



Bioaktivitas Ekstrak Metanol Alga Merah (*Gracilaria* sp.) sebagai Antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* Strain 3D7 secara In Vitro

Ihya Khoiril Ummah Masri¹, Endah Setyaningrum^{1*}, Dzul F. Mumtazah¹,
G Nugroho Susanto¹

¹Universitas Lampung

*e-mail korespondensi: endah.setianingrum@fmipa.unila.ac.id

ABSTRACT

Malaria remains a major global health challenge due to the increasing resistance to antimalarial drugs. One potential alternative approach is the utilization of natural products, such as the red algae Gracilaria sp., which contains secondary metabolites with potential antimalarial activity. This study aimed to identify the secondary metabolites and evaluate the antimalarial activity of the methanolic extract of Gracilaria sp. The study was conducted using an experimental design with a completely randomized design approach through an in vitro assay against Plasmodium falciparum strain 3D7 at the ring stage with an initial parasitemia of approximately 1%. The assay was performed at concentrations of 0.01–100 µg/mL in duplicate, with a negative control (dimethyl sulfoxide, DMSO) and a positive control (standard antimalarial drug). Cultures were incubated for 48 hours at 37°C and subsequently examined using Giemsa staining. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by the least significant difference (LSD) test, and probit analysis was applied to determine the 50% inhibitory concentration (IC₅₀). Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, and steroids. The IC₅₀ value of 2.00 µg/mL indicates that the methanolic extract of Gracilaria sp. exhibits highly active antimalarial activity against Plasmodium falciparum.

Keyword : Malaria, *Gracilaria* sp, Antimalaria, Metanol

ABSTRAK

Penyakit malaria masih menjadi tantangan kesehatan global akibat meningkatnya resistensi obat antimalaria. Salah satu alternatif yang dapat dikembangkan adalah pemanfaatan bahan alam, seperti alga merah Gracilaria sp. yang mengandung metabolit sekunder berpotensi sebagai antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder serta menguji bioaktivitas ekstrak metanol Gracilaria sp. sebagai antimalaria. Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan pendekatan Rancangan Acak Lengkap melalui uji in vitro terhadap Plasmodium falciparum strain 3D7 pada stadium ring dengan parasitemia awal ±1%. Uji dilakukan pada konsentrasi 0,01–100 µg/mL secara duplikat, dengan kontrol negatif (DMSO) dan kontrol positif (obat antimalaria standar). Kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati menggunakan pewarnaan Giemsa. Data dianalisis menggunakan analysis of variance (ANOVA) dan uji lanjut least significant difference (LSD), serta analisis probit untuk menentukan nilai inhibitory concentration 50% (IC₅₀). Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan steroid. Nilai IC₅₀ sebesar 2,00 µg/mL menunjukkan bahwa ekstrak metanol Gracilaria sp. memiliki aktivitas antimalaria yang tergolong sangat aktif terhadap Plasmodium falciparum.

Kata Kunci : Malaria, *Gracilaria* sp, Antimalaria, Metanol



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Pada tahun 2019 hingga 2021, kasus malaria di Indonesia menunjukkan tren peningkatan. Berdasarkan laporan World Health Organization (2022), Indonesia termasuk salah satu negara dengan beban malaria tertinggi di kawasan Asia, dengan konsentrasi kasus terbesar berada di wilayah timur, khususnya di Provinsi Papua, Papua Barat, Nusa Tenggara Timur, dan Maluku, yang masih mencatat kasus kematian akibat malaria (Kementerian Kesehatan, 2022). Di tingkat lokal, selama periode 2020–2022, Kota Bandar Lampung mencatat peningkatan kasus malaria dengan jumlah masing-masing 160, 196, dan 277 kasus (BPS, 2022; Yudho *et al.*, 2019). Secara kumulatif, dalam tiga tahun terakhir tercatat sebanyak 428 kasus, menjadikan wilayah ini sebagai salah satu daerah dengan beban kasus malaria yang signifikan.

Timbulnya resistensi terhadap obat antimalaria merupakan salah satu faktor peningkatan penyakit malaria. Dilaporkan bahwa terjadi peningkatan kejadian resistensi terhadap obat antimalaria lini pertama, seperti klorokuin dan sulfadoksin-pirimetamin, dengan angka sekitar 25% yang merujuk pada peningkatan kegagalan terapi pada beberapa wilayah endemis dalam periode pengamatan tertentu (Alkandahri & Subarnas, 2017). Kondisi ini menyebabkan efektivitas obat-obatan tersebut semakin menurun. Pada tahun 1973, resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin pertama kali dilaporkan di Nias, diikuti oleh *Plasmodium vivax* pada tahun 1991. Sejak tahun 1990, kasus resistensi tersebut terus meluas ke berbagai provinsi di Indonesia. Beberapa daerah juga dilaporkan mengalami resistensi terhadap sulfadoksin-pirimetamin (SP) (Marhamah & Husna, 2019).

Resistensi terhadap obat malaria dapat diatasi dengan memanfaatkan bahan alami yang memiliki potensi antimalaria, sehingga dapat dikembangkan sebagai alternatif terapi yang efektif dan aman. Obat antimalaria saat ini banyak dikembangkan dari sumber alami, baik tumbuhan terestrial maupun akuatik seperti rumput laut. Sebagai organisme akuatik yang tumbuh luas di perairan Indonesia, rumput laut, khususnya *Gracilaria* sp., memiliki potensi sebagai agen antimalaria. Penelitian oleh Awalia (2017) menunjukkan bahwa *Gracilaria* sp. mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan terpenoid yang berperan dalam mengintervensi siklus hidup *Plasmodium* sp. Selain itu, beberapa studi melaporkan bahwa ekstrak makroalga menunjukkan aktivitas antiplasmodial terhadap *Plasmodium falciparum*, yang mengindikasikan potensi nyata rumput laut sebagai sumber senyawa antimalaria alami.

METODE

Penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap yang digunakan untuk mengeksplorasi efek dan berbagai konsentrasi ekstrak metanol dari alga merah *Gracilaria* sp. (100, 50, 10, 1, 0,01, dan 0 µg/mL) terhadap stadium ring *Plasmodium Falciparum* strain 3D7

Waktu dan Tempat

Pengambilan sampel rumput laut *Gracilaria* sp. di Desa Wanasaya Serang, Banten, Jawa Barat. Ekstraksi menggunakan pelarut metanol serta uji fitokimia terhadap *Gracilaria* sp. dilakukan di

Laboratorium Botani, Departemen Biologi, FMIPA Universitas Lampung. Pengujian antimalaria dilakukan di Lembaga Penyakit Tropis (*Tropical Disease Diagnostic Center*), Universitas Airlangga, Surabaya.

Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini, digunakan berbagai peralatan seperti nampan, neraca, tabung reaksi, rak tabung, Erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, spatula, oven, corong gelas, *hot plate*, *rotary evaporator*, dan mikro pipet.

Adapun bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga merah *Gracilaria* sp. Untuk bahan lainnya yang digunakan untuk ekstraksi dan uji fitokimia meliputi kertas saring, plastik wrap, HCl pekat (Merck, Germany), NaOH (Merck, Germany), H₂SO₄ (Merck, Germany), kloroform (Brataco, Indonesia), FeCl₃ (Merck, Germany), aquades, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, dan pereaksi Dragendorf. Bahan yang digunakan untuk uji antimalaria meliputi Dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Germany), gas O₂ 5%, gas CO₂ 5%, gas N₂ 90%, giemsa, plasma dan eritrosit manusia (Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga), dan minyak emersi.

Reparasi Sampel Alga Merah *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. segar diambil dari tempat budidaya desa Wanasaya, Kec. Pontang, Kab. Serang, Prov. Banten. *Gracilaria* sp. kemudian disimpan dalam wadah yang tertutup rapat. Proses persiapan ganggang merah *Gracilaria* sp. Pencucian dengan air mengalir dilakukan dalam proses ini untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran dan bakteri yang mungkin terdapat pada alga. Sampel kemudian dikeringkan di udara terbuka pada suhu sekitar 25°C selama 3 hari atau hingga benar-benar kering di rumah kaca Laboratorium Botani, FMIPA, Unila. Pengeringan kemudian dilakukan menggunakan oven pada suhu 40°C selama sekitar 72 jam. Alga merah *Gracilaria* sp. yang telah dikeringkan kemudian digiling menggunakan blender hingga menjadi bubuk dan disimpan pada wadah tertutup (Hanifa *et al.*, 2021).

Ekstraksi Sampel Alga Merah *Gracilaria* sp. dengan Pelarut Metanol

Simplisia *Gracilaria* sp. diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sebanyak 200 gram bubuk simplisia yang telah dihaluskan ditimbang dan ditempatkan dalam gelas beaker. Proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10, sampel 200 gram dilarutkan dengan 2 L metanol. Maserasi dilakukan selama tiga hari (3×24 jam) pada suhu ruang disertai pengadukan secara berkala. Filtrat yang diperoleh dari penyaringan dengan kertas saring kemudian dievaporasi menggunakan alat evaporator hingga menghasilkan ekstrak pekat (Soamole *et al.*, 2018).

Uji Bebas Metanol

Pengujian terhadap kandungan pelarut, seperti metanol, dilakukan terlebih dahulu sebelum memulai uji aktivitas antimalaria guna memastikan bahwa ekstrak *Gracilaria* sp. tidak mengandung residu metanol. Proses pengujian dilakukan melalui penambahan satu tetes ekstrak ke larutan asam sulfat pekat sebanyak satu tetes, diikuti penambahan satu tetes larutan kalium permanganat (KMnO₄) pekat, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Setelah itu, larutan pekat natrium tiosulfat (Na₂S₂O₃) dimasukkan ke dalam campuran

secara bertahap. Ketiadaan perubahan warna pada larutan permanganat (coklat) menunjukkan bahwa residu metanol tidak terdeteksi secara kualitatif dalam sampel. (Pakaya *et al.*, 2023).

Uji Fitokimia Sampel Alga Merah *Gracilaria* sp.

Skrining fitokimia ekstrak metanol *Gracilaria* sp. melibatkan analisis uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin, dan terpenoid dengan metode pendekatan sistematis yang diuraikan oleh Harbone (1996).

Pengujian Antimalaria

Penelitian ini menggunakan konsentrasi uji sebesar 0,01 µg/mL, 0,1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL, 50 µg/mL, dan 100 µg/mL. Untuk memperoleh konsentrasi tersebut, dibuat larutan stok dengan konsentrasi 10.000 µg/mL, yang dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak metanol *Gracilaria* sp. ke dalam 1.000 µL DMSO 100%. Selanjutnya, dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan pelarut DMSO 50% untuk memperoleh berbagai konsentrasi yang dibutuhkan dalam pengujian.

Strain 3D7 dari *Plasmodium falciparum*, yang bersifat sangat sensitif terhadap klorokuin, digunakan dalam uji aktivitas antimalaria pada penelitian ini. Parasit yang digunakan pada uji ini dibiakkan menurut metode Trager dan Jansen (1976) dengan metode *candle jar* yang menggunakan lilin ditempatkan dalam wadah tertutup, kemudian api dinyalakan dan dibiarkan padam dengan sendirinya, proses ini akan menghasilkan suasana dengan kadar oksigen rendah seperti di dalam sel darah merah selanjutnya disinkronisasi dengan sorbitol 5% sehingga parasite berada pada stadium ring dengan tingkat parasitemia ±1%.

Pengujian aktivitas antimalaria dilakukan menurut Lestari *et al.* (2023). Sebanyak 2 µL ekstrak metanol alga merah *Gracilaria* sp. dimasukkan ke dalam *microwell*, kemudian ditambahkan 198 µL suspensi parasit ke masing-masing well uji. Setiap konsentrasi diuji dalam duplikat teknis. Penelitian ini menggunakan kontrol negatif, sedangkan kontrol positif berupa obat antimalaria standar tidak digunakan. Oleh karena itu, hasil pengujian ini bersifat pendahuluan dalam mengevaluasi potensi bioaktivitas ekstrak terhadap parasit. Well uji kemudian diinkubasi dalam chamber dengan campuran gas (5% O₂, 5% CO₂, dan 90% N₂) selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, dilakukan pembuatan apusan darah tipis yang diwarnai menggunakan Giemsa 20%. Sampel darah yang telah disiapkan diamati di bawah mikroskop, dan jumlah eritrosit yang terinfeksi dihitung per 1.000 eritrosit normal. Data tersebut kemudian dimanfaatkan untuk menghitung persentase pertumbuhan serta persentase penghambatan. Perhitungan persentase parasitemia, pertumbuhan, dan penghambatan dilakukan menggunakan rumus berikut:

Persentase Parasitemia (% parasitemia)

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\sum \text{Eritrosit Terinfeksi}}{1000 \text{ Eritrosit Normal}} \times 100\%$$

Persentase Pertumbuhan (% pertumbuhan)

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \% \text{ Parasitemia} - \text{D0}$$

Keterangan: DO = % pertumbuhan pada jam ke-0

Persentase Penghambatan

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

Keterangan: X_u = % pertumbuhan pada sampel uji

X_k = % pertumbuhan pada kontrol negatif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Bebas Metanol

Uji bebas metanol dimaksudkan untuk memverifikasi bahwa ekstrak kental yang diperoleh telah terbebas dari metanol.

Tabel 1. Hasil Uji Bebas Metanol *Gracilaria* sp.

Metode	Hasil
Ekstrak metanol <i>Gracilaria</i> sp. + asam sulfat + $KmnO_4$ + $Na_2S_2O_3$	Tidak ada perubahan warna menjadi warna coklat, sampel bebas dari metanol

Uji Fitokimia

Hasil analisis fitokimia mengindikasikan bahwa ekstrak metanol dari alga merah *Gracilaria* sp. mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, fenol, dan steroid. Berikut adalah rincian data hasil analisis fitokimia untuk ekstrak metanol *Gracilaria* sp. dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia ekstrak metanol *Gracilaria* sp.

Senyawa Kimia	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	+	Terbentuk warna jingga
	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
	Bouchardat	+	Terbentuk warna jingga dan terbentuk endapan coklat kehitaman
Flavonoid	Mg + HCL pekat	+	Terbentuk warna kuning
Tanin	$FeCl_3$	+	Terbentuk warna hijau
Saponin	Aquades	+	Terbentuk busa
Steroid	H_2SO_4 + asam asetat anhidrat	+	Terbentuk warna hijau
Terpenoid	H_2SO_4 + asam asetat anhidrat	-	Tidak terbentuk warna merah

Keterangan : (+) Terdeteksi; (-) Tidak terdeteksi

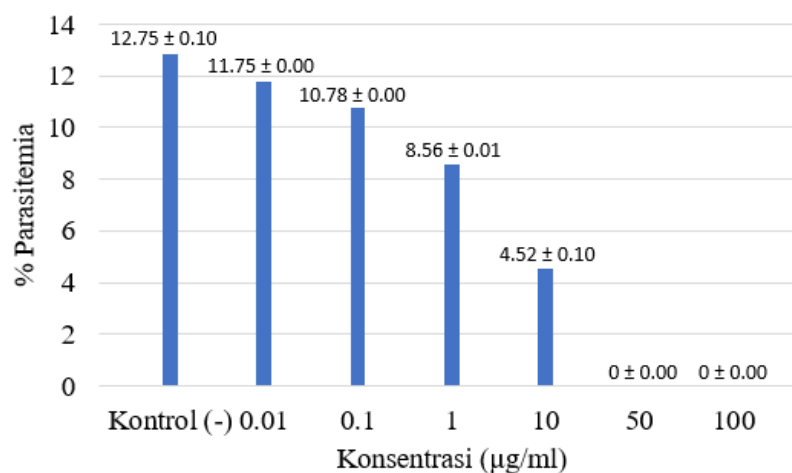
Hasil analisis uji fitokimia ekstrak metanol *Gracilaria* sp. menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid, sedangkan terpenoid tidak terdeteksi. Temuan tersebut selaras dengan penelitian Insani *et al.* (2022), yang melaporkan bahwa ekstrak *Gracilaria* sp. dengan pelarut metanol mengandung senyawa bioaktif seperti fenol hidrokinon, saponin, dan steroid, tetapi tidak mendeteksi alkaloid, flavonoid,

maupun tanin. Penelitian oleh Widodo *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria verrucosa* mengandung saponin, triterpenoid, flavonoid, dan steroid, tetapi tidak terdeteksi alkaloid atau tanin. Selain itu, Siregar (2012) menjelaskan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria sp.* mengandung steroid dan alkaloid.

Uji Bioaktivitas Antimalaria

Hasil uji aktivitas antimalaria yang dilakukan dengan ekstrak metanol *Gracilaria sp.* menunjukkan hasil yang efektif terhadap persentase parasitemia, pertumbuhan, dan persentase penghambatan, dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,00 µg/mL. Menurut Chinchilla *et al.* (2012), suatu ekstrak dianggap memiliki aktivitas antimalaria yang tinggi bila nilai IC₅₀-nya lebih kecil dari 5 µg/mL.

Terjadi penurunan tingkat parasitemia sesuai dengan peningkatan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria sp.* Gambaran pengaruh ekstrak tersebut terhadap parasitemia disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Penurunan persentase parasitemia *Plasmodium falciparum* seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria sp.* yang diinkubasi selama 48 jam dibandingkan dengan control

Pada Gambar 1, konsentrasi ekstrak 0,01 µg/ml mempunyai nilai persentase parasitemia yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi uji lainnya, dengan nilai persentase parasitemia sebesar 11,75%. Dilihat pada Gambar 1, penurunan persentase parasitemia terjadi seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria sp* tertinggi yaitu 100 µg/ml dan 50 µg/ml menghasilkan persentase parasitemia paling rendah sebesar 0%.

Konsentrasi ekstrak 0,01 µg/mL menunjukkan nilai persentase parasitemia tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi uji lainnya, yaitu sebesar 11,755%. Berdasarkan Gambar 1, penurunan tingkat parasitemia terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria sp.* tertinggi, yaitu 50 µg/mL dan 100 µg/mL, menunjukkan persentase parasitemia terendah sebesar 0%. Penurunan persentase parasitemia ini sejalan dengan penelitian Rachmadenawanti *et al.* (2016), yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak metanol *Zingiber cassumunar* berbanding terbalik

dengan tingkat parasitemia. Penurunan tersebut diduga berkaitan dengan keberadaan metabolit sekunder dalam ekstrak metanol *Gracilaria* sp. yang berpotensi menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Senyawa seperti alkaloid, saponin, dan fenolik dilaporkan memiliki aktivitas antiplasmodial melalui berbagai mekanisme, seperti gangguan transportasi kolin, lisis eritrosit, serta hambatan sintesis protein. Namun demikian, mekanisme kerja tersebut masih bersifat hipotesis biologis, mengingat penelitian ini menggunakan ekstrak kasar sehingga diperlukan studi lanjutan untuk mengonfirmasi peran spesifik masing-masing senyawa.

Data hasil pengamatan mengenai pengaruh konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap persentase parasitemia dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan taraf signifikansi 5% melalui perangkat lunak SPSS, yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Berdasarkan hasil ini, kemudian dilakukan uji *Least Significant Difference (LSD)* yang hasilnya ditampilkan pada Tabel 3.

Meskipun data menunjukkan adanya kecenderungan hubungan dosis–respon, analisis dalam penelitian ini masih difokuskan pada perbandingan antar kelompok perlakuan. Oleh karena itu, pemodelan kurva dosis–respon secara kuantitatif belum dilakukan. Analisis lebih lanjut menggunakan pendekatan tersebut disarankan pada penelitian berikutnya untuk memperoleh gambaran efektivitas yang lebih komprehensif.

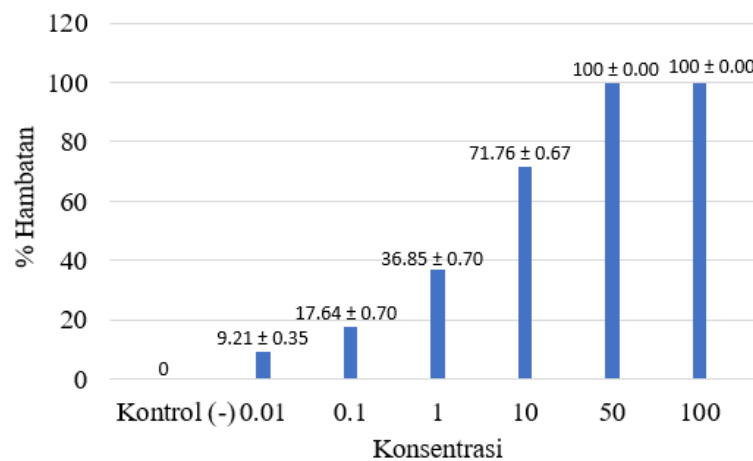
Tabel 3. Konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap persentase rata rata parasitemia *Plasmodium falciparum*

Perlakuan	Rata rata persentase parasitemia (%)
Kontrol negatif	12,75±0,10 ^a
Konsentrasi 0,01 µg/ml	11,75±0,00 ^b
Konsentrasi 0,1 µg/ml	10,78±0,00 ^c
Konsentrasi 1 µg/ml	8,56±0,01 ^d
Konsentrasi 10 µg/ml	4,52±0,10 ^e
Konsentrasi 50 µg/ml	0,00±0,00 ^f
Konsentrasi 100 µg/ml	0,00±0,00 ^f

Keterangan : Perbedaan huruf menunjukan adanya perbedaan yang signifikan berdasarkan uji *Least Significant Difference (LSD)*($p \leq 0,05$)

Pada Tabel 3, persentase parasitemia terkecil yaitu 0% didapatkan dari penggunaan ekstrak metanol *Gracilaria* sp. pada tingkat konsentrasi 100 dan 50 µg/mL. Hal ini menunjukan dua konsentrasi tersebut paling efektif dalam menurunkan persentase parasitemia *Plasmodium falciparum* di antara berbagai konsentrasi yang diterapkan dalam penelitian ini. Konsentrasi 100 µg/ml dan 50 µg/ml menunjukkan konsentrasi tersebut tidak berbeda nyata, yang berarti konsentrasi 50 µg/ml sudah cukup efektif untuk menurunkan persentase parasitemia. Oleh karena itu, konsentrasi 50 µg/ml lebih efektif dan efisien dibandingkan harus meningkatkan dosis hingga 100 µg/ml.

Hasil pengamatan persentase penghambatan memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. berbanding lurus dengan meningkatnya persentase penghambatan, seperti ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kenaikan persentase hambatan *Plasmodium falciparum* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. yang diinkubasi selama 48 jam dibandingkan dengan kontrol

Pada Gambar 2, menunjukkan konsentrasi tertinggi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. sebesar 100 µg/ml dan 50 µg/ml menghasilkan persentase hambatan sebesar 100%. Sedangkan nilai persentase hambatan terendah dihasilkan dari konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. sebesar 0,01 µg/ml yang menghasilkan hambatan terendah dari konsentrasi ekstrak yang lainnya yaitu 9,21%. Konsentrasi tertinggi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. sebesar 100 µg/ml menghasilkan persen hambatan sebesar 100%. Sedangkan nilai persen hambatan terendah dihasilkan dari konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. sebesar 0,01 µg/ml yang menghasilkan hambatan terendah dari konsentrasi ekstrak yang lainnya yaitu 9,21. Kenaikan persentase hambatan juga terjadi dalam penelitian oleh Anas *et al.* (2020) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *Andrographis paniculata* maka dapat meninggikan persen hambatan *Plasmodium falciparum*. Kenaikan persen hambatan ini disebabkan oleh metabolit sekunder golongan flavonoid yang terkandung dalam *Gracilaria* sp. hal ini didukung oleh Abay *et al.* (2015) cara kerja flavonoid dalam menghambat parasit malaria meliputi penghambatan pertumbuhan parasit melalui dua jalur utama, yaitu dengan memblokir proses pemecahan hemoglobin dan menghambat penyerapan nutrisi oleh parasit, sekaligus melakukan detoksifikasi terhadap heme.

Data hasil pengamatan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap persentase hambatan dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA dengan taraf signifikansi 5% melalui perangkat lunak SPSS, yang menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan. Berdasarkan hasil tersebut, analisis dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). yang dapat dilihat pada Tabel 4.

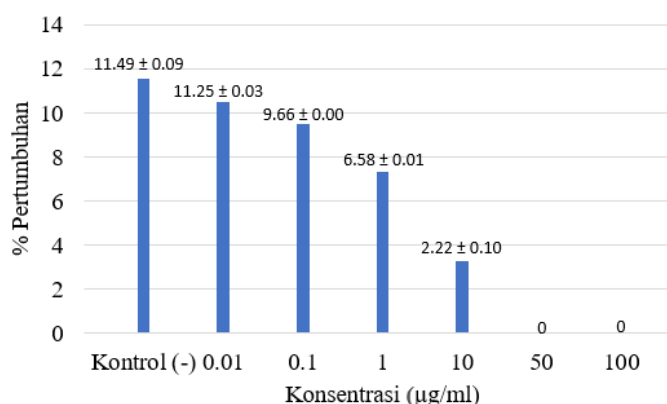
Tabel 4. Konsentrasi Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. Terhadap Persentase Rata Rata Hambatan *Plasmodium falciparum*

Perlakuan (µg/ml)	Rata rata persentase hambatan (%)	IC ₅₀
Kontrol negative	0.00±0,00 ^a	
Konsentrasi 0,01	9,21±0,35 ^b	
Konsentrasi 0,1	17,64±0,70 ^c	
Konsentrasi 1	36,85±0,66 ^d	
Konsentrasi 10	71,76±0,67 ^e	2,00 µg/ml
Konsentrasi 50	100±0,00 ^f	
Konsentrasi 100	100±0,00 ^f	

Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan uji *Least Significant Difference* (LSD)($p \leq 0,05$)

Penggunaan ekstrak metanol *Gracilaria* sp. pada konsentrasi 50 dan 100 µg/mL menghasilkan persentase penghambatan penuh sebesar 100%, seperti terlihat pada Tabel 4. Hal ini menunjukkan dua konsentrasi tersebut paling efektif dalam menunjukkan persentase hambatan *Plasmodium falciparum*. Konsentrasi 100 µg/mL dan 50 µg/mL menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara nyata, konsentrasi 50 µg/ml sudah mampu untuk menghasilkan hambatan sebesar 100% sehingga konsentrasi 50 µg/ml lebih efektif dibandingkan harus meningkatkan dosis ke konsentrasi 100 µg/ml. Analisis persentase penghambatan dilakukan menggunakan metode log-probit untuk menentukan nilai IC₅₀. Tabel 4 memperlihatkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak *Gracilaria* sp. adalah 2,00 µg/mL. Mengacu pada klasifikasi yang ditemukan Chinchilla *et al.* (2012), nilai tersebut tergolong dalam kategori sangat aktif.

Pada parameter persentase pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum*. Data persentase pertumbuhan yang disajikan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. berbanding terbalik dengan persentase pertumbuhan yang dihasilkan



Gambar 3. Penurunan persentase pertumbuhan *Plasmodium falciparum* seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. yang diinkubasi selama 48 jam dibandingkan dengan kontrol

Pada Gambar 3, konsentrasi ekstrak 0,01 µg/ml mempunyai nilai persentase pertumbuhan yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi uji lainnya, dengan nilai persentase pertumbuhan sebesar 11,25%.

Pertumbuhan cenderung menurun dengan adanya peningkatan ekstrak metanol *Gracilaria* sp. Konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. tertinggi yaitu 100 µg/ml dan 50 µg/ml menghasilkan persentase pertumbuhan rendah yaitu sebesar 0%.

Persentase pertumbuhan tertinggi tercatat pada konsentrasi 0,01 µg/mL, yaitu sebesar 10,495%, dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Pertumbuhan cenderung menurun dengan adanya peningkatan ekstrak metanol *Gracilaria* sp. Konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. tertinggi yaitu 100 µg/ml menghasilkan persen pertumbuhan rendah yaitu sebesar 0%. Penurunan persentase pertumbuhan juga terjadi dalam penelitian oleh Kusumaningrum, (2016) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kloroform, ekstrak n-heksan, dan ekstrak etanol 96% dari daun *H. annus L* dapat menurunkan persen pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Senyawa metabolit sekunder, terutama terpenoid yang terkandung dalam *Gracilaria* sp., diyakini berperan dalam penurunan persentase pertumbuhan. Pernyataan ini didukung oleh Helmi *et al.* (2016), Menyatakan bahwa senyawa terpenoid dari metabolit sekunder memiliki efek antimalaria yang bekerja melalui penghambatan jalur mekanisme spesifik.

Perkembangan sporogonik meliputi proses gametogenesis atau fertilisasi. Selain itu, mekanisme kerja senyawa terpenoid juga melibatkan gangguan terhadap sintesis protein di dalam sel, yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan parasit.

Data yang diperoleh dari pengamatan konsentrasi ekstrak metanol *Gracilaria* sp. terhadap persentase pertumbuhan dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* pada tingkat signifikansi 5% dengan bantuan perangkat lunak SPSS, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan. Berdasarkan hasil tersebut, tahapan analisis berikutnya dilakukan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)*, seperti yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Konsentrasi Ekstrak Metanol *Gracilaria* sp. Terhadap Persentase Rata Rata Pertumbuhan *Plasmodium falciparum*

Perlakuan	Rata rata persentase pertumbuhan (%)
Kontrol negatif	11.49±0,09 ^a
Konsentrasi 0,01 µg/ml	11.25±0,03 ^b
Konsentrasi 0,1 µg/ml	9.66±0,00 ^c
Konsentrasi 1 µg/ml	6.58±0,01 ^d
Konsentrasi 10 µg/ml	2.22±0,10 ^e
Konsentrasi 50 µg/ml	0,00±0,00 ^f
Konsentrasi 100 µg/ml	0,00±0,00 ^f

Keterangan : huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan berdasarkan uji *Least Significant Difference (LSD)*($p \leq 0,05$)

Pada Tabel 5, persentase pertumbuhan terkecil yaitu 0 % didapatkan dari penggunaan ekstrak metanol *Gracilaria* sp. dengan konsentrasi 100 µg/ml dan 50 µg/ml. Hal ini menunjukkan dua konsentrasi tersebut

paling efektif dalam menurunkan persentase pertumbuhan *Plasmodium falciparum* di antara konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini.

Konsentrasi 100 µg/mL dan 50 µg/mL tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik, sehingga konsentrasi 50 µg/mL dianggap sudah efektif untuk menurunkan persentase pertumbuhan. Oleh karena itu, konsentrasi 50 µg/ml lebih efektif dan efisien dibandingkan harus meningkatkan dosis hingga 100 µg/ml.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Gracilaria* sp. mengandung metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan steroid berdasarkan uji fitokimia. Ekstrak tersebut menunjukkan aktivitas antiplasmodium *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,00 µg/mL yang tergolong dalam kategori sangat aktif. Aktivitas ini diduga berkaitan dengan peran metabolit sekunder dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan parasit.

DAFTAR RUJUKAN

- Abay, S. M., Lucantoni, L., Dahiya, N., Dori, G., Dembo, E. G., Esposito, F., Lupidi, G., Ogboi, S., Ouédraogo, R. K., Sinisi, A., Taglialatela-Scafati, O., Yerbanga, R. S., Bramucci, M., Quassinti, L., Ouédraogo, J. B., Christophides, G., & Habluetzel, A. (2015). *Plasmodium* Transmission Blocking Activities Of Vernonia Amygdalina Extracts And Isolated Compounds. *Malaria Journal*, 14(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0812-2>
- Alkandahri, M. Y., & Subarnas, A. (2017). Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifoli*) Sebagai Anti Malaria. *Alkandahri*, 15(3), 170–186.
- Anas, Y., Ratnani, R. D., Kurniasari, L., & Hartati, I. (2020). Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Hidrotropi Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness.) Secara In Vitro Pada *Plasmodium Falciparum* Strain G-2300 Resisten Kloroquin. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 17(01), 1. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v17i01.3479>
- Awalia, R. (2017). *Biodiversitas Makroalga di Pantai Puntondo Kecamatan Mangara 'bombang Kabupaten Takalar Provinsi Sulawesi Selatan* [Skripsi]. UIN Alauddin Makassar.
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sánchez, R., Mora, V., Bagnarello, V., Martínez, L., Gonzalez, A., Vanegas, J. C., & Apestegui, Á. (2012). In Vitro Antimalarial Activity Of Extracts Of Some Plants From A Biological Reserve In Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 60(2). <https://doi.org/10.15517/rbt.v60i2.4024>
- Djamanmona, R. F., & Anggreini, Y. S. (2023). Efektifitas Mikropartikel Daun Afrika sebagai Profilaksis Malaria terhadap Penurunan Parasitemia Malaria. *The Indonesian Journal of Infectious Diseases*, 9(2). <https://doi.org/10.32667/ijid.v9i2.184>
- Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Institut Teknologi Bandung.
- Haron, F. K., Shah, M. D., Yong, Y. S., Tan, J. K., Lal, M. T. M., & Venmathi Maran, B. A. (2022). Antiparasitic Potential of Methanol Extract of Brown Alga *Sargassum polycystum* (Phaeophyceae) and Its LC-MS/MS Metabolite Profiling. *Diversity*, 14(10), 796. <https://doi.org/10.3390/d14100796>
- Helmi, H., Afriyansyah, B., & Ekasari, W. (2016). The Effectiveness of Local Plants from Lom and Sawang Ethnic as Antimalarial Medicine. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 8(2), 193–200. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v8i2.5437>

- Insani, A. N., Hafiludin, H., & Chandra, A. B. (2022). Pemanfaatan Ekstrak *Gracilaria* sp. dari Perairan Pamekasan sebagai Antioksidan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 3(1), 16–25. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v3i1.14783>
- Julyasih, K. S. M., & Putu, N. L. M. (2020). Komponen Fitokimia Makro Alga Yang Diseleksi Dari Pantai Sanur Bali. *Jurnal Seminar Nasional Riset Inovatif*, 1(1), 28–31.
- Kementerian Kesehatan RI. (2022). *Profil Kesehatan Indonesia 2022*. <https://kemkes.go.id/id/profil-kesehatan-indonesia-2022>
- Kusumaningrum, N. A. (2016). *Uji Aktivitas Antimalaria Daun Helianthus Annuus L. Dengan Ekstraksi Bertingkat Terhadap Plasmodium Falciparum Secara In Vitro* [Skripsi]. Universitas Airlangga.
- Luliana, S., Purwanti, N. U., & Manihuruk, K. N. (2016). Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(3), 120–129. <https://doi.org/10.7454/psr.v3i3.3291>
- Maji, A. K. (2018). Drug Seseptibility Testing Methods Of Antimalarial Agents. *Tropical Parasitology*, 8(2), 70. <https://doi.org/10.4103/2229-5070.248695>
- Prabowo, A. Y., Sijabat, H., & Yuwanto, F. (2019). Profil Penyakit Malaria Pada Rumah Sakit Tk. IV TNI AD Bandar Lampung. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 3(1), 84–91. <https://doi.org/10.23960/jkunila.v3i1.pp84-91>
- Rachmadenawanti, E., Hermansyah, B., & Hermansyah, Y. (2016). Uji Aktivitas Fraksi Diklorometana Ekstrak Metanol Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Terapi Komplementer Malaria secara In Vivo (The Activity Test of Dichloromethane Fraction of Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) Methanolic Extract as Complement. *Pustaka Kesehatan*, 4(2), 205–209.
- Siregar, A. F., Sabdono, A., & Pringgenies, D. (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Epidermidis*, Dan *Micrococcus Luteus*. *Journal Of Marine Research*, 1(2), 152–160.
- Soamole, H. H., Sanger, G., Harikedua, S. D., Dotulong, V., Mewengkang, H. W., & Montolalu, R. I. (2018). Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Rumput Laut Segar. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 6(3), 94. <https://doi.org/10.35800/mthp.6.3.2018.21259>
- Sy. Pakaya, M., Ain Thomas, N., Hasan, H., H. Hutuba, A., & Mbae, G. (2023). Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Antioksidan Fungi Endofit dari Tanaman Batang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2). <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.20341>
- Trager, W., & Jensen, J. B. (1976). Human Malaria Parasites in Continuous Culture. *Science*, 193(4254), 673–675. <https://doi.org/10.1126/science.781840>
- Widodo, R. W., Subagiyo, S., & Pramesti, R. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*, Greville, 1830 (*Florideophyceae* : *Gracilariaceae*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara. *Journal of Marine Research*, 8(3), 285–290. <https://doi.org/10.14710/jmr.v8i3.25271>