

ARTIKEL PENELITIAN

**STUDI IN VITRO: EFEK ANTIPLASMODIAL EKSTRAK ETANOL  
TERIPANG KELING (*Holothuria atra*) TERHADAP *Plasmodium falciparum*  
(STUDY IN VITRO: ANTIPLASMODIAL EFFECT OF SEA CUCUMBER ETHANOL  
EXTRACT (*Holothuria atra*) AGAINST *Plasmodium falciparum*)**

**Rizka Indah Ramadina<sup>1</sup>, Prawesty Diah Utami<sup>2</sup>, Djatiwidodo Edi Pratiknya<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

<sup>2</sup>Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

Email korespondensi: prawesty.diah@hangtuah.ac.id

**ABSTRAK**

Malaria merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh parasit apicomplexa darah yaitu *Plasmodium sp.* khususnya *Plasmodium falciparum* yang dibawa oleh nyamuk *Anopheles*. Teripang keling (*Holothuria atra*) merupakan invertebrata yang mengandung komponen aktif seperti saponin, terpenoid, flavonoid dan alkaloid yang memiliki efektivitas sebagai antiplasmodium. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis efektivitas antiplasmodial dari ekstrak etanol teripang keling (*Holothuria atra*) terhadap perkembangan *P.falciparum* melalui studi in vitro. Dalam studi in vitro penelitian ini menggunakan sampel kultur *P.falciparum* strain 3D7 dan ekstrak etanol *H.atra*. Media kultur akan terbagi menjadi 3 kelompok yakni kontrol negatif, kontrol positif serta dengan penambahan ekstrak etanol *H.atra*. Ketiga kelompok tersebut akan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C lalu dilakukan pemeriksaan kadar parasitemia dan inhibitory rate menggunakan mikroskop cahaya serta pengukuran IC<sub>50</sub> menggunakan analisis probit melalui program SPSS versi 23. Hasil penelitian memperlihatkan adanya efek antiplasmodial dalam menghambat perkembangan *P.falciparum*. Semakin besar dosis yang diberikan maka efek hambatannya juga semakin besar. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol *H.atra* adalah 1,54 µg/ml. Penggunaan ekstrak teripang keling (*Holothuria atra*) memiliki efek antiplasmodial yang mampu menekan perkembangan *P.falciparum* dan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol mempunyai aktivitas yang tinggi sebagai antiplasmodial.

**Kata Kunci:** antiplasmodial, *Holothuria atra*, in vitro, malaria, *Plasmodium falciparum*

**ABSTRACT**

*Malaria is an infection is caused by the blood apicomplexan parasite, Plasmodium sp. in particular, is Plasmodium falciparum which is carried by the Anopheles mosquito. Sea*

*cucumber (Holothuria atra) is an invertebrate that contains active components such as saponins, terpenoids, flavonoids, and alkaloids which are good as antiplasmodial. This study to determine the antiplasmodial effect of the sea cucumber (Holothuria atra) extract with ethanol as a solvent on the development of P.falciparum through in vitro study. In this in vitro study, culture samples of P.falciparum strain 3D7 and H.atra extract were given ethanol solvent. The culture media will be divided into three control groups, namely negative control, positive control, and ethanol solvent H.atra extract. The three control groups will be incubated for 48 hours at 37° C and then examined for levels of parasitemia and inhibitory rates using a light microscope and IC<sub>50</sub> measurements using probit analysis through the SPSS version 23 program. This study showed an antiplasmodial effect in inhibiting the development of P. falciparum. The larger the dose is given, the greater the inhibitory effect. The IC<sub>50</sub> value of H.atra ethanol extract was 1.54 g/ml. The result showed use black sea cucumber extract (Holothuria atra) has an antiplasmodial effect that can suppress the development of P.falciparum and IC<sub>50</sub> ethanol extract has a high antiplasmodial activity*

**Keywords:** Antiplasmodial, *Holothuria atra*, In vitro, Malaria, *Plasmodium falciparum*

## PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu *vector borne disease* yang disebabkan parasit *Plasmodium Sp.* khususnya adalah *Plasmodium falciparum* dan dibawa oleh nyamuk *Anopheles*. Diketahui terdapat 1,5 juta kasus dan 7,6 juta kematian akibat malaria di seluruh dunia, pada akhir tahun 2019.<sup>1</sup> Terdapat lima spesies *Plasmodium* sp. yang menginfeksi dan menyebabkan penyakit pada manusia meliputi *P.falciparum*, *P.malariae*, *P.ovale*, *P.vivax*, dan spesies *P.knowlesi* yang awalnya menginfeksi monyet berekor panjang ternyata juga terbukti mampu menyebabkan penyakit pada manusia. Di antara kelima spesies *Plasmodium* sp. yang paling banyak menyebabkan kasus malaria di Indonesia adalah malaria tropika yang disebabkan *P.falciparum* dan malaria tertiana yang disebabkan *P.vivax*. Malaria karena *P.ovale*

lebih jarang dan pernah dilaporkan kejadian infeksiya di wilayah Indonesia Timur yaitu Papua dan Nusa Tenggara Timur.<sup>2,3</sup> Infeksi yang disebabkan *P.falciparum* menyebabkan komplikasi yang paling berat dan mematikan antara lain anemia berat, malaria serebral, distress pernafasan, hipoglikemi, metabolik asidosis, kerusakan organ, disfungsi makrofag spesifik, *functional hyposplenism* dan wanita hamil yang terinfeksi malaria akan menyebabkan anemia maternal dan melahirkan bayi dengan berat bayi yang rendah.<sup>4</sup>

WHO (*World Health Organization*) menetapkan terapi *artemisinin-based combination* (ACT) sebagai regimen standar untuk infeksi malaria *P.falciparum*. Namun, beberapa laporan kasus membuktikan bahwa terjadi kegagalan terapi ACT yang disebabkan adanya

resistensi terhadap regimen tersebut.<sup>5</sup> Salah satu biota laut yang belum banyak dieksplorasi mengenai khasiat antimalaria nya adalah *Holothuria atra* (Teripang keling). *H. atra* merupakan invertebrata dan memiliki kulit yang berduri terdapat senyawa aktif seperti flavonoid, terpenoid, saponin, dan alkaloid yang bermanfaat sebagai antimalaria.<sup>6,7</sup> Pelarut etanol dapat berfungsi sebagai bahan pelarut dalam proses ekstrak karena sifat etanol yang polar sehingga dapat melarutkan senyawa polar misalnya alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin<sup>8</sup>

Ulasan serta fenomena yang dipaparkan pada paragraf sebelumnya, menjadi landasan bagi peneliti untuk melakukan penelitian eksperimental melalui studi in vitro untuk mengetahui ada atau tidaknya efek inhibisi dari kadar *P.falciparum* dengan pemberian ekstrak etanol teripang keling (*Holothuria atra*).

## **BAHAN DAN METODE**

Desain dan metode studi yang digunakan adalah penelitian eksperimental melalui studi in vitro dengan "Post test Only Kontrol Group Design". Penelitian ini akan terbagi menjadi 3 kelompok :

1. Kelompok pertama/K1: 10 media kultur *P.falciparum* tanpa pemberian ekstrak *H. atra* dan obat antimalaria
2. Kelompok kedua/K2: 10 media kultur *P.falciparum* dengan pemberian obat antimalaria
3. Kelompok ketiga/K3: 10 media kultur *P.falciparum* dengan pemberian ekstrak etanol *H. atra*

Sampel yang digunakan media kultur *P.falciparum* yang diperoleh dari ITD (*Tropical Disease Center*) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga serta Teripang keling *H. atra* diperoleh dari laut pulau Madura kecamatan Sapeken kabupaten Sumenep. Penelitian ini akan dilakukan di ITD FK Universitas Airlangga untuk kegiatan kultur *P.falciparum* dan pemberian ekstrak *H. atra*, FKH Universitas Airlangga untuk kegiatan ekstraksi *H. atra* dan Lab MIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember untuk proses uji taksonomi.

Penelitian ini terbagi menjadi 3 tahap yaitu preparasi dan ekstraksi, pembiakan *P.falciparum* serta pengujian aktivitas malaria in vitro dengan pengamatan pada kadar parasitemia, *inhibitory rate* dan IC<sub>50</sub>.

### **Preparasi dan Ekstraksi**

Penelitian dimulai dengan pengumpulan dan preparasi sampel. *H. atra* akan dipotong kecil, dikeringkan, dan dihaluskan menggunakan *hammer mills*. Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi dengan alat shaker selama 24 jam dan disimpan pada wadah kedap udara dan

dimasukkan ke pendingin. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol.

### Pembiakkan *Plasmodium falciparum*

Proses pembentukan media biakkan akan terbagi menjadi 2 yaitu media lengkap dan tak lengkap yang akan dimanfaatkan untuk biakkan *P.falciparum* secara in vitro dengan menggunakan parasit *Plasmodium falciparum* dengan strain 3D7.

Pengujian aktivitas antimalaria diawali dengan preparasi suspensi sel parasit dengan kadar kadar parasitemianya 1 % serta hematokritnya 10%. Sebanyak 500  $\mu$ l suspensi sel parasit dimasukkan kedalam 15 well yang telah diisi larutan uji.

Sampel ekstrak etanol *H.atra* dibuat berdasarkan metode Trager and Jensen (1976). Konsentrasi ekstrak *H.atra* bertingkat dari konsentrasi tertinggi 100  $\mu$ g/ml ; 10  $\mu$ g/ml ; 1  $\mu$ g/ml ; 0,1  $\mu$ g/ml ; dan konsentrasi terendahnya 0,01  $\mu$ g/ml. Larutan ekstrak akan dimasukkan ke *microwell* bersamaan dengan suspensi parasit lalu dimasukkan ke dalam *candle jar* dan dilakukan inkubasi hingga 48 jam dengan suhu 37°C.<sup>9</sup>

### Uji Aktivitas Antiplasmodim *H.atra*

Aktivitas antiplasmodium akan diamati dan diukur dengan pemeriksaan kadar parasitemia, *inhibitory rate* serta IC<sub>50</sub>.

1. Pemeriksaan kadar parasitemia dilakukan untuk melihat berapa banyak

total eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum* pada kurang lebih 5000 eritrosit yang diperiksa. Rumus untuk pemeriksaan kadar parasitemia sebagai berikut :

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\text{Jumlah Eritrosit yang terinfeksi}}{5000} \times 100\%$$

2. Kepiawaian senyawa yang akan diuji dalam menginhibisi perkembangan membandingkan parasitemia uji dan kontrol negatif. Rumus *inhibitory rate* sebagai berikut.

$$\% \text{ Inhibisi} = 100\% - \frac{\text{Parasitemia larutan uji}}{\text{Parasitemia kontrol negatif}} \times 100\%$$

3. *Inhibitory concentration* (IC<sub>50</sub>) untuk menginhibisi sekitar 50% dari pertumbuhan parasit yang memerlukan konsentrasi obat tertentu. Untuk menghitung IC<sub>50</sub> menggunakan analisis *probability unit* (probit) dengan menghubungkan kurva probit persen inhibisi dengan logaritma konsentrasi sampel memakai persamaan garis regresi linier.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengukuran Kadar Parasitemia

**Tabel 1** Persentase rerata parasitemia tiap kelompok

Grup	Dosis ( $\mu\text{g/ml}$ )				
	0,01	0,1	1	10	100
<b>K1</b>	6,73	6,73	6,73	6,73	6,73
<b>K2</b>	3,67	2,79	2,09	1,46	0
<b>K3</b>	6,36	5,44	3,96	2,88	0

Pada kelompok 1 persentase parasitemia pada kelima dosis sama sebab dalam kelompok kontrol negatif tidak ada perlakuan yang diberikan selain media perkembangan bagi *P.falciparum*. Kelompok 2 menunjukkan bahwa kadar parasitemia tertinggi terjadi pada pemberian dosis klorokuin yang terkecil yaitu 0.01  $\mu\text{g/ml}$ , sebaliknya angka kadar parasitemia terendah (0) ada pada pemberian dosis klorokuin tertinggi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Kelompok 3 menunjukkan hasil yang sama dengan kelompok 2 dimana pemberian dosis makin besar berkaitan dengan kadar parasitemia yang rendah. Pada tabel diatas juga menunjukkan bahwa kadar parasitemia kelompok 2 lebih rendah dari kelompok 3 pada pemberian dosis yang sama. Namun pada pemberian dosis 100  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan persamaan kadar parasitemia yaitu 0. Kelompok 1 terdapat data yang homogen karena kelompok 1 tidak diberi perlakuan atau sebagai kontrol negatif. Kelompok 2 sebagai kelompok kontrol positif menunjukkan aktivitas antimalaria yang sangat tinggi hal ini disebabkan sampel yang digunakan adalah parasit yang sensitif dengan klorokuin (*P.falciparum*

strain 3D7). Mekanisme dari klorokuin yaitu didalam eritrosit yang terinfeksi terdapat asam amino dan heme bebas yang dimiliki parasit, klorokuin akan mendetoksifikasi dengan merubahnya menjadi kristal tidak larut hemozoin ( $\text{Fe}^{3+}$  protoforfirin) hal ini dapat terjadi karena degradasi hemoglobin inang oleh protease parasit untuk kebutuhan vital. Klorokuin menekan parasit tidak hanya dengan berikatan dengan DNA/RNA, bisa juga dengan efek dari basa lemah klorokuin yang strukturnya seperti heme. Klorokuin basa lemah akan menghalangi pembentukan hemozoin yang mengakibatkan toksisitas heme dan kematian dari parasit *P.falciparum*.<sup>10</sup>

Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Moelyadi *et al* (2020) penelitian yang dilakukan menggunakan studi in silico menunjukkan *H.atra* memiliki komponen aktif seperti katekin dan pirogalol yang mampu menghambat pertumbuhan *P.falciparum* dengan cara berikatan dengan protein pada *P.falciparum* yang mengakibatkan perubahan morfologi dan perubahan fisiologi pada perkembangan dari *P.falciparum* serta

menginhibisi pertumbuhan *P.falciparum* dalam tahap trofozoit dan skizont dengan menginduksi mekanisme stress oksidatif .<sup>11</sup>

**Inhibitory Rate**

**Tabel 2** Hasil pengukuran *inhibitory rate*

Grup	Dosis (µg/ml)			
	0,01	0,1	1	10
<b>K1</b>	0	0	0	0
<b>K2</b>	53,68	69,12	81,40	92,46
<b>K3</b>	6,58	22,72	48,60	67,63

Kelompok 1 data yang didapatkan persentase pertumbuhannya sama karena sampel tidak mendapat perlakuan (kontrol negatif). Kelompok 2 pertumbuhan *P.falciparum* tertinggi pada dosis ,01 µg/ml

Dari pengukuran diatas, hal yang dapat menghalangi pertumbuhan yang terjadi pada kelompok 2 dan 3 karena efek inhibisi pertumbuhan *P.falciparum* dari aktifitas antimalaria pada komponen ekstrak etanol *H.atra* yang bekerja melalui berbagai jalur serta mekanisme klorokuin dalam menekan angka pertumbuhan *P.falciparum*. Mekanisme kerja ekstrak teripang keling dalam menghambat *P.falciparum* belum diketahui secara pasti, namun dalam studi lain telah dibuktikan jika masing-masing komponen yang terkandung dalam ekstrak *H.atra* mempunyai aktivitas antimalaria melalui

jalur sebagai berikut : (1) Alkaloid. Senyawa 16-demethoxycarbonylvoacamine yang merupakan turunan dari alkaloid memiliki fungsi sebagai antimalaria dengan melawan *P.falciparum* 3D7.<sup>12</sup> (2) Flavonoid. Menginhibisi transport nutrisi yang dibutuhkan parasit *P.falciparum* pada NPP (*new permeation pathway*) serta menghambat proses degradasi hemoglobin *P.falciparum*.<sup>13</sup> (3) Saponin. Glinoside A menunjukkan aktivitas anti-plasmodial dengan melawan strain *P.falciparum* 3D7(sensitif klorokuin) dan mampu untuk melubangi dinding membran sel sehingga dapat melisiskan eritrosit.<sup>14</sup> (4) Terpenoid. Limoene menyebabkan hambatan proliferasi *P.falciparum*.<sup>15</sup>

***Inhibitory Concentration 50/ IC<sub>50</sub>***

**Tabel 3** Hasil pengukuran IC 50

Grup	Dosis ( $\mu\text{g/ml}$ )					IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
	0,01	0,1	1	10	100	
<b>K2</b>	53,68	69,12	81,40	92,46	-	0,04
<b>K3</b>	6,58	22,72	48,60	67,63	-	1,54

Berdasarkan analisis Probit SPSS untuk IC<sub>50</sub> konsentrasi ekstrak teripang yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan *P.falciparum* yang diberikan ekstrak *H.atra* pelarut etanol adalah 1,54  $\mu\text{g/ml}$ . sedangkan IC<sub>50</sub> klorokuin yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan adalah 0,04  $\mu\text{g/ml}$ . Dosis 100  $\mu\text{g/ml}$  tidak dilakukan pengukuran oleh karena eritrosit dapat dilakukan pengamatan serta penghitungan *inhibitory rate*.

Ketetapan WHO dan kriteria dasar dalam kegiatan meneliti obat antiparasit bahan ekstrak dikategorikan menjadi 4 kelas IC<sub>50</sub>. Dari keempat kelas tersebut terdiri dari: aktivitas tinggi (IC<sub>50</sub>  $\leq$  5  $\mu\text{g/ml}$ ) ; aktivitas yang menjanjikan (5  $\mu\text{g/ml}$  < IC<sub>50</sub>  $\leq$  15  $\mu\text{g/ml}$ ); aktivitas sedang (15  $\mu\text{g/ml}$  < IC<sub>50</sub>  $\leq$  50  $\mu\text{g/ml}$ ) ; aktivitas lemah (IC<sub>50</sub> > 50  $\mu\text{g/ml}$ ). Senyawa murni diartikan sebagai sangat aktif saat IC<sub>50</sub>  $\leq$  1  $\mu\text{g/ml}$  <sup>16</sup>. Berdasarkan kriteria tersebut ekstrak etanol *H.atra* mempunyai aktivitas antimalaria yang tinggi.

Pelarut etanol yang bersifat polar mempunyai berbagai kelebihan yaitu

menghasilkan volume ekstrak yang paling banyak dibandingkan pelarut lain.<sup>17</sup> Etanol dapat melarutkan berbagai komponen aktif dalam suatu biota, sehingga pelarut ini memang secara umum sering digunakan untuk pelarut ekstrak dibandingkan pelarut lainnya. Etanol dapat melarutkan senyawa polar seperti alkaloid, flavonoid dan saponin serta senyawa non-polar seperti terpenoid sehingga dapat membantu kandungan kimia dari ekstrak *H.atra* untuk memberikan hasil terhadap mekanismenya masing-masing.<sup>18</sup>

Dari semua parameter pengukuran aktivitas antimalaria dari ekstrak *H.atra* dengan pelarut etanol membuktikan bahwa teripang ini memiliki potensi yang besar sebagai kandidat baru terapi antimalaria.

Penelitian yang menggunakan ekstrak *H.atra* sebagai antimalaria secara in vitro belum pernah dilakukan, beberapa penelitian telah meneliti ekstrak *H.atra* dapat berperan sebagai anti-bakteri serta anti-fungi, sehingga besar kemungkinannya bahwa *H.atra* dapat berperan sebagai antimalaria. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sukmiwati *et al* (2020)

melaporkan bahwa dalam penelitiannya *H. atra* dapat memberikan aktifitas anti-bakterial pada *Pseudomonas aureginosa* dengan kandungan komponen aktif seperti saponin yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dengan cara bereaksi dengan membran sterol dari bakteri serta efek utamanya pada bakteri adalah melepaskan protein dan enzim dari sel.<sup>19</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Parishni dan Revianti (2013) menunjukkan bahwa penelitiannya terhadap *H. atra* menunjukkan aktifitas anti-fungal terhadap *Candida albicans* oleh karena kandungan aktifnya seperti saponin. Saponin dari *H. atra* berinteraksi terhadap membran sterol dan mengganggu keutuhan dari dinding sel yang akhirnya menyebabkan kematian sel.<sup>20</sup> Dari kedua penelitian tersebut terdapat hasil yang dapat telah lisis sehingga tidak menghambat pertumbuhan bakteri maupun fungi karena kandungan aktif dari *H. atra* yaitu saponin. Mekanisme saponin dari kedua penelitian tersebut sama-sama mengarah pada pembentukan lubang pada permukaan sel dan menyebabkan kematian sel.

## **KESIMPULAN**

Penggunaan ekstrak etanol teripang keling (*Holothuria atra*) memiliki efek antiplasmodial yang mampu menekan perkembangan *P. falciparum*. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol mempunyai aktivitas sebagai

antiplasmodial yang tinggi. Berdasarkan kesimpulan diatas dapat dilakukan eksplorasi lebih lanjut mengenai efek antiplasmodial *H. atra* menggunakan hewan coba atau secara in vivo untuk melihat efektivitas antiplasmodialnya, toksisitas dan efek samping dari kandungan ekstrak teripang keling (*Holothuria atra*).

## **KONFLIK KEPENTINGAN**

Penulis menyatakan bahwa tidak didapatkan adanya konflik kepentingan dengan pihak lain dalam menulis karya ilmiah.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada para profesional yang telah membantu penelitian dan penyusunan makalah, pemberi dana, bahan dan sarana penelitian, serta sponsor yang terkait.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. World Health Organization. WHO World Malaria Report 2020. Malaria report 2020. 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>
2. Lewinsca MY, Raharjo M. and Nurjazuli, N. Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kejadian Malaria Di Indonesia : Review Literatur 2016-2020. Jurnal Kesehatan Lingkungan,



- 2021;11(1):16–28.  
<https://doi.org/10.47718/jkl.v11i1.1339>
3. Moxon CA, Gibbins MP, McGuinness D, Milner DA, Marti M. *New Insights Into Malaria Pathogenesis. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 2020;15.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032640>
  4. Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. *Malaria: Biology and Disease. Cell.* 2016;167(3).  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.055>
  5. Talapko J, Škrlec I, Alebić T, Jukić M, Včev A. *Malaria: The Past and The Present. Microorganisms.* 2019;7(6): 1–17.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7060179>
  6. Dhinakaran DI, Lipton AP. *Bioactive Compounds From Holothuria atra of Indian Ocean. Springer Plus.* 2014;3(1):1–10.  
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-673>
  7. Pangestuti R, Arifin Z. *Medicinal and Health Benefit Effects of Functional Sea Cucumbers. Journal of Traditional and Complementary Medicine.* 2018;8(3):341–51.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.06.007>
  8. Qorina F, Arsianti A, Fithrotunnisa Q, Tejaputri NA. *Phytochemistry and Antioxidant Activity of Soursop (Annona muricata) Leaves. International Journal of Applied Pharmaceutics.* 2019;11(Special Issue 6).  
<http://dx.doi.org/10.22159/ijap.2019.v11s6.33524>
  9. Utami, PD and Yudho V. *High Antiplasmodial Activity of Golden Gamat (S.hermannii) Extract Through In Vitro Study. European Journal of Biology and Biotechnology.* 2021; 2(5): 19–23.  
<https://doi.org/10.24018/ejbio.2021.2.5.260>
  10. Coban C. *The Host Targeting Effect of Chloroquine in Malaria. Current Opinion in Immunology.* 2020; 66:98–107.  
<https://doi.org/10.1016/j.coi.2020.07.005>
  11. Moelyadi F, Utami PD, Dikman IM. *Inhibitory Effect of Active Substances of Lollyfish (Holothuria atra) Against the Development of Plasmodium falciparum Based on In Silico Study. Ilmu Kelautan: Indonesian Journal of Marine Sciences.* 2020;25(4):135–42.  
<https://doi.org/10.14710/ik.ijms.25.4.135-142>
  12. Uzor PF. *Alkaloids from Plants with Antimalarial Activity: A Review of*

- Recent Studies. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 2020; 1–17.  
<https://doi.org/10.1155/2020/8749083>
13. Widyawaruyanti A, Zaini NC. Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus champeden*). *Jbp.* 2011;13(2):67–77.
14. Dinda B, Debnath S, Mohanta BC, Harigaya Y. *Naturally Occurring Triterpenoid Saponins. Chemistry and Biodiversity.* 2010;7(10):2327–580.  
<https://doi.org/10.1002/cbdv.200800070>
15. Oluba OM. *Ganoderma Terpenoid Extract Exhibited Anti-plasmodial Activity by a Mechanism Involving Reduction in Erythrocyte and Hepatic Lipids in Plasmodium berghei Infected Mice. Lipids in Health and Disease.* 2019;18(1):1–9.  
<https://doi.org/10.1186/s12944-018-0951-x>
16. Hidayati AR, Widyawaruyanti A, Ilmi H, Tanjung M, Widiandani T, Siswandono, et al. *Antimalarial Activity of Flavonoid Compound Isolated From Leaves of Artocarpus altilis. Pharmacognosy Journal.* 2020;12(4):835–842.  
<http://dx.doi.org/10.5530/pj.2020.12.120>
17. Sibuea FSY. Ekstraksi Tanin dari Kluwak (*Pangium edule R.*) Menggunakan Pelarut Etanol dan Aquades dan Aplikasinya sebagai Pewarna Makanan. 2015; 2015: 1–49.
18. Ergina, Nuryanti S, Pursitasari ID. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Akademika Kimia.* 2014;3(3):165–172.
19. Sukmiwati M, Ilza M, Putri AE, Sidauruk SW. *Antibacterial Activity of Sea Cucumber (Holothuria atra) Against Pseudomonas aeruginosa. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* 2020; 404(012047):1–7.  
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/404/1/012047>
20. Parisihni K, Revianti S. *Antifungal effect of Sticophus hermannii and Holothuria atra Extract and Its Cytotoxicity on Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cell. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi).* 2013;46(4):218.  
<https://doi.org/10.20473/j.djmk.v46.i4.p218-223>