



DAFTAR ISI

JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ARTI SINGKATAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
1. Perumusan masalah	6
2. Keaslian penelitian	7
3. Urgensi penelitian	9
B. Tujuan Penelitian	10
1. Tujuan umum	10
2. Tujuan khusus	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
A. Penyakit Malaria	11
1. Malaria dan plasmodium	11
2. Klasifikasi obat antimalaria	16
3. Target dan mekanisme aksi obat antimalaria	19
a. Target pada sitosol	19
b. Target pada vakuola makanan	20
c. Target pada apikoplas	25
B. Tanaman <i>A. annua</i> dan Artemisinin	25
1. Tanaman <i>A. annua</i>	25
2. Artemisinin	27
3. Biosintesis artemisinin	30
C. Fungi Endofit	35
1. Definisi dan hubungan antara endofit dengan inangnya	35
2. Eksplorasi senyawa aktif dari endofit	39



D. Fermentasi	43
1. Definisi dan tujuan	43
2. Jenis teknik fermentasi	45
3. Media fermentasi	47
E. Teknik Pemisahan	55
1. Kromatografi lapis tipis	55
2. Kromatografi cair vakum	58
F. Keterangan Empiris	59
BAB III METODE PENELITIAN	60
A. Bahan Penelitian	60
B. Alat Penelitian	61
C. Jalannya Penelitian	63
1. Isolasi fungi endofit dari <i>A. annua</i>	63
2. Fermentasi fungi endofit	63
3. Skrining fungi endofit yang mempunyai aktivitas sebagai antimalaria menggunakan metode inhibitor polimerisasi hem	64
4. Identifikasi fungi endofit	65
5. Penentuan media terpilih untuk fermentasi	66
6. Isolasi senyawa aktif	67
7. Uji aktivitas antiplasmodium	68
a. Penyiapan kultur <i>P. falciparum</i> strain FCR-3	68
b. Uji aktivitas antiplasmodium	70
c. Pembuatan apusan darah tipis dan pengamatan parasitemia	71
8. Identifikasi senyawa aktif	72
D. Variabel Penelitian	72
E. Definisi Operasional Variabel	73
F. Analisis Hasil	74
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	76
A. Skrining Fungi Endofit <i>A. annua</i> sebagai Inhibitor Polimerisasi Hem	76
1. Isolasi fungi endofit	76
2. Fermentasi fungi Endofit	82
3. Skrining aktivitas inhibitor polimerisasi hem metabolit fungi endofit <i>A. annua</i>	91
B. Pemilihan Media yang Sesuai dan Waktu Panen Metabolit Fungi Endofit	97
1. Pemilihan media yang sesuai	99
2. Penentuan waktu panen	109



C. Identifikasi Fungi Endofit IP-2	110
1. Identifikasi secara mikroskopis	110
2. Identifikasi secara molekuler	112
D. Isolasi Senyawa Aktif dengan Menggunakan Aktivitas Inhibitor Polimerisasi Hem sebagai Penuntun.....	118
E. Aktivitas Antiplasmodium Isolat 1 dan 2.....	123
F. Identifikasi Senyawa Aktif Isolat 1	128
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	134
A. Kesimpulan	134
B. Saran	135
DAFTAR PUSTAKA.....	136
LAMPIRAN	
RINGKASAN	
SUMMARY	
PUBLIKASI	



DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Tingkat keparahan penyakit malaria yang disebabkan 4 jenis plasmodium ...	15
Tabel 2.	Kandungan artemisinin dalam <i>A. annua</i> yang tumbuh di berbagai negara	29
Tabel 3.	Ciri-ciri morfologi fungi endofit tanaman <i>A. annua</i>	82
Tabel 4.	Kandungan gizi dalam 100 g umbi kentang	83
Tabel 5.	Bobot sel kering hasil fermentasi fungi endofit tanaman <i>A. annua</i>	85
Tabel 6.	Berat ekstrak hasil fermentasi fungi endofit tanaman <i>A. annua</i>	90
Tabel 7.	Hasil skrining aktivitas inhibitor polimerisasi fungi endofit tanaman <i>A. annua</i>	94
Tabel 8.	Bobot sel kering hasil fermentasi IP-2 dalam 4 jenis media	100
Tabel 9.	Hasil pengukuran persentase penghambatan hasil fermentasi fungi IP-2 dalam berbagai media	106
Tabel 10.	Persentase kesamaan urutan DNA fungi IP-2 dengan beberapa spesies fungi yang lain.....	113
Tabel 11.	Hasil fraksinasi fungi endofit IP-2.....	119
Tabel 12.	Hasil uji aktivitas inhibitor polimerisasi hem fraksi A-D.....	120
Tabel 13.	Hasil uji aktivitas inhibitor polimerisasi hem fraksi B1 dan B2	121
Tabel 14.	Persentase penghambatan pertumbuhan <i>P. falciparum</i> FCR-3 dan nilai IC ₅₀ setelah diberi perlakuan dengan isolat 1, isolat 2 dan klorokuin dengan masa inkubasi 72 jam.....	124



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Epidemiologi malaria di dunia.....	2
Gambar 2. Perbandingan persentase kasus malaria tropika 2006-2010 di Asia.....	3
Gambar 3. Siklus hidup plasmodium.....	12
Gambar 4. Gambaran <i>malarial/fever paroxysm</i> akibat infeksi 4 jenis plasmodium	16
Gambar 5. Struktur kimia beberapa senyawa antimalaria	17
Gambar 6. Metabolisme folat	19
Gambar 7. Jalur metabolisme hemoglobin	21
Gambar 8. Jalur detoksifikasi hem bebas yang terjadi pada plasmodium	22
Gambar 9. Tanaman <i>A. annua</i>	26
Gambar 10. Jalur biosintesis artemisinin secara ringkas	30
Gambar 11. Tahapan biosintesis artemisinin	31
Gambar 12. Tahap 1 pada biosintesis artemisinin	32
Gambar 13. Biosintesis artemisinin tahap 2	34
Gambar 14. Biosintesis artemisinin tahap 3	35
Gambar 15. Jumlah paten endofit yang mampu menghasilkan metabolit aktif	37
Gambar 16. Kriptokandin A	40
Gambar 17. Kriptosin	40
Gambar 18. Pestasin	41
Gambar 19. Sordarisin	41
Gambar 20. Taksol.....	42
Gambar 21. <i>Cytochalasin</i>	42
Gambar 22. Struktur senyawa kimia phomalakton (1), 6-(1-propenil)-3,4,5,6-tetrahidro-5-hidroksi-4H-piran-2-on (2) dan 5-hidroksimellein (3)	43
Gambar 23. Kurva pertumbuhan mikroorganisme	48
Gambar 24. Skema penelitian.....	62
Gambar 25. Gambaran pertumbuhan fungi endofit pada hari ke-4 inkubasi	79
Gambar 26. Fungi endofit yang berasal dari tanaman <i>A. annua</i>	80
Gambar 27. Beberapa ciri morfologi untuk identifikasi fungi	81
Gambar 28. Profil pertumbuhan fungi endofit <i>A. annua</i> dalam media PDB.....	86
Gambar 29. Kurva hubungan antara ln biomassa sel dengan waktu fermentasi untuk penentuan nilai μ	87
Gambar 30. Nilai laju pertumbuhan (μ) keenam fungi endofit tanaman <i>A. annua</i>	88
Gambar 31. Kurva pertumbuhan diauksi.....	89
Gambar 32. Hasil skrining aktivitas inhibitor polimerisasi hem fungsi endofit tanaman <i>A. annua</i>	95
Gambar 33. Persentase penghambatan parasitemia setelah diberi perlakuan dengan fungi endofit IP-2 dan IP-6	96



Gambar 34. Produksi metabolit yang <i>non growth-dependent</i>	98
Gambar 35. Profil pertumbuhan fungi IP-2 dalam 4 jenis media	101
Gambar 36. Laju pertumbuhan fungi IP-2 dalam berbagai media	104
Gambar 37. Profil pertumbuhan sel dan produksi metabolit fungi IP-2 dalam berbagai media	108
Gambar 38. Gambaran ciri morfologi fungi endofit IP-2 yang dilihat secara mikroskopis dengan perbesaran 400 x	111
Gambar 39. Bentuk percabangan konidiofor pada <i>Penicillium sp</i>	111
Gambar 40. Hubungan kekerabatan fungi IP-2 dengan fungi-fungi yang lain.....	113
Gambar 41. Struktur kimia (1) penisidon, (2) penisidon B dan (3) penisidon C	114
Gambar 42. Senyawa hasil isolasi dari <i>Penicillium sp.</i> fungi endofit dalam <i>H. haihanensis</i>	115
Gambar 43. Brefeldin A	116
Gambar 44. Penisinolin	116
Gambar 45. Metabolit <i>P. namyslowskii</i>	117
Gambar 46. Hasil fraksinasi fungi endofit IP-2 menggunakan KCV	118
Gambar 47. Kromatogram ke-13 fraksi	119
Gambar 48. Aktivitas inhibitor polimerisasi hem fraksi-fraksi fungi endofit IP-2 yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (mg/ml)	122
Gambar 49. Persentase penghambatan isolat 1 dan 2 terhadap <i>P. falciparum</i> FCR-3 masa inkubasi 72 jam	123
Gambar 50. Skema isolasi senyawa aktif dalam fungi endofit IP-2	126
Gambar 51. Spektrum LC isolat 1	128
Gambar 52. Spektrum MS senyawa dominan dalam isolat 1 (T_R : 4,22 menit)	129
Gambar 53. Kromatogram setelah disemprot dengan pereaksi Lieberman Burchard	130
Gambar 54. Spektrum 1H -NMR	132
Gambar 55. Spektrum ^{13}C -NMR	133



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman
- Lampiran 2. Kurva baku hematin
- Lampiran 3. Penentuan IC_{50} fungi IP-1 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 4. Penentuan IC_{50} fungi IP-2 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 5. Penentuan IC_{50} fungi IP-3 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 6. Penentuan IC_{50} fungi IP-4 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 7. Penentuan IC_{50} fungi IP-5 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 8. Penentuan IC_{50} fungi IP-6 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 9. Penentuan IC_{50} klorokuin sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 10. Hasil uji statistik nilai IC_{50} fungi endofit IP-1 sampai IP-6
- Lampiran 11. Bobot sel kering fungi IP-2 dalam 4 jenis media
- Lampiran 12. Hasil uji statistik nilai μ fungi endofit IP-2 dalam 4 jenis media
- Lampiran 13. Data-data untuk identifikasi spesies fungi IP-2
- Lampiran 14. Hasil analisis MS untuk identifikasi kandungan artemisinin
- Lampiran 15. Penentuan IC_{50} fraksi A sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 16. Penentuan IC_{50} fraksi B sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 17. Penentuan IC_{50} fraksi C sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 18. Penentuan IC_{50} fraksi D sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 19. Penentuan IC_{50} fraksi B1 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 20. Penentuan IC_{50} fraksi B2 sebagai inhibitor polimerisasi hem
- Lampiran 21. Penentuan IC_{50} Isolat 1 sebagai antiplasmodium
- Lampiran 22. Penentuan IC_{50} Isolat 2 sebagai antiplasmodium
- Lampiran 23. Penentuan IC_{50} klorokuin sebagai antiplasmodium



ARTI SINGKATAN

ACTs	<i>Artemisinin-based Combination Therapies</i>
API	<i>Annual Parasite Incidence</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
B ₂ P ₂ TO2T	Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional
DHFR	<i>Dihydrofolate Reductase</i>
DHPS	<i>Dihydropteroate Synthase</i>
DMAPP	Dimetil Alil Pirofosfat
DMSO	Dimetil Sulfoksida
ESI-MS	<i>Electrospray Ionisation-Mass Spectrometry</i>
FPP	Farnesil Pirofosfat
FPPS	Farnesil Pirofosfat Sintase
FPIX	Ferriprotoporfirin IX
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
IPP	Isopentenil Pirofosfat
KCV	Kromatografi Cair Vakum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
LC-MS	<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i>
LSD	<i>Least Significant Differences</i>
MCM	<i>Malaria Culture Media</i>
cMCM	<i>complete Malaria Culture Media</i>
MEP	<i>Methyl Erithrytol Phosphate</i>
MS	<i>Mass Spectroscopy</i>
MVA	<i>Mevalonic Acid</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
rpm	<i>Rotation Per Minute</i>
pABA	<i>Para Amino Benzoic Acid</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
PDB	<i>Potato Detrose Broth</i>
SDA	<i>Sabouroud Dextrose Agar</i>
SDB	<i>Sabouroud Dextrose Broth</i>
TOF-MS	<i>Time-of-flight Mass Spectrometry</i>
UV	Ultra Violet