

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN POLIMERISASI HEM
FRAKSI *n*-HEKSANA DAN FRAKSI ETIL ASETAT BUAH
KASTURI (*Mangifera casturi* Kosterm) ASAL KALIMANTAN
SELATAN**

Sutomo¹, Arnida¹, Sinta Astri Widianti¹, Fadlilaturrahmah¹, Rahmat Yunus²

¹Program Studi Farmasi Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru

²Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru

Email : sutomo01@unlam.ac.id

Abstrak

Penyakit malaria di Indonesia merupakan penyakit endemis yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* dan harus ditangani secara serius. Penyebaran *Plasmodium* yang resisten terhadap antimalaria menunjukkan betapa pentingnya penemuan antimalaria baru. Salah satu tanaman endemik Kalimantan Selatan yang diidentifikasi berpotensi sebagai antimalaria yaitu kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi* asal Kalimantan Selatan berdasarkan nilai IC₅₀. Ekstrak metanol difraksinasi secara bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Uji aktivitas penghambatan polimerisasi hem dilakukan secara *in vitro* dengan seri konsentrasi 10; 5; 2,50; 1,25; 0,625; dan 0,3125 mg/mL. Konsentrasi sampel berbanding terbalik dengan kadar hemozoin yang terbentuk, namun berbanding lurus dengan persen penghambatannya. Nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan klorokuin difosfat berturut-turut sebesar 0,43 ± 0,27; 0,44 ± 0,44; dan 1,72 ± 0,10 mg/mL. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana tidak berbeda bermakna dengan fraksi etil asetat, sedangkan nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat berbeda bermakna dengan klorokuin difosfat. Fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi* dinyatakan memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 12 mg/mL.

Kata Kunci : Polimerisasi hem, *Mangifera casturi* Kosterm, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat

Abstract

Malaria in Indonesia is an endemic disease caused by Plasmodium parasites and should be treated seriously. The spread Plasmodium resistance to antimalarial show how important discovery new antimalarial drug. One of South Kalimantan's endemic plants identified as potential antimalarial is kasturi (Mangifera casturi Kosterm). This study aims to determine heme polymerization inhibitory activity of the n-hexane and ethyl acetate of M. casturi fruit fraction from South Kalimantan based on IC₅₀ value. The methanol extract was fractionated stepwise using n-hexane and ethyl acetate solvents. Heme polymerization inhibitory activity test performed in vitro with concentration series of 10; 5; 2.50; 1.25; 0.625; and 0.3125 mg/mL. The sample concentration is inversely propotional to the level of hemozoin formed, but is proportional to the percentage of inhibition. The average IC₅₀ value of n-hexane, ethyl acetate fraction, and chloroquine diphosphate were 0.43 ± 0.27 , 0.44 ± 0.44 , and 1.72 ± 0.10 mg/mL respectively. The result of ANOVA test showed that IC₅₀ value of n-hexane fraction was not significant to ethyl acetate fraction, while IC₅₀ value of n-hexane fraction and ethyl acetate fraction was significant to chloroquine diphosphate. n-hexane and ethyl acetate fraction of M. casturi fruit is claimed to have inhibitory activity of heme polymerization because it has IC₅₀ value less than 12 mg/mL.

Keywords: Heme polymerization, Mangifera casturi Kosterm, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction.

PENDAHULUAN

Penyakit malaria adalah penyakit infeksi dengan demam berkala yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* dan ditularkan melalui air liur nyamuk *Anopheles* betina (WHO, 2010). Obat golongan klorokuin merupakan obat pilihan pertama untuk pengobatan dan pencegahan antimalaria yang kini sudah tidak efektif lagi (Utami *et al.*, 2012). Penyebaran *Plasmodium* yang resisten terhadap antimalaria menunjukkan betapa pentingnya menemukan antimalaria baru.

Senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas antimalaria adalah terpenoid, flavonoid (Sara & Ersam, 2010), triterpenoid pentasiklik glikosida (Herlina *et al.*, 2012), turunan α -xanton, dan β -mangostin (Syamsudin *et al.*, 2007). Hasil penelitian Agustina (2016) membuktikan bahwa ekstrak metanol

buah *M. casturi* mengandung aleuron, alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, dan steroid. Farksi n-heksana buah *M. casturi* mengandung senyawa lupeol dan β -sitosterol sedangkan fraksi etil asetat mengandung senyawa metil galat (Sutomo *et al.*, 2013 dan Sutomo *et al.*, 2017). Pemisahan golongan kimia terhadap ekstrak metanol buah *M. casturi* pada penelitian ini dilakukan dengan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat.

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan metode penghambatan polimerisasi hem. Polimerisasi hem bertujuan untuk skrining awal untuk mempelajari mekanisme kerja senyawa buah *M. casturi* sebagai antimalaria (Basilico *et al.*, 1998; Huy *et al.*, 2007). Hasil penghambatan polimerisasi hem dari buah *M. casturi* ditentukan dari

kadar β -hematin yang terbentuk. *Beta* hematin merupakan suatu dimer yang identik dengan hemozoin. Keberadaan β -hematin diukur dengan pembacaan absorbansi menggunakan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA Reader)*. Panjang gelombang yang digunakan pada *ELISA Reader* adalah 405 nm karena sesuai dengan panjang gelombang maksimum β -hematin (Slatter *et al.*, 1991; Leblanc *et al.*, 2013).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru dan *Balai Veteriner (B-Vet) Banjarbaru*. Waktu pelaksanaan penelitian pada bulan Januari 2017 sampai April 2017.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet ukur, propipet, cawan porselin, corong gelas, corong pisah, labu ukur, propipet, tabung reaksi, timbangan analitik, maserator, *rotary evaporator*, *waterbath*, oven, sentrifuge, inkubator, mikropipet, mikroplate 96 sumuran, mikrotube, *vortex mixer*, pH meter, tip (*yellow, blue, & white tips*), dan *ELISA reader*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah buah *M. casturi*, akuades, aluminium foil, ammonia (p.a), asam asetat anhidrat (p.a), asam asetat glasial p.a, asam klorida 2 N (teknis), asam sulfat (p.a), dimetil sulfoksida 100% (p.a), etil asetat (teknis), ferri klorida 1% (p.a), kertas saring, kloroform (p.a), klorokuin difosfat (p.a), kristal hematin porcine (p.a), *n*-heksana (teknis), metanol (p.a),

metanol (teknis), natrium hidroksida (p.a), pereaksi Dragendorff (p.a), dan pereaksi Mayer (p.a).

Ekstraksi

Sampel serbuk *M. casturi* ditimbang sebanyak 350 g dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstraksi dilakukan selama 1 x 24 jam kemudian dilakukan remaserasi selama 4 x 24 jam. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak tersebut kemudian dikentalkan pada *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi

Ekstrak kental metanol sebanyak 20 g disuspensikan dalam akuades (1 : 1,5). Campuran difraksinasi corong pisah dan dilakukan menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak 50 mL. Campuran digojog dan ditunggu sampai terbentuk 2 lapisan. Fraksi *n*-heksana berada pada lapisan atas dan ekstrak metanol buah *M. casturi* berada pada lapisan bawah. Fraksi air yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 50 mL. Hasil fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat yang diperoleh dipekatkan hingga kental.

Skrining fitokimia

a. Uji alkaloid : Larutan sampel sebanyak 2 mL dilarutkan dalam 5 HCl 2N. Larutan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol. Tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes. Tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Hasil positif tabung kedua ditandai dengan terbentuknya endapan coklat kemerahan dan hasil positif tabung ketiga ditandai dengan terbentuknya endapan putih

- b. Uji antrakuinon (reaksi Borntrager) : Larutan sampel sebanyak 2 mL ditambahkan 0,5 mL amonia. Hasil positif adanya antrakuinon ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah kekuningan hingga ungu
- c. Uji flavonoid : Larutan sampel diteteskan pada kertas saring sebanyak 2 tetes. Kertas saring diletakkan pada mulut tabung reaksi yang berisi amonia. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna kertas saring menjadi kuning
- d. Uji Glikosida (Liebermann Burchard): Larutan sampel sebanyak 2 mL diuapkan di atas penangas air. Residu yang diperoleh ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 10 tetes H₂SO₄. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau atau biru
- e. Uji saponin : Larutan sampel sebanyak 2 mL ditambah 10 mL air panas, kemudian didinginkan dan dikocok. Hasil positif ditandai dengan adanya busa lebih dari 1 cm selama 10 menit
- f. Uji steroid : Larutan sampel sebanyak 2 mL ditambah 2 mL asam asetat anhidrat dan 2 mL asam sulfat pekat (pereaksi *Liebermann-Burchard*). Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan
- g. Uji tannin : Larutan sampel sebanyak 1 mL ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 0,1%. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi hijau atau biru kehitaman
- h. Uji terpenoid (*Salkowski's test*) : Larutan sampel sebanyak 5 mL ditambahkan 2 mL kloroform. Kemudian ditambahkan dengan 3 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif adanya terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning kecokelatan
(Ayoola *et al.*, 2008; Zohra *et al.*, 2012).
- Pembuatan kurva baku hematin**
Seri kadar larutan hematin dibuat (dalam larutan NaOH 0,2 M) dengan konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6; 7,8; dan 3,9 µM. Masing-masing kadar hematin dibuat sebanyak 400 µL dan dimasukkan dalam mikropate 96 sumuran dengan 3x replikasi. Masing-masing replikasi digunakan µL 100 dari setiap konsentrasi. Nilai absorbansi dibaca dengan ELISA *reader* pada λ 405 nm (Purwanto, 2011; Ayudia, 2016).
- Pembuatan larutan seri konsentrasi sampel**
Larutan stok sampel dengan konsentrasi 10 mg/mL dibuat dengan cara melarutkan 10 mg sampel dengan DMSO 10% sebanyak 1000 µL. Larutan seri konsentrasi sampel dibuat dengan konsentrasi 10; 5; 2,50; 1,25; 0,625; dan 0,3125 mg/mL sebanyak 500 µL.
- Uji penghambatan polimerisasi hem**
Larutan sampel dengan berbagai tingkatan kadar, yaitu 10; 5; 2,50; 1,25; 0,625; dan 0,3125 mg/mL ditambahkan sebanyak 100 µL ke dalam mikrotube. Hematin 1 mM dalam NaOH 0,2 ditambahkan sebanyak 200 µL ke dalam mikrotube yang berisi bahan uji. Reaksi polimerisasi hem dimulai dengan cara 100 µL larutan asam asetat glasial (pH

2,6) ditambahkan pada mikrotube yang sudah berisi larutan hematin dan sampel, kemudian kemudian di homogenkan menggunakan *vortex mixer* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Setelah inkubasi berakhir, mikrotube disentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dengan menggunakan mikropipet 200 µL. Endapan yang diperoleh dicuci sebanyak 3 kali dengan 400 µL DMSO 100%. Endapan yang diperoleh ditambah NaOH 0,1 M sebanyak 400 µL. Setiap 100 µL larutan dimasukkan ke dalam mikrotube 96 sumuran, kemudian direplikasi 3 kali untuk setiap kadar. Dibaca nilai absorbansinya dengan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm. Kontrol positif yang digunakan adalah klorokuin difosfat dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi sampel, sedangkan kontrol negatif adalah larutan DMSO 10% dan kontrol negatif untuk klorokuin difosfat adalah akuades. Perlakuan terhadap kontrol positif dan negatif dibuat sama dengan sampel. (Purwanto, 2011; Ayudia, 2016).

Analisis Data

Kadar kristal β-hematin yang terbentuk diketahui dengan nilai absorbansi pada masing-masing konsentrasi perlakuan diinterpolasikan ke persamaan kurva baku. Persentase hambatan polimerisasi hem dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{A-B}{A} \times 100 \% \quad \dots(3)$$

Dengan A adalah kadar hematin pada kontrol negatif dan B adalah kadar hematin setelah pemberian senyawa uji. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem dinyatakan dalam IC₅₀ yang diperoleh menggunakan analisis probit. Hasil positif suatu sampel memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi

hem jika nilai IC₅₀ yang diperoleh kurang dari 37,5 mM (12 mg/mL) (Baelsman *et al.*, 2000). Perbedaan nilai IC₅₀ untuk masing-masing perlakuan dianalisis dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Buah *M. casturi* diekstraksi dengan metode maserasi. Ekstrak kental metanol buah *M. casturi* yang diperoleh sebanyak 115,81 g berwarna coklat dengan persentase rendemen yang diperoleh sebanyak 33,09%. Hasil ekstraksi kemudian difraksinasi untuk mendapatkan fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat kental. Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair. Ekstrak metanol kental yang digunakan sebanyak 20 g dan fraksi *n*-heksana kental yang diperoleh sebanyak 4,3 g, sehingga persentase rendemen yang diperoleh sebesar 21,5%. Hasil fraksi etil asetat kental yang diperoleh sebanyak 1,54 g dan persentase rendemen yang diperoleh sebesar 7,7%.

Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia buah *M. casturi*

No	Uji	Fraksi <i>n</i> -Heksana	Fraksi Etil Asetat
1	Alkaloid	+	+
2	Antrakuinon	-	-
3	Flavonoid	+	+
4	Glikosida	-	-
5	Saponin	+	+
6	Steroid	-	-
7	Tanin	+	+
8	Terpenoid	+	+

Skrining fitokimia terhadap fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi* menunjukkan terdapat beberapa golongan senyawa yang sama. Pemisahan kandungan senyawa pada fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi* kemudian digambarkan

dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Berdasarkan hasil KLT dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan bercak pada fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi*. Hal ini dapat berarti bahwa terdapat senyawa yang berbeda antara fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi*, meskipun berdasarkan skrining fitokimia memiliki golongan yang sama. Satu golongan senyawa dapat memiliki banyak jenis senyawa dan setiap jenis senyawa memiliki tingkat kepolaran yang berbeda sehingga senyawa tersebut hanya dapat ditarik oleh pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sesuai.

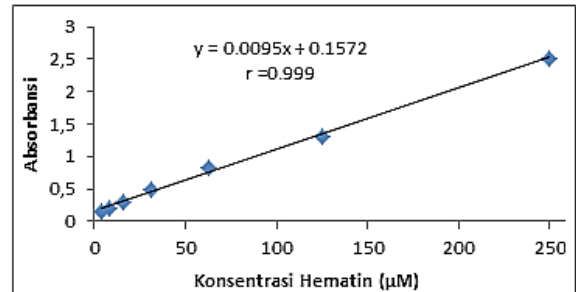
Penghambatan Polimerisasi Hem Fraksi *n*-Heksana dan Fraksi Etil Asetat Buah *M. casturi*

Konsentrasi larutan kurva baku hematin yang digunakan yaitu 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; dan 3,90625 μ M.

Kristal β -hematin diukur absorbansinya dengan ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm. Persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu $y = 0,0095x$

Tabel 2. Pengaruh pemberian fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat buah *M. casturi* dan klorokuin difosfat terhadap penghambatan polimerisasi hem

+ 0,1572 dengan nilai r^2 sebesar 0,998 dan nilai r sebesar 0,999 (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva baku hematin

Aktivitas penghambatan polimerisasi hem dinyatakan dalam *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}) yaitu kadar ekstrak yang mampu menghambat polimerisasi hem hingga 50%. Data IC_{50} (Tabel 1) menunjukkan bahwa nilai rata-rata IC_{50} fraksi *n*-heksana paling kecil yaitu $0,43 \pm 0,27$ mg/mL, yang berarti bahwa fraksi *n*-heksana buah *M. casturi* dengan konsentrasi 0,43 mg/mL dapat memberikan hambatan 50%. Diikuti oleh rata-rata IC_{50} fraksi etil asetat sebesar $0,44 \pm 0,44$ mg/mL dan nilai rata-rata IC_{50} klorokuin difosfat sebesar $1,72 \pm 0,10$ mg/mL.

Bahan uji	Konsentrasi (mg/mL)	Rata-rata kadar β -hematin (μ M) \pm SD	Rata-rata % Penghambatan \pm SD	Rata-rata IC50 (mg/mL) \pm SD
Fraksi <i>n</i> -heksana	10	-9,21 \pm 1,44	105,86 \pm 0,75	0,43 \pm 0,27
	5	21,52 \pm 3,62	86,30 \pm 1,88	
	2,5	33,98 \pm 1,80	78,38 \pm 0,93	
	1,25	50,36 \pm 0,75	67,95 \pm 0,39	
	0,625	68,29 \pm 13,77	56,54 \pm 7,16	
	0,3125	93,14 \pm 34,70	40,73 \pm 18,03	
Fraksi etil Asetat	10	-8,86 \pm 0,34	105,64 \pm 0,27	0,44 \pm 0,44
	5	22,26 \pm 0,97	85,83 \pm 0,75	
	2,5	56,05 \pm 2,15	64,33 \pm 1,68	
	1,25	63,14 \pm 1,91	59,82 \pm 1,49	
	0,625	75,42 \pm 0,40	52,01 \pm 0,31	
	0,3125	76,61 \pm 0,37	51,25 \pm 0,29	
Klorokuin Difosfat	10	-11,21 \pm 0,80	109,42 \pm 0,67	1,72 \pm 0,10
	5	24,05 \pm 6,31	79,81 \pm 5,30	
	2,5	52,65 \pm 1,00	55,80 \pm 0,84	
	1,25	54,75 \pm 1,74	54,03 \pm 1,46	
	0,625	103,91 \pm 2,70	12,76 \pm 2,27	
	0,3125	122,96 \pm 3,53	-3,24 \pm 2,96	

Nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan klorokuin difosfat dianalisis dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan atau pengaruh nilai IC₅₀ antara fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan klorokuin difosfat terhadap aktivitas penghambatan polimerisasi hem. Hasil uji ini diperoleh nilai

signifikan $0,000 < 0,05$, sehingga H₀ ditolak yang artinya terdapat perbedaan nilai rata-rata IC₅₀ pada sampel. Tabel uji Post Hoc (Tabel 2) menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana tidak berbeda bermakna dengan fraksi etil asetat, sedangkan nilai IC₅₀ fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat berbeda bermakna dengan klorokuin difosfat.

Tabel 2. Uji Post Hoc aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan klorokuin difosfat

(I) SAMPEL	(J) SAMPEL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi <i>n</i> -heksana	fraksi etil asetat	-,008333	,136290	,953	-,34182	,32516
	klorokuin difosfat	-1,286333*	,136290	,000	-1,61982	-,95284
	fraksi <i>n</i> -heksana	,008333	,136290	,953	-,32516	,34182
fraksi etil asetat	klorokuin difosfat	-1,278000*	,136290	,000	-1,61149	-,94451
	fraksi <i>n</i> -heksana	1,286333*	,136290	,000	,95284	1,61982
klorokuin difosfat	fraksi etil asetat	1,278000*	,136290	,000	,94451	1,61149

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Aktivitas penghambatan polimerisasi hem terjadi melalui dua mekanisme yaitu interaksi antara senyawa terpenoid, fenol, dan sterol dengan sistem elektronik hem serta senyawa-senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan ion besi hem (Basilico *et al.*, 1998). Alkaloid dapat menghambat polimerisasi hem karena memiliki cincin quinolin yang dapat membentuk ferriprotopirin (FP IX) dalam vakuola makanan *Plasmodium*, sehingga menjadi toksik bagi *Plasmodium*. Senyawa golongan flavonoid, saponin, dan tanin diperkirakan memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengan cara gugus hidroksil dari senyawa-senyawa tersebut berikatan pada ion besi hem sehingga tidak terjadi polimerisasi hem. Senyawa terpenoid diketahui dapat menghambat pembentukan hemozoin dengan cara berinteraksi dengan sistem elektronik hem (Wijaya *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

1. Fraksi *n*-heksana buah *M.casturi* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem berdasarkan nilai IC_{50} yaitu $0,43 \pm 0,27$ mg/mL.
2. Fraksi etil asetat buah *M.casturi* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem berdasarkan nilai IC_{50} yaitu $0,44 \pm 0,44$ mg/mL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dirjend DIKTI melalui dana hibah penelitian desentralisasi PTUPT Universitas Lambung

Mangkurat dan semua yang berperan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, N. 2016. *Studi Farmakognostik Dan Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak Metanol Daun, Kulit Batang, Dan Buah Kasturi (Mangifera Casturi Kosterm.)*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Ayoola, G.A., H.A.B. Coker, S.A. Adesegun, A.A.A. Bello, K. Obaweya, E.C. Ezennia, & T.O. Atangbayila. 2008. Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 7: 1019-1024.
- Ayudia, L. 2016. *Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Fraksi n-Butanol Akar Manuran (Coptosapelta tomentosa Valetton ex K.Heyne) Asal Kotabaru Kalimantan Selatan*. Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Baelsman, R., E. Deharo, V. Munoz, M. Sauvain, & H. Ginsburg. 2000. Experimental Conditions for Testing The Inhibitory Activity of Chloroquine On The Formation of B-Hematin. *Exp Parasitol*. 96: 243-248.
- Basilico, N. E. P., D. Monti, P. Olliaro & D. Taramelli. 1998. A Microtitre-Based Method For

- Measuring the Heme Polymerization Inhibitory Activity (HPIA) of Antimalarial Drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 55–60.
- Herlina, T., Syarifuddin, & Z. Udin. 2012. Senyawa Aktif Antikanker Payudara dan Antimalaria dari Tumbuhan Dadap Ayam (*Erythrina variegata*) secara *In Vitro*. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. **19**: 30-36.
- Huy, N.T., A. Maeda, D.T. Uyen, D.T.X. Trang, M. Sasai, & T. Shiono. 2007. Alcohols Induce Beta-Hematin Formation Via The Dissociation of Aggregated Hem and Reduction in Interfacial Tension of The Solution. *Acta Tropica*. **101**: 130-138.
- Leblanc, D., R. Story, & E. Gross. 2013. Laser-Induced Inactivation of *Plasmodium falciparum*. *Malaria Journal*. **11**: 1-7.
- Purwanto. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penghambat Polimerisasi Hem dari Fungi Endofit Tanaman Artemisia annua L.* Tesis Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sara, M.S.F. & T. Ersam. 2010. *Pengujian Aktivitas Antimalaria dan Insektisida Fraksi Etil Asetat dan Senyawa 5,7,2',5'',7'',4''-heksahidroksiflavanon-[3,8'']-Flavon dari Batang Garcinia celebica linn*, hal. 1-9. Prosiding Kimia FMIPA, ITS.
- Slatter, A.F.G., W.J. Swiggard, B.R. Orton, W.D. Flitter, D.E. Goldberg, A. Ceramy, & G. B. Handerson. 1991. An iron-carboxylate bond links the heme units of malaria pigment. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*. **88**: 325-329.
- Sutomo, Wahyuono, s., Rianto, S., and Setyowati, E.P., 2013, Isolation and identification of actives compound of n-hexane fraction from kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) against antioxidant and immunomodulatory activity, *J. Biol. Sci.* **13**(7) : 596-604.
- Sutomo, Arnida, R. Yunus. S. Wahyuono, E.P. Setywati, S. Riyanto. 2017, Isolation And Identification Of Active Compound Of Ethylacetate Fraction Of Kasturi (*Mangifera casturi* Konsterm.) Fruit From South Kalimantan Indonesia. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* **8** (S) : 249-254
- Syamsudin, S. Tjokrosonto, S. Wahyuono, & Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplasmodium dari Dua Fraksi Ekstrak *n*-heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Majalah Farmasi Indonesia*. **18**: 210-215.
- Utami, W.S., Nuri, & Y. Armiyanti. 2012. Effect *Tithonia diversifolia* ((Hemley) A. Gray) Ethanol Extract As Antimalarial on Mice Strain Balb / C Before and After Infected By Plasmodium berghei. *Jurnal Medika Planta*. **1**: 56-66.
- WHO. 2010. *World Malaria Report*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Switzerland.

Wijaya, J., J. Salenus & J. Marantika.
2013. Potensi Ekstrak Metanol
Daun Kapur (*Harmsioplanax
aculeatus* Harms) sebagai Obat
Antimalaria. *Jurnal Kimia*. 1-9.

Zohra, S.F., B. Meriem, S. Samira,
A.M.S. Muneer. 2012.
Phytochemical Screening and
Identification of Some Compounds
from Mallow. *Journal of National
Product and Plant Resource*. 2:
512-516.