting untuk pertahanan tubuh melawan infeksi malaria. Limpa pada penderita malaria berfungsi sebagai filter untuk menghancurkan eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium*. *Plasmodium* dan pigmen pada eritrosit difagositosis secara aktif oleh makrofag limpa. Splenomegali atau limpa mengalami pembesaran dan pembendungan, serta pigmentasi sehingga mudah pecah. Pada awalnya pembesaran limpa terasa lunak, mudah pecah, dan nyeri sehingga harus berhati-hati pada pemeriksaan fisik. Pada malaria kronis terjadi hiperplasia dari retikulosit disertai peningkatan makrofag (monositosis) (Natadisastra *et al.*, 2009; Harijanto, 2014). Makrofag dan limfosit berperan dalam

mekanisme imun dan pengenalan perubahan deformabilitas ketika limpa mengeleminasi eritrosit yang terinfeksi. Pada gambaran histopatologi didapatkan eritrosit terinfeksi melekat pada makrofag melalui knob permukaan karena terjadi fagositosis aktif. Adanya retensi eritrosit terinfeksi maupun yang tidak terinfeksi, peningkatan fagositosis oleh mononuklear limpa dan lisis yang dimediasi *complement-fixing* malaria *antigen-antibody* menyebabkan hipertrofi RES dan berkontribusi terhadap terjadinya splenomegali (Buffet *et al.*, 2011)

Eritrosit yang terinfeksi oleh *Plasmodium* dapat membentuk tonjolan-tonjolan pada permukaannya. Tonjolan tersebut mengandung antigen dan bereaksi dengan antibodi malaria yang berhubungan dengan afinitas eritrosit yang mengandung parasit terhadap endothelium kapiler. Eritrosit yang terinfeksi menempel pada endotelium membentuk gumpalan yang menimbulkan anoksia dan edema jaringan berat. Anoksia dan edema pada otak menyebabkan malaria serebral yang dikategorikan malaria berat (Natadisastra *et al.*, 2009; Harijanto, 2014). Malaria serebral merupakan keadaan kegawatdaruratan malaria karena dapat menyebabkan kematian. Manifestasi klinis malaria serebral sangat beragam, namun hanya terdapat tiga gejala terpenting, baik pada anak dan dewasa, antara lain sebagai berikut.

- a. Gangguan kesadaran dengan demam non spesifik.
- b. Kejang umum dan sekuel neurologik.
- c. Koma menetap selama 24 – 72 jam, mula-mula dapat dibangunkan, kemudian tidak dapat dibangunkan (Rachmadenawanti, 2015).

#### 2.1.7 Diagnosis Malaria

Diagnosis malaria diperlukan dalam terapi atau pengobatan penderita malaria sehingga kemampuan teknis dalam mendiagnosis malaria yang tepat sangat penting untuk menentukan langkah selanjutnya dalam pengobatan penderita malaria. Diagnosis malaria ditegakkan melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Anamnesis pada penderita malaria diperlukan untuk mengetahui riwayat pasien, seperti keluhan yang diderita oleh pasien, usia pasien, riwayat pasien berkunjung ke daerah yang endemik malaria, riwayat pasien tinggal

di daerah endemik, riwayat pernah sakit malaria, riwayat minum obat anti malaria, riwayat kehamilan, dan riwayat pernah mendapatkan transfusi. Diganosis malaria klinis atau *clinical presumptive* diagnosis adalah diagnosis malaria berdasarkan pada pemeriksaan penderita secara klinis yaitu trias malaria (demam, anemia, dan splenomegali). Gejala khas malaria sering tidak sama antara satu daerah dengan daerah lainnya, sehingga diagnosis klinis tidak bisa dijadikan acuan utama dalam pengobatan malaria sebab tingkat kesalahannya cukup tinggi. Pemeriksaan penunjang malaria sangat penting untuk menegakkan diagnosis dari malaria, antara lain adalah pemeriksaan mikroskopis, pemeriksaan imunoserologi, pemeriksaan serologi, pemeriksaan biomolekuler, dan pemeriksaan kimia darah. *Gold standart* penegakan diagnosis malaria adalah dengan pemeriksaan mikroskopis ditemukannya parasit dalam darah (Rachmadenawanti, 2015).

#### 2.1.8 Pengobatan Malaria di Indonesia

Di Indonesia, pengobatan malaria secara spesifik dibagi menjadi dua yaitu pengobatan malaria tanpa komplikasi dan pengobatan malaria dengan komplikasi (malaria berat) (Depkes RI, 2012). Pengobatan pada kasus dengan malaria dilakukan berdasarkan jenis *Plasmodium sp.* yang menyerang manusia. Pada saat pasien datang dengan keluhan trias malaria disertai gejala prodormal dilakukan pemeriksaan sediaan darah dengan membuat hapusan darah tepi pasien maupun menggunakan *Rapid Diagnostic Test*. Setelah jenis *Plasmodium sp.* yang menginfeksi teridentifikasi, maka dilakukan terapi sesuai *Plasmodium sp.* yang menyerang. Penyebab malaria terbanyak disebabkan oleh *P. falciparum*. Hal yang terpenting pada pengobatan kasus malaria dengan maupun tanpa komplikasi adalah penggunaan terapi kombinasi untuk mencegah dan menghambat kasus resistensi. Obat yang digunakan adalah ACT atau *Artemisin Combination Therapy* (Santoso, 2015).

#### 2.1.8.a Pengobatan Malaria tanpa Komplikasi

Pengobatan malaria tanpa komplikasi ditentukan oleh jenis parasit yang menginfeksi apakah jenis *P. falciparum* dan/atau *P. vivax* dengan melakukan pemeriksaan sediaan darah secara mikroskopis atau dengan *Rapid Diagnostic Test* (RPD) dan ada atau tidaknya kasus resistensi pada obat yang akan digunakan pada daerah tersebut. Pemberiaan pengobatan untuk malaria tanpa komplikasi yang disebabkan oleh satu jenis *Plasmodium* pada lini pertama yaitu dengan pemberian Dihydroartemisinin-Peperakuin atau Artesunat Amodikuin selama tiga hari ditambah dengan Primakuin satu hari, sedangkan pemberian pengobatan lini kedua yaitu dengan pemberian Kina, Doxycyclin atau Tetracyclin selama tujuh hari, dan Primakuin satu hari. Apabila penyebab malaria tanpa komplikasi adalah kombinasi dari dua jenis *Plasmodium* yaitu dengan pemberian Dihydroartemisinin-Peperakuin atau Artesunat Amodikuin selama tiga hari ditambah dengan Primakuin selama empat belas hari (Depkes RI, 2012).

#### 2.1.8.b Pengobatan Malaria dengan Komplikasi

Pengobatan malaria dengan komplikasi (malaria berat) dengan cepat dan tepat dapat menyelamatkan penderita dari kematian. Pengetahuan yang luas tentang manifestasi malaria berat, evaluasi fungsi organ yang terlibat, deteksi parasit dengan cepat, langkah-langkah tindakan yang tepat, dan pengobatan sangat diperlukan. Prinsip tindakan untuk malaria berat yaitu sebagai berikut.

- 1) Tindakan umum
- 2) Pengobatan terhadap malaria, diantaranya:
  - a) obat antimalaria; dan
  - b) *exchange transfusion*.
- 3) Pengobatan komplikasi

Pada tingkat puskesmas, pengobatan malaria dengan komplikasi dilakukan dengan memberikan artemeter ataupun kina hidroklorida intramuskular sebagai dosis awal sebelum merujuk ke rumah sakit rujukan. Pengobatan malaria di rumah sakit dianjurkan untuk menggunakan artesunat intravena (Depkes RI, 2012).

### 2.1.9 Resistensi *Plasmodium* terhadap Obat Antimalaria (OAM)

Masalah yang paling utama dalam pengendalian malaria adalah resistensi *Plasmodium* terhadap OAM. Hal tersebut terjadi dikarenakan menurunnya sensitivitas parasit terhadap OAM yang dipakai atau terjadi suatu penurunan efikasi OAM. Penderita dikatakan resisten pada parasit malaria apabila suatu galur parasit mampu untuk bertahan hidup atau berkembang biak pada pemberian dosis setara atau lebih tinggi dari dosis yang direkomendasikan, tetapi masih dalam batas toleransi dari pasien. Resistensi yang timbul akibat penggunaan OAM yang tidak adekuat dan tidak sesuai dengan aturan cara pemakaiannya. Mekanisme terjadinya resistensi obat belum diketahui dengan pasti tetapi diduga bahwa resistensi terjadi karena mutasi gen dan mutasi ini terjadi karena tekanan obat atau penggunaan obat dalam dosis subkuratif (Cholis, 2009).

Resistensi *P. falciparum* dilaporkan pada pemberian terapi *Artemisinin Combination Therapy* (ACT). ACT merupakan pengobatan lini pertama terkini yang disarankan oleh WHO pada setiap negara untuk memberantas malaria. Beberapa studi dilakukan di Thailand dan Kamboja untuk menilai efikasi terapi artesunate-mefloquine, regimen ACT yang direkomendasikan di negara tersebut. Hasil dari studi tersebut menunjukkan bahwa tingginya tingkat kegagalan terapi ACT di beberapa provinsi di Thailand dan Kamboja ditandai adanya waktu klirens yang memanjang oleh strain parasit pada pasien malaria yang menunjukkan infeksi strain parasit yang resisten. Efikasi ACT harus tetap di monitor dan perlu dilakukan antisipasi kemunculan strain parasit yang resisten, terutama *P. falciparum*. Beberapa usaha yang dapat dilakukan menjaga sensitivitas parasit terhadap obat tersebut, antara lain adalah menghindari monoterapi obat-obat yang termasuk dalam ACT dan penggunaan obat herbal atau alternatif sebagai terapi komplementer malaria (Yusuf, 2014).

## 2.2 *Plasmodium berghei*

*Plasmodium berghei* adalah hemoprotzoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia. Salah satu rodensia tersebut adalah seperti mencit (*Mus Musculus*). *Plasmodium berghei* banyak digunakan dalam penelitian malaria. Hal

tersebut disebabkan karena genom *P. berghei* mempunyai ukuran genom yang paling mirip dengan genom *P. falciparum* dibandingkan dengan jenis *Plasmodium* yang lainnya dan memiliki kemiripan sifat biokimiawi antara *P. Berghei* dan *P. falciparum* (Ngaliyatun *et al.*, 2013). Diketahui bahwa *P. falciparum* dapat menyebabkan komplikasi pada malaria sehingga dipergunakannya *P. Berghei* pada penelitian ini diharapkan memiliki manifestasi klinis seperti *P. falciparum*. Pada penelitian ini, *P. falciparum* tidak dapat digunakan karena parasit tersebut dapat hidup di manusia sehingga dapat membahayakan peneliti (Ngaliyatun *et al.*, 2013). *P. berghei* juga memiliki siklus hidup maupun morfologi seperti parasit malaria pada manusia. Oleh karena hal tersebut, *P. berghei* oleh para peneliti digunakan sebagai model penelitian untuk mencari dan mengembangkan OAM. Pada mencit, *P. berghei* lebih cepat berkembang daripada rodent jenis lainnya (Suryawati dan Suprapti, 2007).

#### 2.2.1 Taksonomi *Plasmodium berghei*

Klasifikasi *Plasmodium berghei* adalah sebagai berikut.

Kerajaan	: Protista
Kelas	: Apicomplexa
Kelas	: Aconosida
Ordo	: Haemosporida
Famili	: Plasmodiidae
Genus	: <i>Plasmodium</i>
Spesies	: <i>Plasmodium berghei</i>

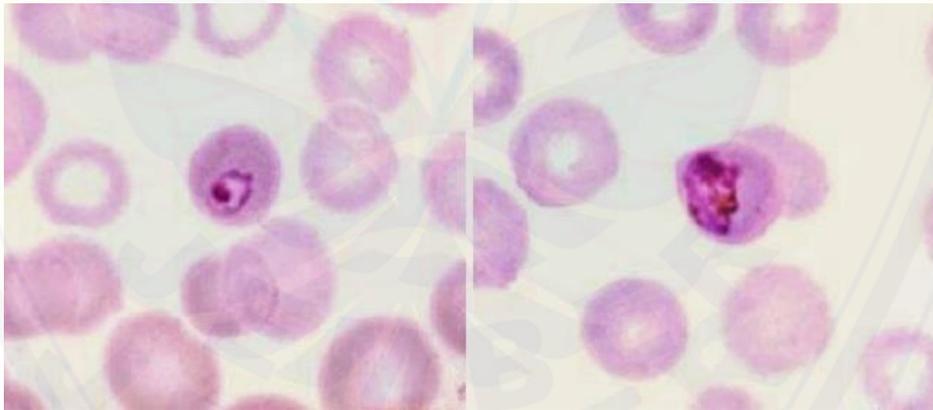
#### 2.2.2 Morfologi *Plasmodium berghei*

Dalam darah rodensia bentuk *P. berghei* yang bisa ditemukan yaitu bentuk cincin, trophozoit, skizon, dan gametosit.

- Bentuk cincin, tampak sebagai cincin dengan sitoplasma biru dengan nukleus kromatin merah seperti titik dan terlihat dengan pengecatan *Giemsa* dari hapusan darah tepi (Gambar 2.3).

- b. Bentuk trophozoit, berbentuk amuboid atau seperti pipa.
- c. Bentuk skizon, ukuran sekitar 27  $\mu$ m pada hari keempat setelah infeksi dan pada eritrosit tampak sebagai titik-titik kasar berwarna merah gelap yang tampak jelas.
- d. Bentuk gametosit, terdapat dua bentuk yaitu makrogametosit dan mikrogametosit. Makrogametosit berbentuk pisang, bernoda biru mengandung kumpulan nukleus dan granula, sedangkan bentuk mikrogametosit seperti ginjal atau kacang, bernoda biru muda atau kemerahan mengandung nukleus yang mengkilat dengan granula yang lebih kecil dan tersebar (Santoso, 2015).

Pada pemeriksaan darah tepi, dijumpai terutama parasit muda yang berbentuk cincin (*ring form*) baik pada hapusan darah tebal dan darah tipis. Pada sediaan darah tebal, sporozoit berbentuk cincin, gametosit berbentuk pisang, dan bentuk cincin banyak dijumpai disisi luar gametosit. Pada sediaan hapusan darah tipis, trophozoit muda berbentuk tanda seru atau koma dan cincin terbuka, gametosit berbentuk pisang, serta terdapat bintik *Maurer* pada sel darah merah (Suryawati dan Suprapti, 2007).



Gambar 2.3 Parasit Malaria Stadium *Ring Form* pada Hapusan Darah Tipis yang ditunjukkan pada Perbesaran 1000X (Sumber: Lab Histologi Fakultas kedokteran Universitas Airlangga)

### 2.2.3 Siklus Hidup *Plasmodium berghei*

Sporozoit dapat ditemukan di dalam hepatosit sejak beberapa menit sampai beberapa jam setelah di inokulasikan. Sporozoit akan berkembang selama 47-52 jam di dalam hepatosit dan sporozoit tersebut akan melewati beberapa fase yaitu dari mulai fase trophozoit sampai skizon matang. Hepatosit akan ruptur dan merozoit keluar dilepaskan ke aliran darah. *Plasmodium berghei* tidak dijumpai fase hipnozoit karena hewan pengerat terdapat respon imun yang melawan hipnozoit. Merozoit yang dikeluarkan akan mengulang fase aseksual, sebagian akan memasuki siklus seksual dan membentuk gametosit. Gametosit merupakan bentuk yang infeksius bagi nyamuk *Anopheles* dan hanya dapat melanjutkan fase sporogoni (Jerry, 2006).

### 2.2.3 *Plasmodium berghei* sebagai Riset Ilmiah

Studi tentang parasit malaria meningkat sejak tahun 1978 terutama pada parasit *P. falciparum*. Peningkatan studi tersebut diikuti dengan meningkatnya penelitian terhadap penyakit malaria pada manusia. Diketahui bahwa *P. berghei* banyak digunakan dalam penelitian malaria sebagai pengganti *P. falciparum*. Hal tersebut disebabkan karena genom *P. berghei* mempunyai ukuran genom yang paling mirip dengan genom *P. falciparum*, dibandingkan dengan jenis *Plasmodium* yang lain, sehingga dipergunakannya *P. berghei* pada penelitian ini diharapkan memiliki manifestasi klinis seperti *P. falciparum* (Ngaliyatun *et al.*, 2013). Alasan penggunaan *P. berghei* sebagai model penelitian perkembangan biologi dari parasit malaria adalah sebagai berikut.

- a. *Plasmodium berghei* belum pernah dilaporkan dapat menyebabkan malaria pada manusia dan dalam penelitian laboratorium umumnya ditularkan melalui suntikan darah hewan pengerat terinfeksi ke hewan pengerat lainnya.
- b. Ketersediaan teknologi penanaman atau kultivasi *in vitro* dan produksi dalam skala besar terhadap berbagai fase siklus hidup.
- c. *Plasmodium berghei* memiliki kesamaan morfologi dengan *P. falciparum*.
- d. *Plasmodium berghei* juga memiliki kesamaan protein dengan *P. falciparum* permukaannya yang berperan pada invasi sel darah merah (Jerry, 2006).

### 2.3 Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Indonesia merupakan negara dengan tingkat biodiversitas tertinggi kedua di dunia setelah Brazil. Kekayaan flora yang tersebar di Indonesia memiliki potensi sebagai tanaman hias, obat-obatan, maupun makanan. Bangle merupakan salah satu dari sekian banyak flora yang tersebar di Indonesia, tetapi belum dimanfaatkan secara optimal (Sukewijaya *et al.*, 2013).

Bangle merupakan tanaman famili *zingiberaceae* yang berasal dari Asia tropika dan tanaman ini banyak ditemukan di Indi Asia Tenggara serta Indocina. Di Indonesia, tanaman bangle tersebar di daerah Sumatera, Jawa, Kalimantan, Maluku, dan Nusa Tenggara. Bangle dibudidayakan atau ditanam di pekarangan serta di tempat-tempat yang cukup mendapat sinar matahari, mulai dari dataran rendah sampai 1.300 m/dpl. *Zingiberaceae* disebut juga tumbuhan temu-temuan yang merupakan salah satu sumber plasma nutfah yang perlu dilestarikan. Tumbuhan ini memegang peranan penting dalam usaha peningkatan pendapatan petani dan pengembangan sumber bahan baku industri dalam negeri. Dengan mengetahui aspek-aspek botani, variasi morfologi, ekologi, penyebaran, serta penggunaannya, diharapkan kecintaan terhadap sumber plasma nutfah tersebut akan lebih mendalam sehingga kelestarian jenisnya terjaga (Raharjojo dan Gunardi, 2009; Santoso, 2015).

#### 2.3.1 Taksonomi Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Klasifikasi Tanaman Bangle adalah sebagai berikut (Media Medika Indonesiana UNDIP, 2009).

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Zingiber</i>
Jenis	: <i>Zingiber purpureum</i> Roxb.
Sinonim	: <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.

### 2.3.2 Morfologi Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

*Zingiber cassumunar* Roxb. memiliki morfologi yaitu berwarna hijau dengan rimpang kuat, batang tumbuh tegak, tinggi 1-1,5 m, membentuk rumpun yang agak padat, berbatang semu, terdiri dari pelepah daun yang di pinggir ujungnya berambut sikat, daun tunggal, letak berseling, helaian daun lonjong, tipis, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, berambut halus, jarang, pertulangan menyirip, panjang 23-35 cm, lebar 20-40 mm, warna hijau, bunganya bunga majemuk, bentuk tandan, keluar diujung batang, panjang gagang sampai 20 cm. Bagian yang mengandung bunga bentuknya bulat telur atau seperti gelondong, panjang 6-10 cm, lebar 4-5 cm. Bibir bunga bentuknya bundar memanjang, warnanya putih atau pucat. Bangle mempunyai rimpang yang menjalar dan berdaging, bentuknya hampir bundar sampai jorong atau tidak beraturan, tebal 2-5 mm, permukaan luar tidak rata, berkerut, terdapat parut daun, berwarna cokelat muda kekuningan, bila dibelah berwarna kuning muda sampai kuning kecokelatan (Gambar 2.4) (Padmasari *et al.*, 2013; Rachmadenawanti, 2015; Santoso, 2015).



Gambar 2.4 Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) (Sumber: Santoso, 2015)

### 2.3.3 Kandungan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)

Bangle adalah salah satu tanaman jenis *Zingiberaceae* yang banyak tumbuh di Indonesia, tetapi belum dikembangkan menjadi produk yang bernilai ekonomis, padahal tanaman ini mempunyai manfaat yang banyak bagi kesehatan. Berdasarkan penelitian, kandungan kimia dari rimpang bangle adalah minyak atsiri (sineol, pinen), damar, pati, dan tanin. Rimpang bangle mengandung saponin,

flavonoid, tanin, steroid, triterpenoid, antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, dan senyawa fenolik minyak atsiri (Iswantini *et al.*, 2011). Senyawa golongan flavonoid yang terkandung di dalam bangle telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antimalaria. Dari penelitian sebelumnya, senyawa flavonoid yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan parasit *P. falciparum* baik yang sensitif maupun resisten terhadap klorokuin dan juga dapat melindungi mencit dari infeksi malaria pada uji *in vivo* (Santoso, 2015). Beberapa tinjauan pustaka menyebutkan bahwa senyawa bioflavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan parasit memiliki mekanisme aksi dengan dua target utama yaitu: 1) membran yang dibentuk parasit malaria stadium intraeritrositik yaitu Jalur Permeasi Baru (NPP = *New Permeation Pathway*) dengan cara menghambat transpor nutrisi yang dibutuhkan parasit dan 2) vakuola makanan parasit malaria yaitu dengan menghambat proses degenerasi hemoglobin dan detoksifikasi heme (Ferreira *et al.*, 2010).

Zat phenilbutanoid yang diisolasi dari rimpang bangle menunjukkan aktivitas antioksidan melalui penangkapan radikal bebas. Pada keadaan malaria terjadi keadaan inflamasi dikarenakan terdapat sitokin-sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , oleh karena hal tersebut pemberian ekstrak bangle diharapkan dapat menghambat produksi sitokin-sitokin proinflamasi dan memperbaiki keadaan klinis penyakit malaria. Bangle juga menunjukkan aktivitas sebagai imunostimulan pada tiga derivat phenylbutanoid dari rimpang bangle yang menunjukkan aktivitas imunostimulan dengan uji aktivitas fagositosis makrofag. Peningkatan aktifitas fagositosis makrofag dapat meningkatkan imunitas terhadap parasit malaria (Chairul *et al.*, 2009)

Zat curcumin pada konsentrasi yang tinggi atau keadaan tertentu seperti adanya ion metal transisi dapat menyebabkan peningkatan ROS terutama dalam bentuk radikal hidroksil (Santoso, 2015). Hal tersebut telah dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Chui *et al.* (2007), bahkan ROS yang tinggi pada penelitian tersebut dapat menghambat pertumbuhan parasit melalui efek sitotoksitas yang merusak sel parasit. Aktivitas PPAR $\gamma$  karena peningkatan ROS juga dapat menghambat aktivitas NF-Kb yang menyebabkan *downregulation*

sitokin-sitokin proinflamasi dan ekspresi molekul-molekul adesi di endotel yang berperan dalam patomekanisme komplikasi pada malaria, yaitu pada proses *sitoadherens* dan *rosetting* (Mimche *et al.*, 2011).

#### 2.3.4 Mekanisme Kerja Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Antimalaria

Mekanisme kerja rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dalam beberapa penelitian dikatakan dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh manusia dengan cara meningkatkan fagositosis. Sistem imun sangat berperan penting dalam patogenesis malaria. Tes efektivitas fagositosis dari bangle dilihat dari manfaat senyawa bioaktivitas *phenylbutenoid compounds* (Chairul *et al.*, 2009). Fagositosis adalah salah satu proses dari mekanisme mempertahankan tubuh yang tidak spesifik dalam melawan beberapa agen atau benda asing termasuk mikroorganisme yang patogen. Sel yang berperan penting dalam mekanisme fagositosis disebut sel fagosit, yaitu mononuklear (monosit dan makrofag) dan polimorfonuklear atau granulosit (netrofil). Proses fagositosis efektif terjadi pada awal invasi mikroorganisme, sehingga dapat mencegah rasa sakit yang memburuk akibat invasi tersebut. Proses destruksi mikroorganisme dalam mempertahankan sistem imun dalam tubuh dibagi menjadi beberapa fase, antara lain adalah kemotaksis atau perpindahan sel fagosit ke tempat yang terinfeksi, sel fagosit berikatan dengan *non-specific receptor* (Chairul *et al.*, 2009). Dalam kasus penderita malaria efek fagositosis sangat penting karena dapat membantu dan meningkatkan fungsi sel fagosit dalam tubuh untuk melawan parasit yang menyerang tubuh. Kerusakan sel tubuh akibat stress oksidatif yang dicetuskan oleh malaria dapat memperburuk gejala klinis malaria dan meningkatkan terjadinya resiko komplikasi malaria. Infeksi malaria menginduksi pengeluaran radikal hydroxyl (OH) dari hati yang bertanggung jawab dalam induksi stress oksidatif dan apoptosis. Parasit malaria sendiri dapat mengeluarkan sejumlah besar  $H_2O_2$  dan  $O_2$ . Stress oksidatif melalui peroksidasi lipid dapat menyebabkan kematian trombosit prematur karena membran trombosit kurang tahan terhadap stress oksidatif (Natalia, 2014). Hal tersebut dapat menyebabkan trombositopenia. Rimpang bangle

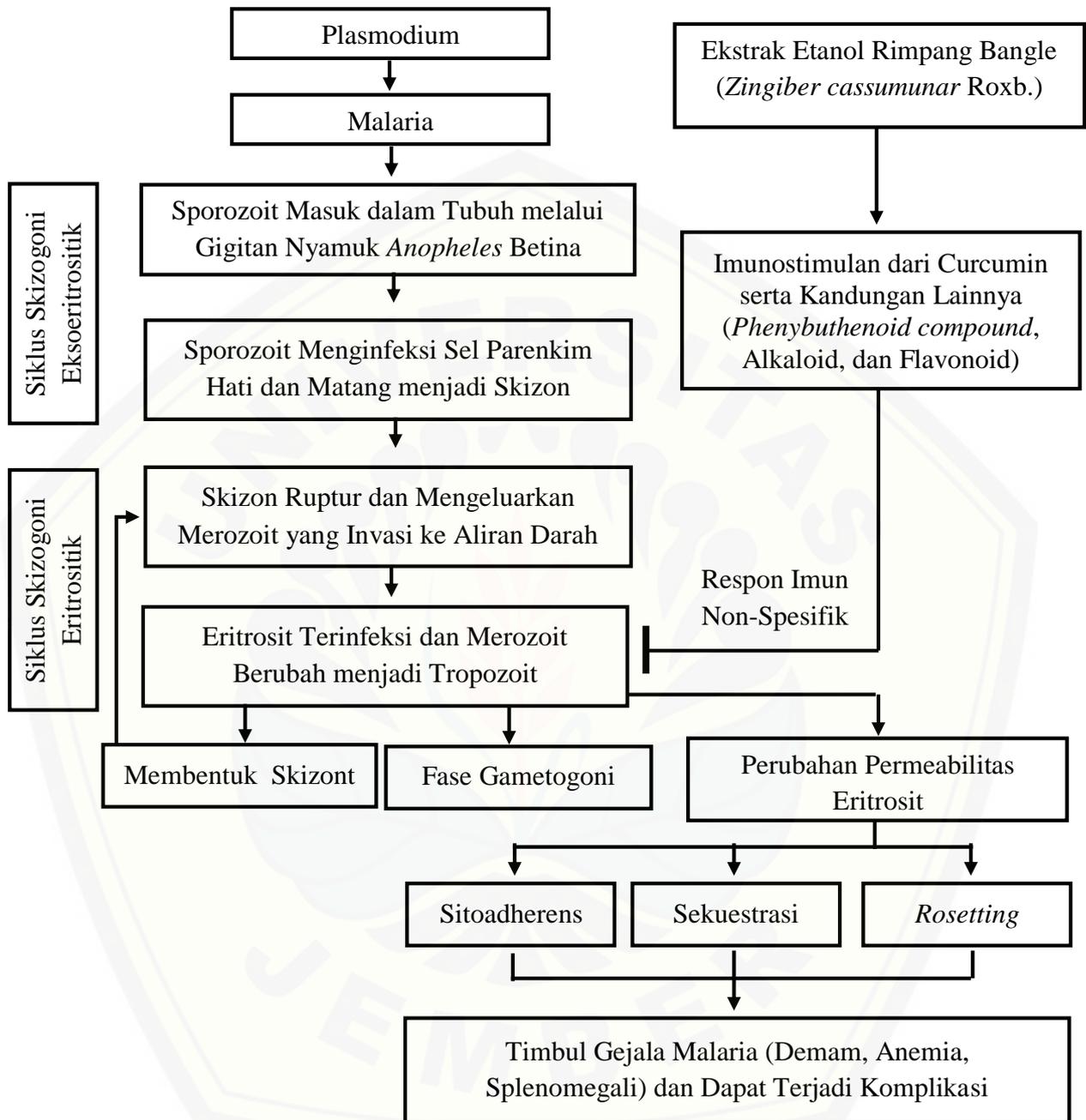
memiliki fungsi sebagai antioksidan untuk mencegah stress oksidatif yang berkelanjutan merusak sel, terutama trombosit. Kandungan senyawa curcumin pada rimpang bangle dapat digunakan sebagai antioksidan spesifik yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Barzegar, 2012). Curcumin pada bangle juga memiliki efek antiinflamasi, karena dapat melakukan *down regulation* atau menghambat aktivasi faktor transkripsi gen yang bertanggung jawab pada inflamasi sel endotel, yaitu Egr-1, AP-1, dan NF- $\kappa$ B. Proses *down regulation* mendorong proses *up regulation* CD36 yang memediasi fagositosis secara non – opsonisasi oleh makrofag, sehingga dapat menghambat pertumbuhan parasit melalui efek sitotoksitas curcumin. Hambatan terhadap Egr-1, AP-1, dan NF- $\kappa$ B menyebabkan penekanan terhadap sitokin-sitokin proinflamasi dan ekspresi molekul-molekul adesi di endotel yang berperan penting dalam patomekanisme komplikasi pada malaria, yaitu pada proses sitoaderens dan *rosseting*. Apabila proses sitoaderens dan *rosseting* dapat dihambat, maka proses sekuestrasi juga dapat dicegah. Sekuestrasi memegang peranan utama dalam patogenesis malaria berat. Efek sitotoksik dan parasitisidal dari curcumin diperkirakan dapat melawan protozoa parasit seperti *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Giardia*, dan *P. falciparum* (Ghosh *et al.*, 2014). Selain itu, rimpang bangle juga mengandung saponin, flavonoid, minyak atsiri, tanin, steroid, triterpenoid, antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, dan senyawa fenolik (Chanwitheesuk *et al.*, 2005; Iswantini *et al.*, 2011). Flavonoid dapat berfungsi sebagai imunostimulan, selain alkaloid, tanin, dan saponin. Kandungan minyak esensial adalah triquinacene 1,4-bis (methoxy), (Z)-ocimene and terpinen-4-ol (Bhuiyan *et al.*, 2008).

#### **2.4 Ekstraksi Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**

Ekstraksi adalah salah satu metode pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Sundari, 2010). Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Soepomo, 2014). Metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi, soxhletasi, penggodakan (refluks),

ekstraksi cair-cair (partisi), dan ekstraksi ultasonik (Sundari, 2010). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi yang merupakan metode pengambilan komponen target yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu dan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut etanol. Diketahui bahwa pelarut ideal yang sering digunakan adalah etanol atau campurannya dengan air yaitu etanol 96% yang merupakan pelarut pengekstraksi yang lebih selektif dan mempunyai kekuatan ekstraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid dan merupakan pelarut pengekstraksi yang terpilih untuk pembuatan ekstrak sebagai bahan baku sediaan *herbal medicine* (Arifianti *et al.*, 2014). Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Santoso, 2015). Dalam proses ekstraksi, isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi, sesekali dilakukan pengadukan dan juga dilakukan penggantian pelarut. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia sehingga tetap terjaga derajat konsentrasinya yang sekecil-kecilnya. Residu yang diperoleh dipisahkan kemudian diambil filtrat dan diuapkan. Keuntungan menggunakan metode maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kelemahan metode ini yaitu membutuhkan waktu cukup lama dan menggunakan jumlah pelarut yang banyak sehingga tidak efektif dan efisien (Santoso, 2015).

2.5 Kerangka Teori



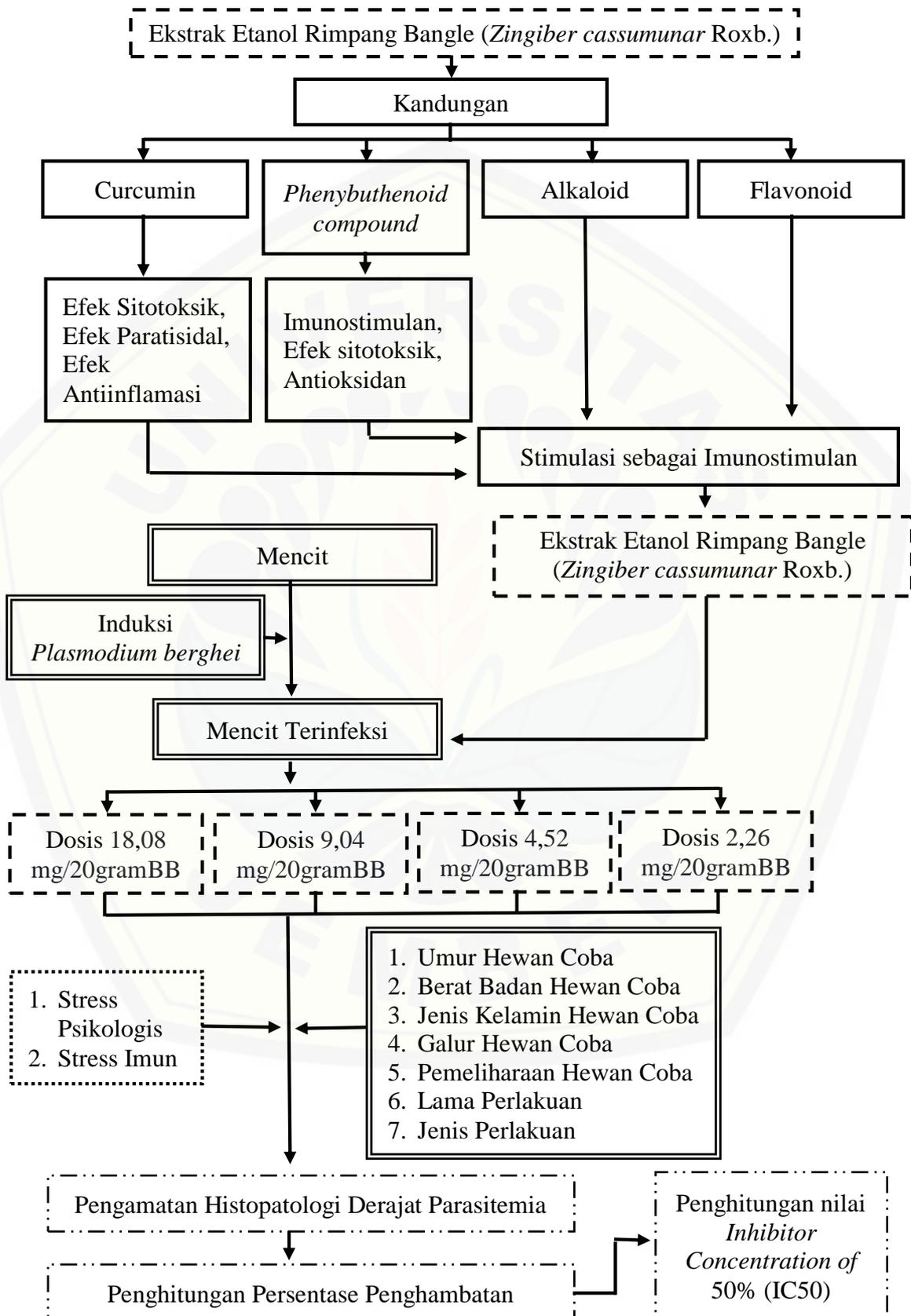
Keterangan :

- : Hubungan yang Menstimulasi
- ⊥ : Menghambat

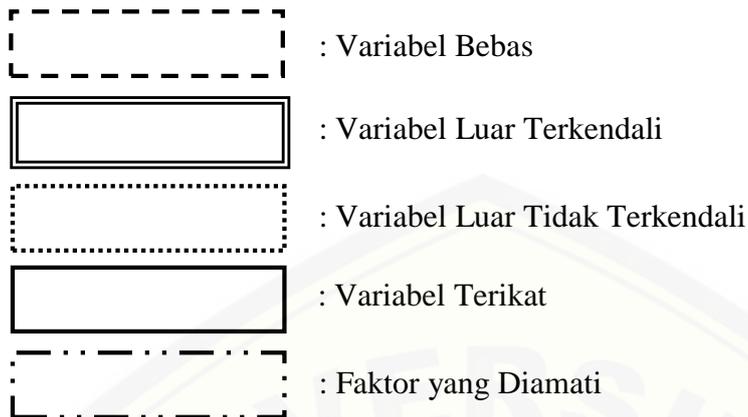
Gambar 2.5 Kerangka Teori

Penyakit malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium sp.* Parasit tersebut memiliki dua siklus skizogoni dalam tubuh manusia yaitu eksoeritrositik dan eritrositik. Pada siklus skizogoni eksoeritrositik, sporozoit masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina, kemudian menginfeksi sel parenkim hati dan sporozoit akan matang menjadi skizon. Setelah siklus eksoeritrositik, maka akan terjadi siklus eritrositik dimana skizon akan mengalami ruptur dan mengeluarkan merozoit yang dapat menginvasi ke aliran darah sehingga eritrosit akan terinfeksi dan merozoit berubah menjadi tropozoit. Tropozoit tersebut dapat mengalami tiga hal yaitu: 1) membentuk skizont dan kembali melakukan siklus eritrositik, 2) memasuki fase gametogoni, atau 3) menyebabkan perubahan permeabilitas eritrosit sehingga terjadi proses sitoaderens, sekuestrasi, dan *rosetting* yang pada akhirnya menimbulkan manifestasi klinis yaitu trias malaria (demam, anemia, hepatosplenomegali). Pemberian ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang berperan sebagai imunostimulan dapat memberikan respon imun non-spesifik sehingga dapat membantu menghambat patogenesis pada siklus skizogoni eritrositik pada penyakit malaria (Gambar 2.5).

2.6 Kerangka Konsep



Keterangan :



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

## 2.7 Hipotesis

Pada penelitian uji aktivitas antimalaria ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*, peneliti memiliki hipotesis sebagai berikut.

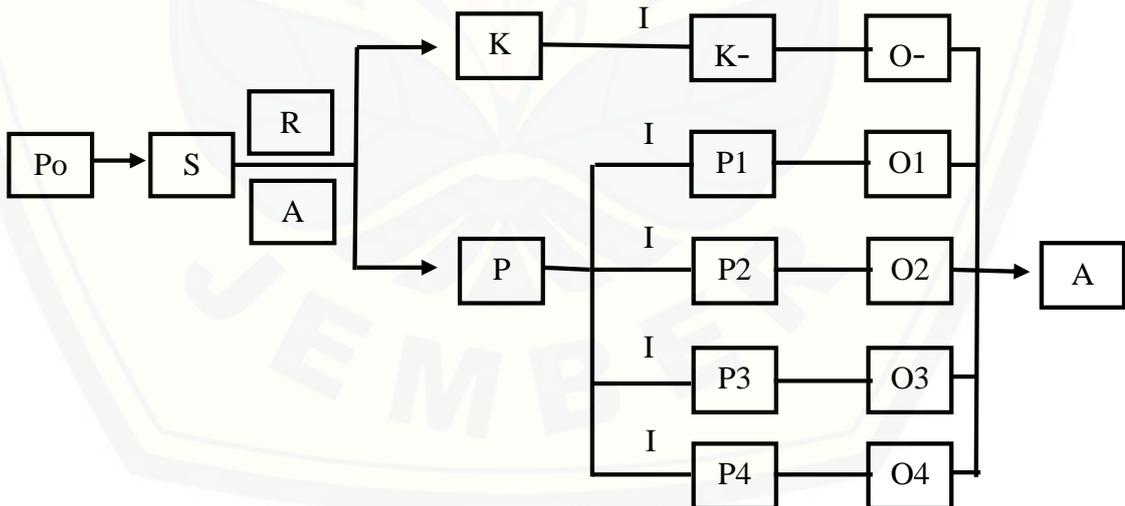
- a. Ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas sebagai antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*.
- b. Ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB memiliki derajat parasitemia dan persentase penghambatan yang berbeda terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *in vivo*.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratoris (*true experimental laboratories*). Peneliti dapat mengontrol semua variabel luar terkendali yang dapat mempengaruhi jalannya penelitian sehingga kualitas pelaksanaan rancangan penelitian (*validitas internal*) dapat menjadi tinggi. Ciri desain ini yaitu sampel yang digunakan dalam kelompok eksperimental maupun kelompok kontrol dipilih secara acak (*randomized*). Penggunaan desain *post test only control group design* dengan satu kelompok kontrol negatif dan empat kelompok eksperimental (Rachmadenawanti, 2015; Santoso, 2015).

#### 3.2 Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

Po : Populasi

S : Sampel yang digunakan yaitu 25 ekor mencit

R : 5 ekor mencit yang dipilih berdasarkan *simple random sampling*

A : Adaptasi selama 7 hari

K : Kelompok kontrol

P : Kelompok perlakuan

I : Induksi malaria dengan *P. berghei*

K(-) : Kelompok kontrol negatif, mencit diinfeksi *P. berghei* tanpa diberikan terapi ekstrak etanol rimpang bangle

P1 : Kelompok perlakuan 1, mencit diinfeksi *P. berghei* dan diberikan terapi ekstrak etanol rimpang bangle dosis 18,08 mg/20gramBB

P2 : Kelompok perlakuan 2, mencit diinfeksi *P. berghei* dan diberikan terapi ekstrak etanol rimpang bangle dosis 9,04 mg/20gramBB

P3 : Kelompok perlakuan 3, mencit diinfeksi *P. berghei* dan diberikan terapi ekstrak etanol rimpang bangle dosis 4,52 mg/20gramBB

P4 : Kelompok perlakuan 4, mencit diinfeksi *P. berghei* dan diberikan terapi ekstrak etanol rimpang bangle dosis 2,26 mg/20gramBB

O(-)(1)(2)(3)(4) : Observasi atau pengamatan derajat parasitemia dari mencit yang sudah terinfeksi *P. berghei* pada kelompok kontrol negatif serta kelompok perlakuan satu, dua, tiga, dan empat selama 5 hari dari H<sub>0</sub>-H<sub>4</sub>.

A : Analisis data

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur Balb/c dikarenakan strain ini dapat menimbulkan respon imunitas pada infeksi *P. berghei*.

### 3.3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini memiliki kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk membuat homogen pada sampel yang akan digunakan. Kriteria inklusi sampel penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Mencit (*Mus musculus*) Balb/c jantan
- b. Berat badan 20-25 gram
- c. Umur dua sampai tiga bulan

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

### 3.3.3 Jumlah Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan 5 kelompok penelitian yaitu 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol yang digunakan adalah kelompok kontrol negatif, sedangkan kelompok perlakuan yang digunakan berjumlah 4 kelompok yang disesuaikan dengan konsentrasi dosis ekstrak etanol rimpang bangle yang digunakan. Penghitungan jumlah sampel menggunakan rumus Federer dan didapatkan jumlah sampel sebagai berikut (Setiawan, 2010):

$$\begin{aligned} (t-1)(r-1) &\geq 15 \\ (5-1)(r-1) &\geq 15 \\ 4(r-1) &\geq 15 \\ 4r-4 &\geq 15 \\ 4r &\geq 19 \\ r &\geq 4,75 \text{ dibulatkan } 5 \end{aligned}$$

Keterangan:

t : Jumlah kelompok

r : Jumlah sampel dalam kelompok

Menurut penghitungan dengan menggunakan rumus Federer, besar sampel yang dibutuhkan minimal adalah 5 ekor mencit untuk setiap kelompok, sehingga total jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dengan menggunakan 5 kelompok penelitian yaitu sebanyak 25 ekor mencit.

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat, yaitu sebagai berikut.

1. Laboratorium Farmasetika dan Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember sebagai tempat pembuatan ekstraksi etanol rimpang bangle.
2. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai tempat pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada hewan coba.
3. Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai tempat pembuatan hapusan darah tepi dan pengamatan histopatologi derajat parasitemia pada hewan coba.

Waktu yang diperlukan dalam penelitian ini 3 bulan dengan rincian 2 bulan untuk persiapan dan pembuatan ekstrak etanol rimpang bangle pada bulan Mei-Juni 2016 dan 1 bulan untuk penelitian dan analisis data pada bulan November 2016.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis yang dibedakan menjadi empat dosis, yaitu 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26 mg/20gramBB

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah derajat parasitemia dan persentase penghambatan pertumbuhan *P. berghei* setelah diberikan ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai terapi antimalaria secara *in vivo* serta *Inhibitory Concentration of 50%* (IC50).

#### 3.5.3 Variabel Luar Terkendali dan Tidak Terkendali

Variabel luar terkontrol pada penelitian ini adalah umur berat badan hewan coba, jenis kelamin hewan coba, galur hewan coba, pemeliharaan hewan coba, lama perlakuan, dan jenis perlakuan. Variabel luar tidak terkontrol pada penelitian ini

adalah stress psikologis hewan coba akibat perlakuan yang diberikan dan stress imun karena setiap hewan coba memiliki ambang batas stress psikologis dan imun yang berbeda.

### 3.6 Definisi Operasional

#### 3.6.1 Uji Aktivitas Antimalaria

Aktivitas antimalaria diukur dengan cara menghitung persentase penghambatan terhadap *P. berghei* yang diolah dari perhitungan derajat parasitemia masing-masing sampel hewan uji yang terinfeksi *P. berghei* dari  $H_0$  sampai dengan  $H_4$  dengan pemberian terapi ekstrak etanol rimpang bangle selama empat hari yaitu dari  $H_0$  sampai dengan  $H_3$ .

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

Ekstraksi pada rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) menggunakan larutan etanol 96% dengan metode maserasi. Prosedur pengekstrakan rimpang bangle dilakukan dengan tahapan pencucian rimpang bangle, pemotongan, pengeringan selama satu minggu dan penghalusan (blender) sehingga di dapatkan serbuk rimpang bangle. Kemudian dilakukan maserasi serbuk rimpang bangle dengan etanol 96% pada suhu kamar dan disaring. Kemudian ampas diremaserasi kembali dengan etanol 96% pada suhu kamar dan disaring serta filtrat dikumpulkan. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak yang masih mengandung pelarut dalam volume yang kecil. Penguapan pelarut ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Padmasari *et al.*, 2013). Pemberian ekstrak bangle dibedakan menjadi empat dosis yaitu dosis 18,08 mg/20gramBB, dosis 9,04 mg/20gramBB, dosis 4,52 mg/20gramBB, dan dosis 2,26 mg/20gramBB.

### 3.6.3 Derajat Parasitemia

Derajat parasitemia adalah jumlah persentase eritrosit yang terinfeksi dalam 1000 eritrosit dihitung dengan bantuan mikroskop, kamera dan dihitung secara manual serta dinyatakan dalam bentuk persen (%). Penghitungan derajat parasitemia ini dilihat secara mikroskopis dengan sediaan hapusan darah tipis yang diwarnai dengan pewarnaan Giemsa. Derajat parasitemia dihitung sejak hari pertama masing-masing hewan uji terinfeksi *P. berghei*.

### 3.6.4 Persentase Penghambatan terhadap *Plasmodium*

Persentase penghambatan adalah kemampuan setiap dosis dari ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan *P. berghei* yang sudah diinfeksi pada mencit. Persentase penghambatan merupakan perbandingan rata-rata persentase pertumbuhan parasit sampai  $H_4$  terhadap rata-rata parasitemia  $H_0$ . Persentase hambatan dapat dihitung setelah menghitung persentase pertumbuhan. Persentase pertumbuhan parasit juga dianalisis dengan analisis probit untuk memperoleh nilai *Inhibitory Concentration of 50%* ( $IC_{50}$ )

### 3.6.5 *Inhibitory Concentration of 50%* ( $IC_{50}$ )

*Inhibitory Concentration of 50%* ( $IC_{50}$ ) adalah dosis obat tertentu atau bahan lainnya yang dibutuhkan untuk menghambat 50% proses biologis tertentu. Dalam menganalisis  $IC_{50}$  diperlukan syarat hasil data penelitian yang memiliki distribusi normal dengan diuji dengan uji normalitas dan memiliki hubungan yang signifikan dengan dilakukan uji korelasi. Bahan yang diuji dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dalam menghambat 50% pertumbuhan *P. berghei* sebagai terapi antimalaria secara *in vivo*. Satuan nilai  $IC_{50}$  yang digunakan adalah mg/20gramBB.

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan mencit, seperti kandang dan penutupnya, tempat makan, tempat minum, dan sonde (*sputit* yang dimodifikasi digunakan untuk memasukkan ekstrak etanol rimpang bangle secara peroral).
- b. Instrumen yang digunakan untuk menimbang adalah timbangan untuk menimbang mencit dan Neraca OHAUS untuk menimbang dosis ekstrak etanol rimpang bangle.
- c. Instrumen yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol rimpang bangle, yaitu blender atau penghalus rimpang bangle, *rotary evaporator*, saringan, *beaker glass* dan corong kaca.
- d. Tempat yang digunakan untuk penyimpanan ekstrak etanol rimpang bangle adalah lemari pendingin.
- e. Instrumen yang digunakan untuk *diff count* ekstrak etanol bangle, seperti gelas ukur, pengaduk, mikropipet, mikrotip, eppendorf, dan pipet.
- f. Instrumen yang digunakan untuk pengambilan sampel derajat parasitemia adalah objek glass, *cover glass*, dan gunting.
- g. Instrumen yang digunakan untuk pembedahan mencit adalah minorset, parafin, spuit 1 cc, dan tabung EDTA.
- h. Instrumen *safety* seperti *handsoone*, masker, dan jas laboratorium.

#### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian adalah sebagai berikut.

- a. Mencit jantan galur Balb/c berat badan 20-30 gram dan berumur 2-3 bulan.
- b. Bahan yang digunakan untuk pemeliharaan adalah pakan standar untuk mencit Balb/c (Turbo 521).
- c. Bahan yang digunakan untuk induksi malaria adalah *P. berghei* strain ANKA yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

- d. Bahan yang digunakan untuk perlakuan adalah ekstrak etanol rimpang bangle, pelarut *tween* 80%, dan aquades yang dibuat di Laboratorium Farmasetika dan Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- e. Bahan yang digunakan untuk pembuatan dan penggunaan hapusan adalah pewarna *giemsa*, metanol PA, minyak imersi, dan aquades.
- f. Bahan yang digunakan untuk pembedahan adalah kloroform, PBS, antikoagulan EDTA, dan medium *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI).

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Pemilihan Hewan Coba

Hewan coba berupa mencit (*Mus musculus*) jantan yang sehat. Usia hewan coba adalah 2-3 bulan dengan berat antara 20-25 gram. Dua puluh lima ekor mencit terbagi dalam lima kelompok yang diisi lima ekor mencit di setiap kelompok. Mencit yang dipilih harus memiliki tubuh yang sehat dan belum pernah diberikan perlakuan apapun serta berasal dari strain galur Balb/c.

#### 3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Mencit diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan, diberikan pakan standar Turbo 521 dan diberi air secara ad libitum. Dalam satu kandang dipelihara 5 ekor mencit dengan suhu kamar atau 20°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ). Pencahayaan ruangan diberikan secara artifisial dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Pada hari perlakuan, semua hewan uji ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal pada ekornya, 25 mencit dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor, yaitu sebagai berikut.

- a. Kelompok 1 : kontrol negatif, mencit yang akan diinduksi malaria tanpa diberikan terapi ekstrak etanol rimpang bangle.
- b. Kelompok 2 : mencit yang akan diinduksi malaria dan diberikan ekstrak etanol rimpang bangle dengan dosis 18,08 mg/20gramBB.
- c. Kelompok 3 : mencit yang akan diinduksi malaria dan diberikan ekstrak etanol rimpang bangle dengan dosis 9,04 mg/20gramBB.

- d. Kelompok 4 : mencit yang akan diinduksi malaria dan diberikan ekstrak etanol rimpang bangle dengan dosis 4,52 mg/20gramBB.
- e. Kelompok 5 : mencit yang akan diinduksi malaria dan diberikan ekstrak etanol rimpang bangle dengan dosis 2,26 mg/20gramBB

### 3.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Bangle

Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) didapatkan dari Sentra Tanaman Obat di Bande Alit, Jember. Rimpang bangle dicuci bersih kemudian dipotong-potong, diangin-anginkan, dan dikeringkan selama 7 hari. Setelah kering potongan tersebut dimasukkan ke dalam penggilingan untuk mendapatkan serbuk rimpang bangle. Dari rimpang bangle 55 kg didapatkan 7 kg simplisia kering. Dari 7 kg simplisia tersebut dilakukan pengolahan menjadi ekstrak etanol rimpang bangle sebanyak 2,7 kg simplisia kering. Pembuatan ekstrak rimpang bangle dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 2,7 kg simplisia kering dilakukan perendaman dan dari 900 gram simplisia rendeman yang dihasilkan selama 72 jam (tiga hari) didapatkan hasil sebesar 135 gram. Kemudian dilakukan maserasi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5 yang dikerjakan sebanyak tiga kali pengulangan maserasi dan didapatkan hasil 405 gram ekstrak kental rimpang bangle. Ekstrak yang dihasilkan disaring dengan corong *buchner* sehingga diperoleh filtrat. Residu dimaserasi ulang dengan cara yang sama sampai dirasa sudah habis. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental, dievaporasi menggunakan evaporator dengan suhu 50°C dan menghasilkan ekstrak kental rimpang bangle.

### 3.8.4 Penetapan Dosis Bangle

Penelitian Armiyanti et al. (2014) menyatakan dosis ekstrak bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang dapat diberikan pada mencit berat badan rata-rata 25 gram adalah 22,6 mg/25 gramBB. Sehingga dilakukan konversi dosis pada mencit 20 gram.

Dosis 1 ekstrak rimpang bangle:

$$\frac{20}{25} = \frac{x}{22.6}$$

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

atau yang setara dengan  
0,90 mg/gramBB

Dosis 2 ekstrak rimpang bangle:  $\frac{1}{2} \times 18,08 = 9,04 \text{ mg/20 gramBB}$

atau yang setara dengan 0,45  
mg/gramBB

Dosis 3 ekstrak rimpang bangle:  $\frac{1}{2} \times 9,04 = 4,52 \text{ mg/20 gramBB}$

atau yang setara dengan 0,22  
mg/gramBB

Dosis 4 ekstrak rimpang bangle:  $\frac{1}{2} \times 4,52 = 2,26 \text{ mg/20 gramBB}$

Atau yang setara dengan 0,11  
mg/gramBB

### 3.8.5 Tahap Perlakuan

#### a. Pembiakan *Plasmodium berghei* pada Mencit Donor

Kegiatan pembiakan *P. berghei* dilakukan dalam laminer (LAV). Isolat yang berisi darah hewan coba yang sudah terinfeksi *P. berghei* dari simpanan beku dicairkan dalam suhu ruangan. Isolat didapatkan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Isolat yang sudah cair disentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm 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 disentrifuge 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 $\mu$ L (0,2) ml secara intraperitoneal untuk digunakan sebagai mencit donor. Setiap hari dilakukan

pemeriksaan derajat parasitemia dengan pengambilan darah melalui ekor kurang lebih sekitar 0,5 cm dari mencit donor sampai persen parasitemia mencit donor mencapai  $\geq 10\%$ . Derajat parasitemia yang sudah mencapai  $\geq 10\%$  bagus apabila diinokulasikan pada mencit lain ataupun diambil darahnya, karena kemungkinan positif lebih besar. Mencit donor yang telah memiliki derajat parasitemia  $\geq 10\%$  tersebut kemudian diambil darahnya melalui intrakardial dan darah disimpan sebagai stok isolat dan diletakkan dalam lemari pendingin dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  (Rachmadenawanti, 2015; Santoso, 2015).

b. Induksi *Plasmodium berghei* pada Sampel Mencit

Pembiakan pada hewan coba disebut inokulasi. Inokulasi dilakukan pada hewan coba dengan cara injeksi intraperitoneal dengan syarat derajat parasitemia pada mencit donor mencapai  $\geq 10\%$ . Darah yang terinfeksi diambil dari mencit donor secara intrakardial sampai habis dengan jumlah kurang lebih 0,75 cc dengan menggunakan spuit 1 cc. Darah terinfeksi dimasukkan ke dalam tabung EDTA supaya tidak terjadi koagulasi. Darah dari EDTA diambil 10 $\mu\text{L}$  dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam *ependorf* pertama yang berisi PBS atau medium RPMI 990  $\mu\text{L}$  (pengenceran 100 kali). Campuran darah dan PBS di dalam *ependorf* disuspensikan kemudian diambil 10 $\mu\text{L}$  untuk dimasukan ke dalam *ependorf* kedua yang berisi PBS 990  $\mu\text{L}$  (pengenceran 10.000 kali). Campuran dalam *ependorf* 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 ditiap kotak. Jumlah eritrosit yang terlihat menentukan jumlah pengenceran yang dibutuhkan untuk inokulasi.

$$\text{Jumlah Pengenceran (A)} = \frac{\alpha \times \beta \times K1 \times \gamma}{K2}$$

Keterangan:

- $\alpha$  : jumlah eritrosit  
 $\beta$  : pengenceran yang digunakan ( $10^4$ )  
 $\gamma$  : derajat parasitemia mencit donor  
 K1 : konstanta ( $10^4$ )  
 K2 : konstanta ( $5 \times 10^6$ )

Volume campuran yang diinjeksikan untuk induksi ke setiap mencit coba adalah 0,2 ml sehingga darah mencit donor yang digunakan untuk induksi diperoleh dengan menghitung volume total campuran yang dibutuhkan sesuai jumlah mencit coba yang akan diinduksi dibagi dengan jumlah pengenceran (A).

$$\text{Volume darah mencit donor (P)} = \frac{a \times 0,2 \text{ ml}}{A}$$

Keterangan:

- a : jumlah hewan coba yang akan diinduksi  
 A : jumlah pengenceran

Setelah mengetahui jumlah darah yang diperlukan, jumlah RPMI yang digunakan untuk campuran darah yang akan digunakan untuk induksi diperoleh dengan menggunakan volume total campuran yang akan diinjeksikan (sesuai jumlah mencit coba) dikurangi dengan jumlah darah yang diperlukan. RPMI dan darah mencit donor dimasukkan ke dalam tabung *falcon* dan dicampur perlahan-lahan untuk menghindari hemolisis. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam *sprit* 1 cc dan diinjeksikan ke setiap mencit coba secara intraperitoneal sebanyak 0,2 ml (Rachmadenawanti, 2015; Santoso, 2015).

c. Pemberian Terapi Ekstrak Etanol Rimpang Bangle

Setelah induksi *P. Berghei* pada hewan coba telah selesai dan menunjukkan bahwa hewan coba positif malaria, pemberian ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dilakukan dengan dosis 18,08 mg/20gramBB, 9,04 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, dan 2,26

mg/20gramBB pada kelompok perlakuan. Pemberian perlakuan diberikan mulai H<sub>0</sub> sampai H<sub>3</sub> sehingga lama perlakuan selama 4 hari. Pada kelompok kontrol negatif tidak diberikan pemberian terapi ekstrak etanol rimpang bangle. Pemberian terapi disesuaikan dengan terapi standar malaria, sehingga pemberian terapi dilakukan selama 4 hari berdasarkan metode Peter yang dimodifikasi yaitu selama H<sub>0</sub> sampai dengan H<sub>3</sub>.

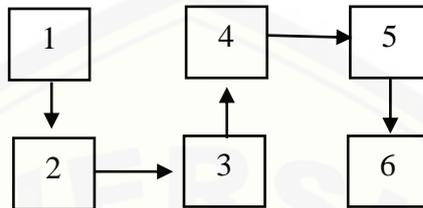
#### 3.8.6 Pembuatan Hapusan Darah Sediaan Tetes Darah Tipis

Pembuatan hapusan darah tepi dilakukan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Darah yang digunakan untuk membuat hapusan diambil dari ekor mencit atau supraorbita. Dalam penelitian ini hapusan darah dibuat dari 1 tetesan darah ekor mencit yang diletakkan di atas *object glass* kemudian diratakan dengan cover glass dengan metode *sliding*. Hapusan dibiarkan kering dan difiksasi dengan menggunakan metanol PA. Hapusan yang terfiksasi diwarnai dengan pewarnaan *Giemsa* yang telah diencerkan dengan PBS dengan perbandingan 1:8 dan ditetaskan di atas hapusan sampai menutupi seluruh hapusan. Pewarnaan ditunggu hingga kurang lebih 30 menit kemudian dibilas di air bersih.

#### 3.8.7 Pengamatan Histopatologi Derajat Parasitemia

Hapusan darah yang telah dibuat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali menggunakan minyak *emersi* yang ditetaskan di atas preparat. Jumlah parasit dihitung pada bagian *counting area* dengan susunan eritrositnya yang bagus dan tidak menumpuk. Sel darah merah normal berwarna ungu, sedangkan pada sel darah yang terinfeksi parasit berwarna merah dengan sitoplasma berwarna biru di sekitarnya dan terdapat gambaran *ring form* dalam eritrositnya. Perhitungan jumlah parasit dilakukan hingga mencapai 1000 eritrosit tidak bergantung pada jumlah lapang pandang yang dilihat. Derajat parasitemia dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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



Gambar 3.2 Lapang Pandang untuk Penghitungan Derajat Parasitemia

### 3.8.8 Perhitungan Persentase Penghambatan

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

Rumus Persentase Pertumbuhan :

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \% \text{ Parasitemia rata-rata } H_4 - \% \text{ Parasitemia rata-rata } H_0$$

Rumus Persentase Penghambatan :

$$\% \text{ Penghambatan} = 100 - \left( \frac{(XD_x)}{(XK(-))} \times 100\% \right)$$

Keterangan:

$H_4$  : Hari kelima setelah terinfeksi malaria atau 96 jam setelah terapi

$H_0$  : Hari pertama setelah positif terinfeksi malaria (empat hari setelah induksi *P. berghei*)

$XD_x$  : Rata-rata persentase pertumbuhan kelompok dosis perlakuan

$XK(-)$  : Rata-rata persentase pertumbuhan kelompok negatif

(Sumber: Nurmasari, 2013)

### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah derajat parasitemia dan persentase penghambatan terhadap pertumbuhan *P. berghei*. Data tersebut diuji normalitas dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk* dan dilakukan pengecekan asumsi linearitas dengan membuat grafik *scatter*. Dilanjutkan dengan uji korelasi menggunakan uji *Pearson*, kemudian dianalisis dengan analisis probit hingga dapat ditentukan nilai konsentrasi ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai terapi antimalaria secara *in vivo* yang dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* sebanyak 50% atau *Inhibitory Concentration of 50%* ( $IC_{50}$ ). Analisis probit juga digunakan untuk mengetahui aktivitas pemberian ekstrak etanol rimpang bangle pada masing-masing dosis. Hasil analisis tersebut disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan dalam bentuk narasi.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas antimalaria dengan menekan peningkatan pertumbuhan derajat parasitemia pada mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* secara *in vivo*.
- b. Pemberian terapi ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan dosis 2,26 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, 9,04mg/20gramBB, dan 18,08 mg/20gramBB memiliki perbedaan persentase penghambatan terhadap *Plasmodium berghei* dengan nilai persentase penghambatan tertinggi pada pemberian dosis 2,26 mg/20gramBB sebesar  $57,35 \pm 0,22\%$ .
- c. Ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) mempunyai aktivitas sebagai antiplasmodium dengan nilai  $IC_{50}$  pada konsentrasi 6,09 mg/20gramBB.

### 5.2 SARAN

Saran pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Perlu uji kandungan metabolik sekunder tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) pada penelitian yang akan dilakukan untuk menghindari bias biodiversitas.
- b. Perlu penelitian lanjutan mengenai uji toksisitas ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) untuk menentukan *Letal Dose of 50%* ( $LD_{50}$ ) dan agar dapat diketahui dosis yang aman.
- c. Perlu penelitian lanjutan mengenai uji klinik mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, dan efek samping dalam penggunaan ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sehingga dapat dipakai dalam praktek kedokteran dan pelayanan kesehatan formal (fitofarmaka).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, S. 2010. Faktor Risiko Kejadian Malaria di Desa Lubuk Nipis Kecamatan Tanjung Agung Kabupaten Muara Enim. *Tesis*. Semarang: Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
- Arias, K.M. 2010. *Investigasi Dan Pengendalian Wabah Di Fasilitas Pelayanan Kesehatan*. Jakarta: EGC.
- 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.
- Arini, P.S., W.S. Utami, dan E. Sulistyaningsih. 2014. Pengaruh Ekstrak Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Kadar TNF- $\alpha$  pada Mencit yang Diinfeksi Plasmodium berghei (The Effect of Bangle Extract (*Zingiber cassumunar* Roxb.) on TNF- $\alpha$  in mice infected with *Plasmodium berghei*). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 2(2): 230-234.
- Armiyanti, Y., W.S. Utami, dan L. Ameliana. 2014. Pengembangan Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Terstandar Menjadi Granul Efervesen sebagai Terapi Ajuvan Untuk Mencegah Komplikasi Pada Malaria. *UNEJ Digital Repository* [serial on line]. <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/57892>. [Diakses pada 8 juni 2015]
- Arsin, A.A. 2012. *Malaria Di Indonesia Tinjauan Aek Epidemiologi*. Makasar : Masegna Press .
- Bantie L., S. Assefa, T. Teklehaimanot, dan E. Engidawork. 2014. In Vivo Antimalarial Activity of the Crue Leaf Extract and Solvent Fractions of *Croton macrostachyus* Hocsh. (*Euphorbiaceae*) aggainst *P. berghei* in Mice. *BMC Complement Altern Med* 14:79.
- Baeti, D.N. 2010. Efek Terapi Kombinasi Klorokuin dan Serbuk *Lumbricus rubellus* Terhadap Ekspresi Gen ICAM-1 pada Mencit Swiss yang Diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. *Skripsi*. Solo: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

- Barzegar, A. 2012. The Role Of Electron-Transfer and H-Atom Donation on the Superb Antioxidant Activity and Free Radical Reaction of Curcumin. *Food Chem* 135: 1369–1376.
- Bhuiyan, M.N.I., J.U. Chowdhury, dan J. Begum. 2008. Volatile Constituents of Essential Oils Isolated from Leaf and Rhizome of *Zingiber cassumunar*. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 3: 69-73.
- Buffet, P.A., I. Safeukui, dan G. Dplaine. 2011. The Pathogenesis of *Plasmodium falciparum* Malaria in Human. *Journal of the American Society of Hematology* 117(2): 381-392.
- Center for Disease Control and Prevention. 2016. Malaria : Biology. *Center for Disease Control and Prevention* [serial on line]. <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>.
- 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.
- Chaniago, A. 2015. *Laporan Pencapaian Tujuan Pembangunan Milenium di Indonesia 2014*. Jakarta: Bappenas.
- Chanwitheesuk, A., A. Teerawutgulrag, dan N. Rakariyatham. 2005. Screening Of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds of Some Edible Plants of Thailand. *Food Chemistry* 92: 491-497.
- Chen Q., M. Schlichtherle, dan M.W. Clin. 2000. Molecular Aspects of Severe Malaria. *Clinical Microbiology Reviews* 13(3): 441 [serial on line]. <http://cmr.asm.org/content/13/3/439#ref-list-1>.
- Cholis, I. 2009. Aktivitas Antiplasmodium Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) terhadap *Plasmodium berghei* secara In Vivo. Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Chui L., dan J. Miao. 2007. Cytotoxic Effect of Curcumin on Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*: Inhibition of Histone Acetylation and Generation of Reactive Oxygen Species. *Journals.ASM.org*. [serial on line]. <http://aac.asm.org/content/51/2/488.fill.pdf+html>.

- Departemen Kesehatan RI. 2008a. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria Di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2008b. *Pelayanan Kefarmasian Untuk Penyakit Malaria*. Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian, dan Alat Kesehatan. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2012. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Direktorat Jenderal P2PL
- Departemen Kesehatan RI. 2013. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Direktorat Jenderal P2PL.
- Ferreira, J.F.S., L.L. Devanand, S. Tomikazu, dan H. Arne. 2010. Flavonoids from *Artemisia annua* L. As Antioxidants and Their Potential Synergism with Artemisinin against Malaria and Cancer. *Molecules* 15(5): 3135-3170.
- Ghosh, A., T. Banerjee, S. Bhandary, dan A. Surolia. 2014. Formulation of Nanotized Curcumin and Demonstration of Its Antimalarial Efficacy. *International Journal of Nanomedicine* 9: 5373-5387.
- Handoko, T. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi Empat*. Jakarta: Gaya Baru.
- Handayani, W., dan A.S. Haribowo. 2008. *Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Jakarta: Salemba Medika.
- Harijanto, P.N. 2014. Malaria. *Dalam : Ilmu Penyakit Dalam. (Edisi Keempat)*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hermansyah, B., W.S. Utami, E. Rachmadenawanti, Sarah, dan Y.E. Santoso. 2015. Bioaktivitas Senyawa Hasil Fraksi Ekstrak Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Terstandar (FEBT) Sebagai Terapi Komplementer Untuk Mencegah Komplikasi Pada Malaria. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* 1(2): 19-25.
- Iswantini, D., R.F. Silitonga, E. Martatilofa, dan Darusman. 2011. *Zingiber cassumunar, Guazuma ulmifolia, and Murray paniculata*. Extracts as Antiobesity: In Vivo Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *Hayati 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.
- Kakisina, P. dan A. Mahid. 2011. Efek Ekstrak metanol Kulit Batang Pohon Pule (*Alstonia scholaris*) terhadap Penurunan Parasitemia Mencit (*Mus musculus*) Terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA secara in vivo. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan* 4(1): 1979-6358.
- Kemendes RI. 2011. *Buletin Malaria: Epidemiologi Malaria di Indonesia*. Jakarta: *Jendela Data dan Informasi Kesehatan*. ISSN 2088-270X. Triwulan I, p 1-33.
- Laihad, F., P. Harijanto, dan J.R. Poespoprodjo. 2011. Epidemiologi Malaria di Indonesia. *Buletin Malaria Kemendes Republik Indonesia* 10: 1-3.
- Lusiana, H. 2009. Isolasi dan Uji Antiplasmodium secara *In Vitro* Senyawa Alkaloid dari *Albortisia papuana* Becc. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: IPB.
- Padmasari, P.D., K.W. Astuti, dan N.K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal*. Bali: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Paniker, M.D., dan C.K. Jayaram. 2013. *Paniker's Textbook of Medical Parasitology Seventh Edition*. Jaypee Brothers Medical Publisher (P) Ltd.
- Prabowo, A. 2008. *Mencegah dan Menangani Malaria*. Jakarta: Puspa Swara.
- Mimche, P.N., D. Taramelli, dan L. Vivas. 2011. The Plant Based Immunomodulator Curcumin as a Potential Candidate for the Development of an Adjunctive Therapy for Cerebral Malaria. *Malaria Journal* [serial on line]. <http://www.malariajournal.com/content/10/s1/s10> [Diakses pada 12 Juni 2015]
- 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 Mosestena Indians. *J Ethnopharmacol* 2000; 139-55.
- Muti'ah, R. 2012. Penyakit Malaria dan Mekanisme Kerja Obat-Obat Antimalaria. *Jurnal Kedokteran UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*. Vol 2(1): 80-91.

- Natadisastra, D., dan A. Ridad. 2009. *Parasitologi Kedokteran Ditinjau dari Organ Tubuh yang Diserang*. Jakarta: EGC.
- Natalia, D. 2014. Peranan Trombosit dalam Patogenesis Malaria. *MKA* 37(3).
- 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.
- Ngaliyatun, Widiyanti, dan Syaifudin. 2013. Uji Daya Infektivitas *Plasmodium berghei* Iradiasi pada Hati, Limpa Mencit Menggunakan Nested-PCR. *Unnes J Life Sci* 2(2): 111-117.
- Nurmasari, D.P. 2013. Peranan Ekstrak Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Produksi Nitric Oxide dan Malondialdehyde pada Mencit yang Diinfeksi Plasmodium berghei. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- 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.
- Raharjojo, L., dan Gunardi. 2009. Profil Kromatogram dan aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* *In Vitro*. *Medica Media Indonesiana* 43(4): 182-187.
- Santoso, Y.E. 2015. Uji Aktivitas Fraksi Metanol Ekstrak Metanol Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Terapi Komplementer Malaria secara *In Vivo*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Setiawan, R. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Penurunan Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Aloksan. Tidak Diterbitkan. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Soedarto. 2008. *Buku Parasitologi Klinik*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Soepomo. 2014. Ekstraksi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (burm.f.) Nees menggunakan Ekstraktor Soxhlet. *Pharmmaciana* 4(1): 85-92.
- Shi, Lynch, Romero, dan Burns. 2007. Enhanced Protection Against Malaria by Chimeric Merozoite Surface Protein Vaccine. *Infection and immunity* 75(3): 1349-1358.

- Sukewijaya, I.M., I.G.N.M.S. Putra, dan N.L.M. Pradhnyawathi. 2013. Identifikasi Tanaman Jahe-Jahean (Famili *Zingiberaceae*) di Bali yang dapat Dimasukkan sebagai Elemen dalam Desain Lanskap. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* 2(1): 2.
- Sundarim I. 2010. Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.). Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Suryawati, S., dan H. Suprapti. 2007. Efek Anti Malaria Ekstrak Brotowali (*Tinospora crispa*) pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Wijaya Kusuma* 1(1): 13-22.
- Sulistyaningsih E., L.E. Fitri, T. Loscher, dan N.B. Riha. 2010. Diagnostic Difficulties with Plasmodium knowlesi Infection in Humans. *Emerging Infectious Disease* 16(6): 1033-1034.
- Widoyono. 2011. *Penyakit Tropis: Epidemiologi, Penularan, Pencegahan & Pemberantasannya (Edisi Kedua)*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- World Health Organization. 2014. *World Malaria Report 2014*. Switzerland: WHO Press.
- Yusdar, Husein, Alam, dan Dwiwana. 2013. Bioaktofitas Minyak Atsiri Sereh (*Cymbopogon citratus* Stapf.) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Malassezia Furfur* Penyebab Panu Ptiriasis Versicolor. Tidak Diterbitkan. Tesis. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Yusuf, Y. 2014. Anti-Malarial Drug Resistance. *Majalah Kedokteran Hasanudin* 37(1): 64-69.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. PERSETUJUAN ETIK PENELITIAN

 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 : 1.153/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 ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP PLASMODIUM BERGHEI SECARA IN VIVO**

Nama Peneliti Utama : Ferry Fitriya Ayu Andika (NIM. 142010101019)  
*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  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK  


**LAMPIRAN B. SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN  
BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**



**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. ~~0062~~/UN25.19/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 xanthorrhizon* Steud. ; Family – Zingiberaceae; Vernacular name –; Bangle (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,  
Pembantu Dekan I,



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

Jember, 10 Agustus 2016

Ketua Laboratorium



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 ..... Berangkat dari .....

Pada tanggal ..... Pada tanggal .....

Mengetahui, Mengetahui,

.....


  
 CERTIFICATE NO : QMS/173

**LAMPIRAN D. PENGHITUNGAN DOSIS EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**

Dosis ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang digunakan untuk pengujian antimalaria *Plasmodium berghei* secara *in vivo* adalah dosis 2,26 mg/20gramBB, 4,52 mg/20gramBB, 9,04mg/20gramBB, dan 18,08 mg/20gramBB. Volume suspensi ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diberikan pada tiap hewan coba dengan berat 20-25 gram adalah 0,2 ml dengan konversi BB mencit sebesar 20 gram pada tiap dosisnya. Volume total suspensi ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang akan dibuat untuk setiap dosis pada setiap harinya adalah 1 ml untuk lima hewan coba setiap kelompok.

a) Dosis 18,08 mg/20gramBB

Dosis 18,08 mg/20gramBB yang diberikan kepada tiap hewan coba dibuat dengan cara menimbang dosis ekstrak etanol bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari perhitungan Penelitian Armiyanti et al. (2014) yang menyatakan dosis ekstrak bangle yang dapat diberikan pada mencit berat badan rata-rata 25 gram adalah 22,6 mg/25gramBB, sehingga dilakukan konversi dosis pada mencit 20 gram.

$$\frac{20}{25} = \frac{x}{22,6}$$

$$x = 18,08 \text{ mg/20 gramBB dalam 0.2 ml suspensi ekstrak etanol rimpang bangle}$$

Ekstrak etanol rimpang bangle yang dibutuhkan untuk membuat 1 ml suspensi tablet adalah sebagai berikut.

$$= \text{jumlah mencit kelompok dosis} \times 18,08 \text{ mg/20gramBB}$$

$$= 5 \times 18,08$$

$$= 90,4 \text{ mg}$$

Selanjutnya 90,4 mg ditambah dengan 0,1% *tween* 80 sebesar 0,8 µl (0,1% dari 0,8 ml) lalu ditambahkan aquades sampai volume 1 ml.

b) Dosis 9,04 mg/20gramBB

Dosis 9,04 mg/20gramBB yang diberikan kepada tiap hewan coba dibuat dengan cara menimbang dosis ekstrak etanol bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari perhitungan dosis 18,08 mg/20gramBB yang diturunkan  $\frac{1}{2}$  kali.

$$\begin{aligned}\text{Dosis 1 ekstrak rimpang bangle} &= \frac{1}{2} \times 18,08 \\ &= 9,04 \text{ mg/20 gramBB dalam 0,2 ml suspensi} \\ &\quad \text{ekstrak etanol rimpang bangle}\end{aligned}$$

Ekstrak etanol rimpang bangle yang dibutuhkan untuk membuat 1 ml suspensi tablet adalah sebagai berikut.

$$\begin{aligned}&= \text{jumlah mencit kelompok dosis} \times 9,04 \text{ mg/20gramBB} \\ &= 5 \times 9,04 \\ &= 45,2 \text{ mg}\end{aligned}$$

Selanjutnya 45,2 mg ditambah dengan 0,1% *tween* 80 sebesar 0,8  $\mu$ l (0,1% dari 0,8 ml) lalu ditambahkan aquades sampai volume 1 ml.

c) Dosis 4,52 mg/20gramBB

Dosis 4,52 mg/20gramBB yang diberikan kepada tiap hewan coba dibuat dengan cara menimbang dosis ekstrak etanol bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari perhitungan dosis 9,04 mg/20gramBB yang diturunkan  $\frac{1}{2}$  kali.

$$\begin{aligned}\text{Dosis 1 ekstrak rimpang bangle} &= \frac{1}{2} \times 9,04 \\ &= 4,52 \text{ mg/20 gramBB dalam 0,2 ml suspensi} \\ &\quad \text{ekstrak etanol rimpang bangle}\end{aligned}$$

Ekstrak etanol rimpang bangle yang dibutuhkan untuk membuat 1 ml suspensi tablet adalah sebagai berikut.

$$\begin{aligned}&= \text{jumlah mencit kelompok dosis} \times 4,52 \text{ mg/20gramBB} \\ &= 5 \times 4,52 \\ &= 22,6 \text{ mg}\end{aligned}$$

Selanjutnya 22,6 mg ditambah dengan 0,1% *tween* 80 sebesar 0,8  $\mu$ l (0,1% dari 0,8 ml) lalu ditambahkan aquades sampai volume 1 ml.

d) Dosis 2.26 mg/20gramBB

Dosis 2,26 mg/20gramBB yang diberikan kepada tiap hewan coba dibuat dengan cara menimbang dosis ekstrak etanol bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari perhitungan dosis 4,52 mg/20gramBB yang diturunkan  $\frac{1}{2}$  kali.

Dosis 1 ekstrak rimpang bangle =  $\frac{1}{2} \times 4,52$

= 2,26 mg/20 gramBB dalam 0,2 ml suspensi

ekstrak etanol rimpang bangle

Ekstrak etanol rimpang bangle yang dibutuhkan untuk membuat 1 ml suspensi tablet adalah sebagai berikut.

= jumlah mencit kelompok dosis x 2,26 mg/20gramBB

= 5 x 2,26

= 11,3 mg

Selanjutnya 11,3 mg ditambah dengan 0,1% *tween* 80 sebesar 0,8  $\mu$ l (0,1% dari 0,8 ml) lalu ditambahkan aquades sampai volume 1 ml.

## LAMPIRAN E. TABEL PENGHITUNGAN DERAJAT PARASITEMIA

H<sub>0</sub> SAMPAI H<sub>4</sub>

## E1. Tabel Derajat Parasitemia pada Kelompok Dosis 2,26 mg/20gramBB

Dosis 2,26 mg/20gramBB	Hewan Coba	Derajat Parasitemia (%)			Rata-Rata (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
H <sub>0</sub>	1	0,5	0,5	0,5	
	2	1	1	1	
	3	1	1	1	
	4	0,5	0,5	0,5	
	5	0,5	0,5	0,5	
	Rata-Rata	0,7	0,7	0,7	0,7
H <sub>1</sub>	1	0,6	0,5	0,6	
	2	2,1	2,2	2,1	
	3	2,1	2,1	2	
	4	0,8	0,6	0,8	
	5	0,9	0,8	1,2	
	Rata-Rata	1,3	1,24	1,34	1,29
H <sub>2</sub>	1	1,2	1,3	1	
	2	2,9	2,6	3,2	
	3	5,4	5,2	5,6	
	4	1,5	1,7	1,6	
	5	4	3,8	4	
	Rata-Rata	3	2,92	3,08	3
H <sub>3</sub>	1	0,5	0,4	0,5	
	2	2,5	2,3	2,7	
	3	1	1,1	0,8	
	4	1,7	2	1,7	
	5	4,4	4,3	4,7	
	Rata-Rata	2,02	2,02	2,08	2,04
H <sub>4</sub>	1	0,9	1	0,9	
	2	3,2	3,3	3,2	
	3	3,9	3,7	3,9	
	4	1,8	1,9	1,8	
	5	6,3	6,1	6,3	
	Rata-Rata	3,22	3,2	3,22	3,21

**E2. Tabel Derajat Parasitemia pada Kelompok Dosis 4,52 mg/20gramBB**

Dosis 4,52 mg/20gramBB	Hewan Coba	Derajat Parasitemia (%)			Rata-Rata (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
<b>H<sub>0</sub></b>	1	0,5	0,5	0,5	
	2	0,7	0,7	0,7	
	3	0,9	0,9	0,8	
	4	1,1	1,1	1,3	
	5	1,4	1,4	1,4	
	Rata-Rata	0,92	0,92	0,94	0,93
<b>H<sub>1</sub></b>	1	1,3	1,5	1,1	
	2	3,8	3,7	3,8	
	3	1,9	2,1	1,7	
	4	2,9	2,8	2,9	
	5	3	3,2	3,1	
	Rata-Rata	2,58	2,66	2,52	2,59
<b>H<sub>2</sub></b>	1	2,4	2,4	2,5	
	2	4	3,7	4,1	
	3	3,1	3,3	2,9	
	4	2,7	2,9	2,5	
	5	5,3	5,4	5,3	
	Rata-Rata	3,5	3,54	3,46	3,5
<b>H<sub>3</sub></b>	1	4,2	3,6	4,6	
	2	5,1	5	4,8	
	3	6,8	6,6	5,7	
	4	4,7	4,9	4,5	
	5	4,8	4,8	4,6	
	Rata-Rata	5,12	4,98	4,84	4,98
<b>H<sub>4</sub></b>	1	3,3	3,1	3,7	
	2	5,7	5,6	5,5	
	3	3,2	3,4	3,4	
	4	2,5	2,5	2,4	
	5	3	3,2	3	
	Rata-Rata	3,54	3,56	3,6	3,57

**E3. Tabel Derajat Parasitemia pada Kelompok Dosis 9,04 mg/20gramBB**

Dosis 9,04 mg/20gramBB	Hewan Coba	Derajat Parasitemia (%)			Rata-Rata (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
<b>H<sub>0</sub></b>	1	1	1	1	
	2	1,5	1,5	1,5	
	3	0,6	0,6	0,8	
	4	1,9	1,9	1,7	
	5	0,9	0,9	0,9	
	Rata-Rata	1,18	1,18	1,18	1,18
<b>H<sub>1</sub></b>	1	2,1	1,9	2,1	
	2	1,9	1,7	1,9	
	3	1	1	1	
	4	2,2	2,4	2	
	5	2,3	2,1	2,5	
	Rata-Rata	1,9	1,82	1,9	1,87
<b>H<sub>2</sub></b>	1	2,3	2,2	2,1	
	2	3	3,3	2,9	
	3	1,6	1,4	1,8	
	4	3,2	3	3,4	
	5	4,9	4,7	5	
	Rata-Rata	3	2,92	3,04	2,99
<b>H<sub>3</sub></b>	1	2,6	2,8	2,5	
	2	3,2	3	3,2	
	3	2	2	1,9	
	4	4,6	4,8	4,4	
	5	6,5	6,3	6,7	
	Rata-Rata	3,78	3,78	3,74	3,77
<b>H<sub>4</sub></b>	1	3,6	3,7	3,6	
	2	4	4,3	3,8	
	3	2,2	2	2,3	
	4	5,7	5,7	6	
	5	6,3	6,5	6,2	
	Rata-Rata	4,36	4,44	4,38	4,39

**E4. Tabel Derajat Parasitemia pada Kelompok Dosis 18,08 mg/20gramBB**

Dosis 18,08 mg/20gramBB	Hewan Coba	Derajat Parasitemia (%)			Rata-Rata (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
<b>H<sub>0</sub></b>	1	1	1	0,9	
	2	0,8	0,8	0,7	
	3	1,8	1,8	1,8	
	4	1,7	1,7	1,8	
	5	0,8	0,8	0,8	
	Rata-Rata	1,22	1,22	1,2	1,21
<b>H<sub>1</sub></b>	1	2,6	2,7	2,6	
	2	2,3	2	2,2	
	3	3,8	4,6	3,6	
	4	1,9	1,6	1,8	
	5	2	2,1	2	
	Rata-Rata	2,52	2,6	2,44	2,52
<b>H<sub>2</sub></b>	1	3	2,9	2,7	
	2	2,9	3	2,7	
	3	4,6	4,1	4,6	
	4	2,4	2,7	2	
	5	3	2,9	2,8	
	Rata-Rata	3,18	3,12	2,96	3,09
<b>H<sub>3</sub></b>	1	4,1	4,3	4,2	
	2	5,6	5,9	5,3	
	3	4,3	4	4,6	
	4	2,6	2,7	2,8	
	5	3,2	3,4	3,3	
	Rata-Rata	3,96	4,06	4,04	4,02
<b>H<sub>4</sub></b>	1	4,5	4,5	4,4	
	2	6	6,2	6	
	3	4,8	4,6	4,8	
	4	3,4	3,6	3,2	
	5	5	4,9	5,1	
	Rata-Rata	4,74	4,76	4,07	4,52

**E5. Tabel Derajat Parasitemia pada Kelompok Kontrol Negatif**

Kontrol Negatif	Hewan Coba	Derajat Parasitemia (%)			Rata-Rata (%)
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
	1	1,7	1,7	1,9	
	2	0,8	0,8	1	
	3	1,9	1,9	1,7	
	4	1,2	1,2	1,4	
	5	1,7	1,7	1,9	
	Rata-Rata	1,46	1,46	1,58	
<b>H<sub>1</sub></b>	1	1,7	1,6	1,9	
	2	0,9	0,8	1,1	
	3	3,1	3,4	2,8	
	4	1,7	1,5	1,9	
	5	1,7	1,5	1,9	
	Rata-Rata	1,82	1,76	1,92	
<b>H<sub>2</sub></b>	1	3,3	2,8	3,6	
	2	2,6	2,6	2,9	
	3	3,3	3,6	3	
	4	3,1	2,8	3,4	
	5	1,9	1,7	2,1	
	Rata-Rata	2,84	2,7	3	
<b>H<sub>3</sub></b>	1	6	5,3	6,6	
	2	3,6	3,6	3,9	
	3	6,1	6,6	5,7	
	4	4	3,5	4,6	
	5	4,5	4,1	4,8	
	Rata-Rata	4,84	4,62	5,12	
<b>H<sub>4</sub></b>	1	6,8	6,9	7,2	
	2	8,9	9,1	9,3	
	3	7,8	7,7	7,4	
	4	5,5	5,7	5,8	
	5	7,6	7,3	7,9	
	Rata-Rata	7,32	7,34	7,52	

## LAMPIRAN F. TABEL PERSENTASE PENGHAMBATAN

Kelompok	Persentase Penghambatan (%)			Rata-Rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
<b>2,26 mg/20gramBB</b>	39,93	39,80	41,08	40,27
<b>4,52 mg/20gramBB</b>	45,73	44,56	46,13	45,47
<b>9,04 mg/20gramBB</b>	55,29	55,10	55,22	55,20
<b>18,08 mg/20gramBB</b>	55,99	57,48	57,58	57,01
<b>K(-)</b>	0	0	0	0

**LAMPIRAN G. HASIL ANALISIS STATISTIK**

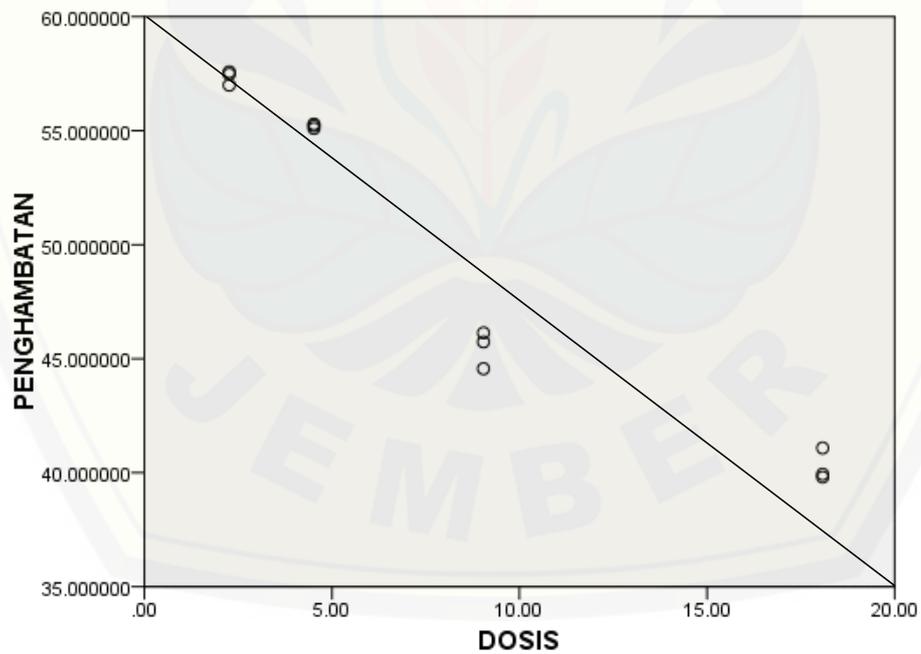
**G.1 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-wilk***

**Tests of Normality**

dosis	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
penghambatan 18.08	.352	3	.	.825	3	.176
9.04	.291	3	.	.924	3	.468
4.52	.235	3	.	.978	3	.713
2.26	.326	3	.	.874	3	.307

a. Lilliefors Significance Correction

**G.2 Grafik Scatter**



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

		DOSIS	PENGHAMBATAN
DOSIS	Pearson Correlation	1	-.956**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	12	12
PENGHAMBATAN	Pearson Correlation	-.956**	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		
		95% Confidence Limits for DOSIS		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	214112.938	9943.657	354760454.6
	.020	62794.178	4173.007	43607310.28
	.030	28835.227	2404.860	11536079.34
	.040	16056.917	1588.397	4243232.881
	.050	9973.332	1133.394	1881190.957
	.060	6649.705	850.301	941449.778
	.070	4660.704	660.842	513146.027
	.080	3390.383	527.274	298055.606
	.090	2538.393	429.355	181866.818
	.100	1944.738	355.347	115425.527
	.150	645.419	162.170	17591.418
	.200	268.616	86.755	3952.639
	.250	126.624	50.584	1101.073
	.300	64.448	31.030	350.903
	.350	34.468	19.582	122.529
	.400	19.033	12.453	45.870
	.450	10.715	7.702	18.499
	.500	6.087	4.233	8.583
	.550	3.458	1.906	4.859
	.600	1.947	.761	3.038
	.650	1.075	.284	1.939
	.700	.575	.099	1.225
	.750	.293	.032	.752
	.800	.138	.009	.439
	.850	.057	.002	.235
	.900	.019	.000	.107
	.910	.015	.000	.089
	.920	.011	.000	.072
	.930	.008	.000	.058
	.940	.006	.000	.045
	.950	.004	.000	.034
	.960	.002	.000	.024
	.970	.001	.000	.016
	.980	.001	.000	.009
	.990	.000	.000	.004

$IC_{50} = 6,09$   
 mg/20gramBB  
*Lower Bound* = 4,23  
 mg/20gramBB  
*Upper bound* = 8,59  
 mg/20gramBB

a. Logarithm base = 10.

**LAMPIRAN H. DOKUMENTASI PENELITIAN**

**H.1 PROSES PENGERINGAN RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**



**H.2 PROSES EKSTRAKSI EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**



**H.3 EKSTRAK ETANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**



**H.4 KELOMPOK PENELITIAN**



**H.5 PEMBEDAHAN DAN PENGAMBILAN DARAH SECARA  
INTRAKARDIAL PADA MENCIT DONOR**



**H.6 INJEKSI MALARIA SECARA INTRAPERITONEAL PADA HEWAN  
COBA**



**H.7 PEMBERIAN TERAPI SECARA PER ORAL**



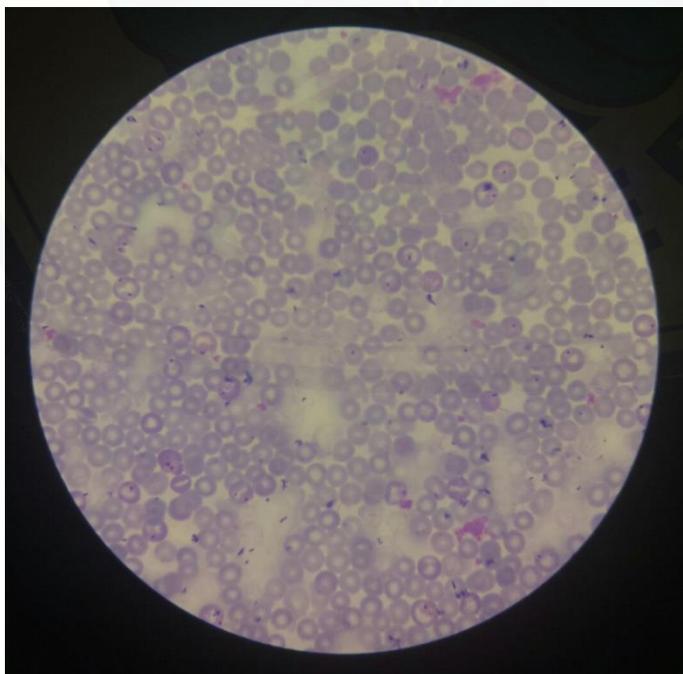
**H.8 PREPARAT HAPUSAN DARAH TIPIS**

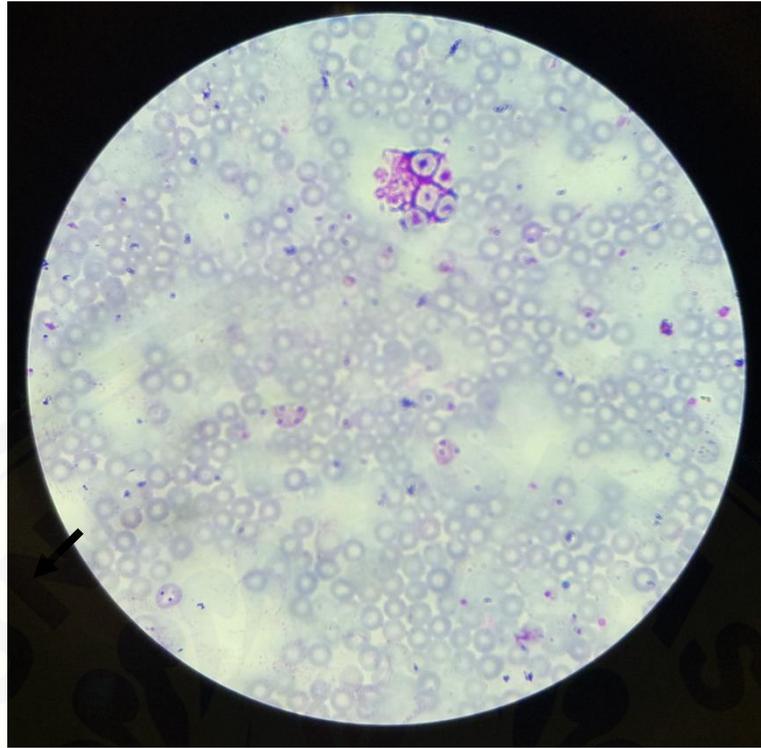


**H.9 TERMINASI HEWAN COBA**

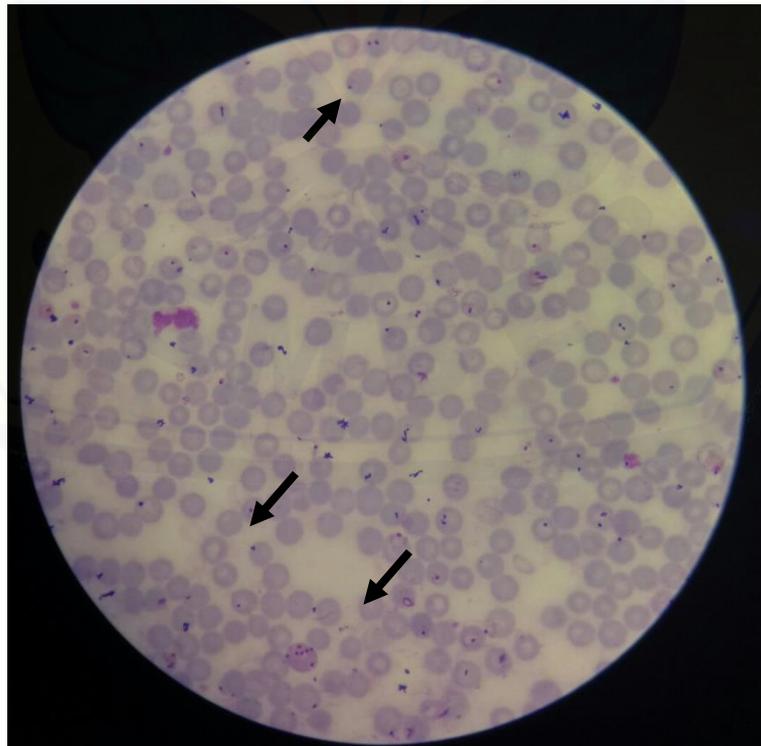


**H.10 HASIL PENGAMATAN MIKROSKOP**

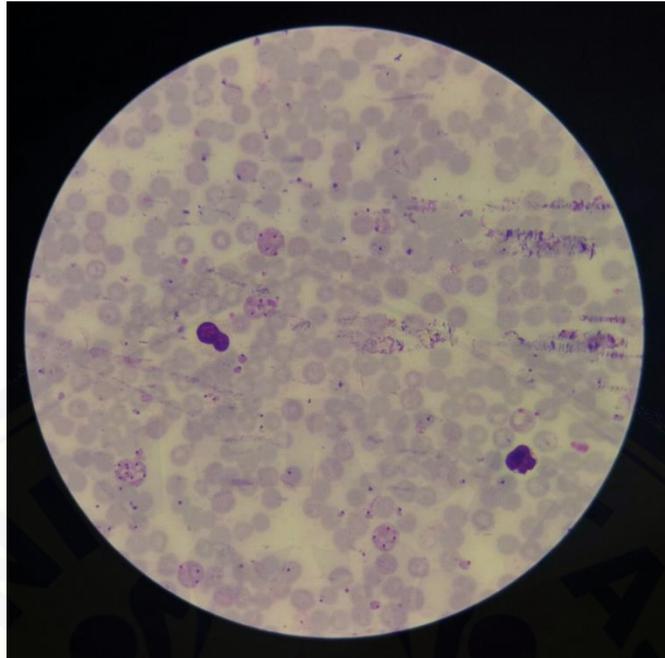




***DOUBLE INFECTION* MALARIA PADA SATU ERITROSIT**



**BENTUK RING FORM (TROPHOZOIT) MALARIA PADA ERITROSIT**



**BENTUK SKIZON MALARIA PADA ERITROSIT**

