

# PRODUKSI SENYAWA ANTIMALARIA DARI KALUS Sonchus arvensis L. : UPAYA PENANGANAN PENYAKIT INFEKSI

*by* Edy Setiti Wida Utami

---

**Submission date:** 10-Apr-2018 12:36PM (UTC+0800)

**Submission ID:** 944133248

**File name:** an\_Pelaksanaan\_Pen\_Stratnas\_No\_616.\_H3.13.\_PPd.\_2009.\_Ketua.pdf (503.01K)

**Word count:** 7771

**Character count:** 42696

KESEHATAN

67

## LAPORAN

**HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN SESUAI PRIORITAS NASIONAL  
BATCH I  
(CLUSTER GIZI DAN KESEHATAN)  
TAHUN ANGGARAN 2009**



**PRODUKSI SENYAWA ANTIMALARIA  
DARI KALUS *Sonchus arvensis* L. :  
UPAYA PENANGANAN PENYAKIT INFEKSI**

**TIM PENELITI**

**Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS.  
Dra. Wiwied Ekasari, MSi. Apt.  
Dwi Kusuma Wahyuni, SSi., MSi.  
Tutik Sri Wahyuni, SSi. MSi. Apt.**

DIBIYAI OLEH DIRJEND PENDIDIKAN TINGGI DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
Sesuai Dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Kegiatan Penelitian Stratnas  
Kluster Gizi dan Kesehatan Tahun Anggaran 2008  
Nomor: 616/H3.13/PPd/2009 Tanggal: 9 Juli 2009

**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
DESEMBER 2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul : Produksi Senyawa Antimalaria dari kalus *Sonchus Arvensis* : Upaya Penanganan Penyakit Inveksi.
2. Ketua Pelaksana
- a. Nama : Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS
  - b. Jenis kelamin : Perempuan
  - c. NIP : 131406062
  - d. Bidang Keahlian : Kultur Jaringan Tanaman
  - e. Pangkat/gol / Jabatan : Pembina Tingkat I/ IV-b/ Lektor Kepala
  - f. Fakultas : Sains dan Teknologi
  - g. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

### Tim Peneliti

No.	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas	Perguruan Tinggi
1.	Dra. Wiwied Ekasari, MSi. Apt.	Farmasi Bahan Alam	Farmasi	Unair
2.	Dwi Kusuma W, SSi., MSi.	Kultur JaringanTumb	Saintek	Unair
3.	Tutik Sri Wahyuni, SSi. MSi. Apt.	Farmasi Bahan Alam	Farmasi	Unair

30

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
- a. Jangka Waktu Kegiatan : 1 tahun
  - b. Biaya yang diusulkan : Rp. 100.000,00
  - c. Biaya yang disetujui : Rp. 90.000,00

Surabaya, Desember 2009

Mengetahui,  
Dekan FST Universitas Airlangga

Ketua Pelaksana

Drs. Salamun, M.Kes.  
NIP. 131696506

Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS.  
NIP. 131406062

66  
Mengetahui,  
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat

Prof. Dr. Bambang Sektiari Lukiswanto, DEA., drh.  
NIP. 131837004

## RINGKASAN

Penelitian Produksi Senyawa Antimalaria dari kalus *Sonchus Arvensis* L. : Upaya Penanganan Penyakit Inveksi pada tahun pertama ini bertujuan untuk 1) mengetahui zat pengatur tumbuh yang dapat menginduksi terbentuknya kalus, 2) mengetahui pengaruh pemberian sukrosa dan elisitor terhadap pertumbuhan kalus; 3) mengetahui jenis elisitor yang dapat memacu terbentuknya senyawa antimalaria, 4) mengetahui profil golongan senyawa yang terdapat dalam kalus *Sonchus arvensis* L., 5) mengetahui aktifitas antimalaria dari masing-masing elisitor yang terdapat dalam kalus *Sonchus arvensis* L.. Bahan penelitian adalah daun *Sonchus Arvensis* L. yang disterilisasi dengan menggunakan Natrium Hypoclorit 5,25% dan ditanam pada medium Murashige & Skoog (MS) dengan perlakuan zat pengatur tumbuh 2,4 D, IAA, IBA, NAA 1ppm dan atau tanpa BAP 0,5 ppm, sukrosa (1% ; 2% ; 3% ; 4% ; 5%) dan elisitor Glutamin (0,25 g dan 0,5 g); Ammonium nitrat (0,5 g dan 1,0 g) ; Kalium nitrat (0,5 g dan 1,0 g) ; Kalium fosfat (0,1 dan 0,2 g) ; Kontrol (tanpa elisitor). Uji aktivitas antimalaria dilakukan secara *in vitro* menggunakan *Plasmodium falciparum*. Identifikasi kandungan senyawa dilakukan dengan KLT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan hormon 2,4 D 1ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 3% pada kondisi gelap menginduksi kalus tercepat (minggu ke-2). Pemberian elisitor tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus, perlakuan elisitor (Glutamin 500 g ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,5 g dan 1,0 g) menunjukkan aktifitas positif antimalaria dengan nilai  $\text{IC}_{50} = 1-10 \mu\text{g/mL}$ , dengan kandungan golongan senyawa flavonoid.

**Kata kunci** : *Sonchus Arvensis* L., kalus, elisitor, antimalaria.

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat limpahan rahmatNya, penelitian ini telah terlaksana walaupun belum sebagaimana penulis harapkan. Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga
2. Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga
3. Ketua Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga
4. Pengelola Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Fakultas Teknologi Pangan Universitas Tjuh Belas Agustus Surabaya
5. Kepala Bagian Fitokimia & Farmakognosi dan Pengelola Laboratorium Uji Antimalaria Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
6. Rekan-rekan yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini yang belum penulis sebutkan satu persatu

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan tulisan ini. Akhirnya semoga penelitian ini bermanfaat.

Surabaya, Desember 2009

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	1
RINGKASAN	3
PRAKATA	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR TABEL	6
DAFTAR GAMBAR	7
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	8
1.2 Rumusan Masalah	9
BAB II STUDI PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang Tempung	11
2.2 Kandungan dan Fungsi Bahan Aktif Tempuyung	11
2.3 Induksi Kalus dan Berbagai Penelitian Terkait	11
2.4 Uji Antimalaria Secara <i>In Vitro</i>	13
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN BAB III.	
3.1 Tujuan Penelitian	14
3.2 Manfaat Penelitian	14
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian	15
4.2. Bahan Penelitian	15
4.3. Alat Penelitian	15
4.4. Prosedur Penelitian	15
4.5. Analisis Data	21
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1. Induksi dan Perbanyakan Kalus	22
5.2. Ekstraksi Kalus	26
5.3. Identifikasi Dengan Kromatografi Lapis Tipis	27
5.4. Uji Antimalaria	28
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	30
6.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	34

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Macam eksplan, media, elisitor, dan <sup>26</sup> Zat Pengatur Tumbuh yang digunakan untuk induksi kalus pada berbagai tanaman .....	12
5.1. Waktu induksi kalus, morfologi kalus, dan persentase eksplan membentuk kalus setelah di inkubasi selama 4 minggu .....	22
5.2. Rerata berat basah dan berat kering kalus dari eksplan helaian daun pada berbagai perlakuan sukrosa + 2,4 D 1 ppm + BAP 0,5 ppm pada kondisi gelap .....	24
5.3. Rerata berat basah dan berat kering kalus yang dikultur pada media MS + 2,4 D i ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 3 % pada kondisi gelap dengan bergai perlakuan elisitor .....	25
5.4. Hasil ekstraksi kalus <i>Sonchus arvensis</i> L. ....	26
5.5. Persentase parasitemia, pertumbuhan, dan hambatan <i>P. falciparum</i> 3D7 oleh ekstrak <i>Sonchus arvensis</i> L. ....	28
5.6. Nilai IC <sub>50</sub> dari ekstrak kalus <i>Sonchus arvensis</i> L. ....	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
5.1. Pertumbuhan kalus <i>Sonchus arvensis</i> L pada media MS dengan perlakuan 2,4 D 1 ppm + BAP 0,5 ppm. A. Awal penanaman; B. Minggu ke-4 setelah dikultur .....	23
5.2. Pertumbuhan kalus <i>Sonchus arvensis</i> L pada media MS dengan perlakuan 2,4 D 1 ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 30 g. A. Awal penanaman; B. Minggu ke-4 setelah dikultur .....	24
5.3. Pertumbuhan kalus <i>Sonchus arvensis</i> L pada media MS dengan perlakuan 2,4 D 1 ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 50 g + elisitor KNO <sub>3</sub> 0,5 g. A. Awal penanaman; B. Minggu ke-4 setelah dikultur .....	25
5.4. Kromatogram hasil KLT menggunakan fase gerak kloroform : Metanol (95%:5%) dengan penampak noda uap amoniak .....	73 27



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Infeksi malaria merupakan masalah klinik bagi negara tropik maupun subtropik, bagi negara berkembang maupun negara maju. Sebanyak 2,4 milyar penduduk dunia beresiko tinggi tertular penyakit malaria dan penyakit ini telah menimbulkan endemik di berbagai negara yang sedang berkembang. Malaria masih menjadi penyakit infeksi utama di Indonesia. Masalah mortalitas malaria berat dan morbiditas mempunyai kaitan erat dengan timbulnya resistensi pengobatan dan kewaspadaan terhadap diagnosa dini serta penanganannya (Ekasari, 2001).

Terapi antimalaria yang telah ada yaitu dengan kina dan derivatnya. Permasalahan yang timbul dari terapi obat-obatan tersebut adalah resistensi dan sensitivitas. Resistensi atau kekebalan parasit malaria (*Plasmodium*) terhadap beberapa jenis obat antimalaria memang bukan hal baru. Munculnya resistensi pertama kali dilaporkan 1973 dari Kutai, Kalimantan Timur yaitu kasus *Plasmodium falciparum* resisten terhadap klorokuin. Kasus lain terjadi pada obat antimalaria artemisin namun resistensi ini terjadi jika digunakan sebagai monoterapi (WHO, 1987).

Upaya penanggulangan penyakit malaria terus dilakukan terutama pencarian obat antimalaria baru. Saat ini trend pengobatan masyarakat mengarah pada bahan alam atau *back to nature*. Pengobatan dengan bahan alam dipercaya masyarakat memiliki efek samping lebih ringan dan relatif mudah didapat dipasaran. Indonesia memiliki lebih kurang 30.000 jenis tanaman obat, namun hanya 1000 jenis tanaman yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat dalam upaya penyembuhan dan pencegahan suatu penyakit, peningkatan daya tahan tubuh dan pengembalian kesegaran tubuh. Senyawa flavonoid dari kelompok *Asteraceae* termasuk *Sonchus arvensis* L. merupakan salah satu tanaman yang berpotensi digunakan untuk pengobatan malaria secara empiris (Budavari, 2001).

Tanaman *Sonchus arvensis* L. adalah tanaman obat Indonesia yang hidup liar dan belum banyak dibudidayakan, padahal kandungan senyawa aktifnya yang berupa flavonoid, saponin, zat samak dan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan, hepatoprotektor, diuretic dan antimalaria. Kandungan bahan aktif daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L) mempunyai kesamaan dengan kandungan

bahan aktif daun tanaman *Artemisia annua* yaitu saponin, flavonoid, polyfenol dan minyak atsiri. <sup>17</sup> Tanaman *Artemisia* adalah penghasil artemisin yang mempunyai khasiat cepat menghilangkan gejala klinis dan cepat mengeliminasi parasit dalam darah, selama ini digunakan sebagai antimalaria (Yunita dan Lestari, 2008).

Pengambilan di alam secara langsung dapat menimbulkan masalah hilangnya sumber plasma nuftah karena adanya kendala dalam budidayanya. Bahkan saat ini disinyalir bahwa bahan herbal yang diedarkan di Indonesia sebagian besar bahan bakunya sudah mulai diimpor dari beberapa negara, sehingga diperlukan peran bioteknologi untuk mengatasi hal ini.

Secara kultur jaringan dapat diproduksi metabolit sekunder yang sama dengan metabolit sekunder yang diproduksi oleh tanaman aslinya. Produksi senyawa aktif suatu tanaman dengan kultur jaringan telah banyak dilaporkan, bahkan untuk skala komersial telah dilakukan pengembangan produksi metabolit sekunder tanaman obat tersebut dengan sistem bioreaktor (Radji, 2005).

Metode produksi senyawa aktif melalui teknik kultur jaringan melalui kultur kalus dipandang jauh lebih efisien jika dibandingkan dengan cara konvensional, karena didalamnya dapat dilakukan perekayasa sehingga diperoleh senyawa aktif dengan kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan secara konvensional (Syamkumar *et al.*, 2007). Penggunaan elisitor dapat memacu produksi metabolit yang diinginkan (Murch *et al.*, 2000; Vanisree *et al.*, 2004).

Kultur kalus *Sonchus arvensis* L. telah berhasil dilakukan, dengan tingkat keberhasilan proliferasi sel sangat cepat sehingga diperoleh kalus dalam jumlah banyak dalam waktu singkat, namun sampai sejauh ini belum ada laporan tentang uji bahan aktif yang terdapat dari kalus yang didapat, sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam kalus *Sonchus arvensis* L.. Kajian tentang senyawa aktif *Sonchus arvensis* L. sebagai antimalaria juga belum banyak dilaporkan, sehingga penelitian yang mengungkap potensi senyawa aktif *Sonchus arvensis* L. sebagai antimalaria dari kultur kalus penting untuk dikembangkan.

<sup>72</sup>

## **1.2 Rumusan Masalah**

Dari latar belakang pada penelitian tahun pertama ini dapat diambil permasalahan sebagai berikut: 1) Zat pengatur tumbuh apa yang dapat menginduksi terbentuknya kalus?; 2) Bagaimana pengaruh pemberian sukrosa dan elisitor terhadap pertumbuhan kalus?; 3) Golongan senyawa apa saja yang

terdapat dalam kalus *Sonchus arvensis* L. ?; 4) Bagaimana aktifitas antimalaria dari masing-masing elisitor yang terdapat dalam kalus *Sonchus arvensis* L. ?  
5) Jenis elisitor apa yang dapat memacu terbentuknya senyawa antimalaria?

## **BAB II**

### **STUDI PUSTAKA**

#### **2.1. Tinjauan Tentang Tempuyung**

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) adalah tanaman obat Indonesia dari keluarga *Asteraceae* mempunyai penyebaran yang sangat luas (Tjitrosoepomo, 2005).

Tempuyung adalah <sup>62</sup>herba menahun, tegak, mengandung getah, sering dengan <sup>62</sup>akar tunggang yang kuat, tingginya 0,6-2m. Batangnya bulat, berongga, gundul dan rapuh. Daunnya gundul, sering keunguan bergigi tidak teratur, sedikit banyak berlekuk menyirip dalam. Bunga banyak, kuning cerah. Buah keras, bentuknya memanjang, pipih, berusuk, coklat kekuningan panjangnya 4 mm (Backer *et al.*, 1965).

#### **2.2. Kandungan dan Fungsi Bahan Aktif Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)**

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) mempunyai rasa pahit dan dingin. Kandungan kimia berupa saponin, flavonoid, zat samak, dan polifenol, oc-lactuserol, l-lactuserol, manitol, inositol, silika, dan taraksasterol (Sugati, dkk., 1991).

Efek farmakologis dari bahan aktif tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) telah banyak dilakukan antara lain <sup>25</sup>ekstrak air dan alkohol daun tempuyung mempunyai daya melarutkan batu ginjal (Hardiyatmo, 1988). <sup>13</sup>Praperlakuan flavonoid fraksi etil asetat daun tempuyung mampu menghambat hepaptoksisitas karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) yang diberikan pada mencit jantan (Liestyaningsih, 1991).

Secara empiris beberapa senyawa aktif pada daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) telah dipercaya mempunyai banyak fungsi. Flavonoid mempunyai fungsi untuk proteksi terhadap serangan mikroba dan serangga, mengurangi respon terhadap alergen, virus dan karsinogen sehingga flavonoid menunjukkan antialergi, anti inflamasi, antimikrobal, dan antikanker.

#### **2.3. Induksi Kalus dan Berbagai Penelitian terkait**

Induksi kalus adalah upaya untuk menumbuhkan bagian tanaman (eksplan), sel-selnya berproliferasi atau membelah-belah tanpa diikuti diferensiasi sehingga

membentuk massa sel saja (kalus). Induksi kalus untuk produksi suatu senyawa ternyata setiap spesies membutuhkan media, macam eksplan, jenis serta konsentrasi zat pengatur tumbuh dan jenis elisitor yang berbeda (Tabel 2.1).

Tabel 2.1. Macam eksplan, media, elisitor dan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) yang digunakan untuk induksi kalus pada berbagai tanaman

Peneliti, tahun	Tanaman	Kandungan	Media & ZPT untuk induksi kalus	Elisitor
Andrijany <i>et al.</i> , 1999	<i>Agave amaniensis</i>	Saponins	MS + Kinetin (23,2 µM), 2,4-D (2,26 µM)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (2,50 µM), Sucrose (87,64 mM)
Malpathak and David, 1986	<i>Allium sativum</i> L.	Alliin	MS + IAA (11.4 µM), NAA (10,8 µM), Kinetin (9,3 µM)	Coconut water (15%)
Goleniowski and Trippi, 1999	<i>Ambrosia tenuifolia</i>	Altamisine	MS + Kinetin (10 µM), 2,4-D (1 µM)	Ascorbic acid and Cysteine (10 µM)
Nazif <i>et al.</i> , 2000	<i>Cassia acutifolia</i>	Anthraquinones	MS + 2,4-D (1,0 mg/l), Kinetin (0,1 mg/l)	Sucrose (3%), Myo-inositol (100 mg/l)
Zhao <i>et al.</i> , 2001	<i>Catharanthus roseus</i>	Catharanthine	MS + NAA (2 mg/l), IAA (2 mg/l), Kinetin (0.1 mg/l)	Sucrose (3%)
Taniguchi <i>et al.</i> , 2002	<i>Eriobotrya japonica</i>	Triterpenes	LS + NAA (10 µM), BA (10 µM)	Casein hydrolysate (200 mg/l), Sucrose (3%)
Wu <i>et al.</i> , 2001	<i>Taxus</i> spp	Taxol	B5 medium + 2,4-D (0,2 mg/l), BA (0,5 mg/l)	Coconut milk(7%), and K <sup>+</sup> instead of NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
Orihara <i>et al.</i> , 2002	<i>Torreya nucifera</i> var. <i>radicans</i>	Diterpenoids	MS + 2,4-D (10 mg/l)	Glisin (3mg/L), ekstrak ragi (0,5(mg/L), air kelapa (15%,v/v)
Mozar, 2004	<i>Sonchus arvensis</i>		MS+NAA (1,5mg/L), kinetin (0,5 mg/L)	
Ayabe <i>et al.</i> , 1986	<i>Ggycyrrhiza achinata</i>	Flavonoids	MS + IAA (1mg/L), Kinetin (0,1 mg/L)	

#### **2.4. Uji aktivitas antimalaria secara *in vitro***

Untuk pengujian antimalaria dari ekstrak tumbuhan atau isolat hasil kolom, digunakan cara tes mikro yang didasarkan atas tehnik dari Rieckmann dkk yang kemudian disempurnakan oleh WHO tahun 1982 (WHO, 1985). Bahan Uji dilarutkan dalam DMSO, diencerkan sampai kadar tertentu dalam medium RPMI 1640 yang mengandung 10% serum manusia, 25 mM HEPES dan 25 mM NaHCO<sub>3</sub>. Larutan disterilkan dengan saringan diameter 0,45µm dan diencerkan secara seri. Masing-masing lempeng sumur mikro diisi dengan larutan bahan uji dan ditambahkan 180 µL suspensi 10% eritrosit dengan parasitemia 1 % sehingga masing-masing sumur berisi 200 µL medium yang mengandung serum dan bahan uji yang diteliti. Lempeng sumur mikro diletakkan dalam desikator kaca yang diberi lilin yang berguna untuk menghilangkan oksigen. Lilin dinyalakan, desikator ditutup, kran udara pada tutup desikator dibuka. Setelah lilin padam, kran udara dibuka, diinkubasikan dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 48 jam, kemudian dilakukan evaluasi hasil dan ditentukan harga IC50 (Ratsimamanga, *et al.*, 1991)

## BAB III

### TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

#### 3.1 Tujuan Penelitian

Tahap pertama penelitian ini mempunyai tujuan sebagai berikut: 1) mengetahui zat pengatur tumbuh yang dapat menginduksi terbentuknya kalus, 2) mengetahui pengaruh pemberian sukrosa dan elisitor terhadap pertumbuhan kalus; 3) mengetahui jenis elisitor yang dapat memacu terbentuknya senyawa antimalaria, 4) mengetahui profil golongan senyawa yang terdapat dalam kalus *Sonchus arvensis* L., 5) mengetahui aktifitas antimalaria dari masing-masing elisitor yang terdapat dalam kalus *Sonchus arvensis* L..

#### 3.2 Manfaat Penelitian

Hasil yang ditargetkan pada penelitian tahun pertama ini adalah mendapatkan protokol untuk produksi kalus dari tanaman *Sonchus arvensis* L. yang mempunyai aktifitas antimalaria terbaik dan mengetahui potensi ekstrak kalus dari tanaman *Sonchus arvensis* L. sebagai bahan antimalaria. Pada tahap pertama ini sudah didapatkan protokol untuk induksi kalus dan hasil aktifitas antimalariannya menunjukkan hasil positif, dengan nilai  $IC_{50}=1-10\mu g/l$ , artinya kalus *Sonchus arvensis* L. yang dihasilkan berpotensi sebagai bahan antimalaria.

Hasil penelitian ini merupakan temuan baru tentang sumber bahan antimalaria dari tanaman obat Indonesia, walau pemanfaatannya masih membutuhkan rangkaian penelitian yang panjang. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi sumber bahan antimalaria baru dari tanaman obat Indonesia
2. Memberikan informasi dasar penelitian eksplorasi senyawa antimalaria dari tanaman *Sonchus arvensis* L. dan teknologi produksinya
3. Memacu penelitian tentang teknologi produksi bahan aktif dan eksplorasi senyawa yang berasal tanaman obat Indonesia khususnya yang berkhasiat sebagai bahan antimalaria

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Untuk analisis bahan aktif dan uji aktifitas senyawa antimalaria dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Penelitian dilakukan selama satu tahun dari Juli 2009 sampai Desember 2009.

#### 4.2 Bahan Penelitian

##### 4.2.1 Bahan Hayati

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *Sonchus arvensis* L., diperoleh dari Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur. Sebagai sumber eksplan adalah daun. Untuk uji antimalaria *in-vitro* digunakan *Plasmodium falciparum*.

##### 4.2.2 Bahan Kimia

Bahan kimia untuk medium Murashige and Skoog (George and Sherinton, 1992), elisitor, bahan kimia untuk uji antimalaria, dan bahan kimia untuk ekstraksi antimalaria.

#### 4.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlemeyer, cawan petri gelas  $\Phi = 15$  cm, gelas pengaduk, oven, tabung reaksi, pinset, skalpel, lampu bunsen, scalpel, blade, tabung sentrifugasi, sentrifuge, inkubator, kulkas, timbangan kasar, timbangan analitik, autoklaf, Laminair Air Flow (LAF), tabung soxhlet, flakon, eksikator, rotary vakum, evaporator, seperangkat alat untuk KLT, dan seperangkat alat untuk uji antimalaria.

#### 4.4 Prosedur Penelitian

##### 4.4.1 Induksi dan Perbanyakan Kalus

Penelitian ini bertujuan untuk optimalisasi zat pengatur tumbuh, sukrosa, kondisi inkubasi, dan elisitor yang sesuai untuk induksi dan perbanyakan kalus.



#### 4.4.1.1 Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus

Eksplan yang dipakai adalah daun. Daun dicuci menggunakan deterjen dan dibilas dengan air, selanjutnya direndam dalam fungisida (1 g dalam 500 mL aquades) selama 15 menit, dan dibilas dengan air sampai bersih. Selanjutnya daun dimasukkan dalam LAF, daun direndam dalam Bayclin (35 mL dalam 500 mL aquades steril) selama 10 menit, dan dibilas 3 kali menggunakan aquades steril @ 3 menit. Daun dipotong menggunakan *blade scalpel* ( $\pm 1$  cm), kemudian ditanam dalam botol kultur yang diberi perlakuan zat pengatur tumbuh BAP 0,5 ppm (MS<sub>1</sub>); IAA 1 ppm (MS<sub>2</sub>); IAA 1 ppm + BAP 0,5 ppm (MS<sub>3</sub>); IBA 1 ppm (MS<sub>4</sub>); IBA 1 ppm + BAP 0,5 ppm (MS<sub>5</sub>); NAA 1 ppm (MS<sub>6</sub>); NAA 1 + BAP 0,5 ppm (MS<sub>7</sub>); 2,4D 1 ppm (MS<sub>8</sub>); 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm (MS<sub>9</sub>); tanpa zat pengatur tumbuh (MS<sub>0</sub>) dengan bagian abaksial daun menempel pada media. Setelah itu kultur disimpan diruang inkubasi dalam kondisi gelap dan terang pada suhu 20°C selama 4 minggu. Kalus yang terbentuk difoto menggunakan kamera digital. Pengamatan terhadap waktu terbentuknya kalus dilakukan seminggu sekali. Persentase eksplan membentuk kalus dihitung dengan pendekatan :

$$\frac{\sum \text{eksplan yang membentuk kalus}}{\text{jumlah eksplan}} \times 100\%$$

#### 4.4.1.2 Pengaruh sukrosa terhadap pertumbuhan kalus

Cara kerja yang dilakukan mulai tahapan sterilisasi sampai dengan penanaman eksplan sama dengan cara kerja sebelumnya. Perlakuan sukrosa yang dipakai adalah Sukrosa 1% (N<sub>1</sub>); Sukrosa 2% (N<sub>2</sub>); Sukrosa 3% (N<sub>3</sub>); Sukrosa 4% (N<sub>4</sub>); Sukrosa 5% (N<sub>5</sub>). Parameter yang diamati adalah berat basah dan berat kering kalus pada minggu keempat setelah dikultur.

#### 4.4.1.3 Pengaruh berbagai elisitor terhadap pertumbuhan kalus

Cara kerja yang dilakukan mulai tahapan sterilisasi sampai dengan penanaman eksplan sama dengan cara kerja sebelumnya. Perlakuan elisitor yang dipakai adalah Glutamin 0,25 g (G<sub>1</sub>); Glutamin 0,5 g (G<sub>2</sub>); Amonium Nitrat 1,0 g (NN<sub>2</sub>); Kalium Nitrat 0,5 g (KN<sub>1</sub>); Kalium Nitrat 1,0 g (KN<sub>2</sub>); Kalium Phosphat 0,1 g (KP<sub>1</sub>); Kalium Phosphat 0,2 g (KP<sub>2</sub>); Kontrol (K). Parameter yang diamati adalah berat basah dan berat kering kalus pada minggu keempat setelah dikultur.

#### 4.4.2 Ekstraksi kalus *Sonchus arvensis* L dengan metode elisitasi

Ekstraksi sudah dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Kalus dikeringkan dengan oven 40°C sampai kering (kira-kira 2 hari). Setelah kalus kering (simplisia) ditimbang. Simplisia dihaluskan dengan menggunakan mortar. Serbuk/bubuk simplisia ditimbang kembali. Serbuk/bubuk simplisia dituangi metanol sesuai dengan beratnya (maserasi). Ekstraksi maserasi ultrasonic selama 15 menit. Ekstraksi maserasi didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam (sampai terbentuk endapan dan cairan di atas). Cairan dipisahkan dari endapan dengan disaring menggunakan kertas saring akan diperoleh cairan warna kuning. Endapan ditambahkan metanol lagi sesuai berat kering simplisia. Endapan ditambahkan metanol lagi metanol lagi lalu disentrifus selama 15 menit. Ekstrak siap untuk diujikan.

#### 4.4.3 Monitoring ekstrak dengan KLT

Masing-masing kandungan bahan kimia ekstrak dimonitor dengan KLT menggunakan fase diam gel GF 254 dan fase gerak  $\text{CHCl}_3$  : metanol = 95 : 5. Penampak noda uap amoniak.

#### 4.4.4 Penentuan Aktifitas Antimalaria

##### 4.4.4.1. Bahan untuk uji aktivitas antimalaria in vitro

Bahan yang digunakan untuk uji aktifitas antimalaria *in-vitro* adalah: biakan *P. falciparum* strain 3D7 diperoleh dari Lembaga Eijkman Jakarta, medium kultur malaria lengkap (cMCM= complete Malaria Culture Medium): RPMI 1640 (Gibco), HEPES (N-2-hidroksietilpiperazin-N'-2-asam sulfonatetan) (Gibco),  $\text{NaHCO}_3$ , gentamicin sulfat, *aquadest steril for irrigation* (Otsuka), darah manusia yang didapatkan dari PMI Surabaya, air suling steril, giemsa 10%, ekstrak kalus *Sonchus arvensis* L., DMSO (dimetilsulfosida), Sorbitol (SIGMA).

##### 4.4.4.2 Prosedur pengujian aktivitas antimalaria secara In-Vitro

###### A. Medium tak lengkap (*Incomplete Medium*)

Dibuat larutan steril yang terdiri dari 10,4 g RPMI-1640, HEPES 5,96 g, Natrium Bikarbonat 2,1 g, Hypoxantin 0,05 g, Gentamycin 0,5 mL dan aquabides 960 mL, kemudian larutan disterilisasi dengan filter berdiameter 0,22  $\mu\text{m}$ , selanjutnya dimasukkan dalam botol dan disimpan pada suhu 4°C. Ini disebut juga medium

pencuci (*washing medium*) dan bila akan digunakan, dimasukkan inkubator suhu 37 °C terlebih dahulu.

#### B. Persiapan serum

Diambil darah segar golongan O yang sudah ditambah antikoagulan, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Plasma diambil dengan pipet pasteur dan di-*heat inactivation* pada suhu 56°C selama 30 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C untuk mengendapkan fibrin, sehingga didapatkan serum. Penyimpanan pada suhu -20°C dan bila akan digunakan, dihangatkan pada suhu 37°C.

#### C. Medium lengkap (*Complete Medium*).

Medium lengkap adalah medium yang mengandung 10% serum manusia. Medium ini dibuat dengan mencampur medium tak lengkap sebanyak 90 mL dengan 10 mL serum manusia. Medium ini digunakan untuk membiakkan *P. falciparum*.

#### D. Pembuatan eritrosit 50%

Darah manusia golongan O yang diberi antikoagulan disimpan pada suhu 4°C dapat digunakan tidak lebih dari 3 minggu. Darah dimasukkan dalam tabung dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Plasma dipisahkan dan leukosit dibuang. Eritrosit dicuci dengan medium pencuci 1-2 kali volume, disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Proses ini dilakukan sebanyak 2 kali. Eritrosit yang telah dicuci (bebas dari leukosit) ditambah dengan medium lengkap dengan volume yang sama untuk membuat eritrosit 50% dan disimpan pada suhu 4°C. Eritrosit yang telah dicuci dapat digunakan tidak lebih dari dua minggu.

#### E. Prosedur biakan *P.falciparum*

Prosedur biakan ini didasarkan pada metode Trager & Jensen (1976). Biakan dilakukan di dalam *petridish* dan dikerjakan secara aseptik. Parasit malaria diperoleh dari simpanan beku yang di "*thawing*" dengan cara tabung yang berisi parasit beku dicairkan pada suhu 37°C. Ditambahkan NaCl 3,5% dengan volume yang sama dan dipindahkan ke tabung sentrifuse menggunakan pipet mikro sambil dicampur perlahan, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C.

Supernatan kemudian dibuang. Endapan disuspensikan dengan 5 mL *incomplete medium*, dicampur perlahan dengan pipet mikro dan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang. Prosedur ini dilakukan sebanyak dua kali.

Setelah endapan dicuci, ditambahkan sebanyak 4,5 mL medium lengkap dan 0,5 mL RBC 50% kemudian dicampur perlahan dengan pipet, kemudian dipindahkan ke dalam petridish, dimasukkan dalam *candle jar* dan disimpan di dalam inkubator yang bersuhu 37°C. Selanjutnya dilakukan penggantian medium setiap hari, yaitu dengan membuang medium lama dan menambahkan 4,5 mL medium lengkap yang baru ke dalam kultur parasit. Apabila tingkat parasitemianya lebih dari 2% dapat dilakukan sub biakan.

#### F. Sub Biakan *P. falciparum*

Eritrosit yang terinfeksi parasit malaria disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang. *Packed cells* disuspensikan dengan medium lengkap baru dengan volume sama, selanjutnya dibagi ke dalam *petridish* baru dan ditambahkan medium lengkap dan eritrosit 50% baru untuk membuat hematokrit 5%.

#### G. Sinkronisasi Biakan *P. falciparum*

Untuk suatu pengujian aktivitas antimalaria, diperlukan parasit dalam keadaan sinkron yaitu pada stadium cincin. Sinkronisasi dilakukan dengan menggunakan sorbitol 5% (Lambros & Vanderberg, 1979). Sinkronisasi dilakukan dengan cara suspensi parasit yang diperoleh dari biakan berkesinambungan dengan tingkat parasitemia 5-10% (80% stadium cincin) disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, kemudian supernatan dibuang. Endapan berupa eritrosit yang terinfeksi parasit disuspensikan dengan sorbitol 5% sebanyak 3-4 kali volume endapan, didiamkan selama 5-10 menit pada temperatur kamar, disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C dan dibuang supernatannya. Lalu endapan dicuci dengan *incomplete medium* sebanyak 3-4 kali volume dan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Proses pencucian ini diulangi sebanyak 3 kali. Setelah dicuci, ditambahkan *complete*

medium dan suspensi eritrosit baru (RBC 50%) sampai terbentuk hematokrit 5%. Selanjutnya dibuat hapusan tipis, diwarnai dengan giemsa untuk mengamati stadium parasit dan dihitung persen parasitemianya.

#### H. Penyiapan Bahan Uji

Bahan uji berupa ekstrak kalus *Sonchus arvensis* L. sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dalam 100 µL DMSO dan selanjutnya dibuat pengenceran sehingga didapat konsentrasi uji pada konsentrasi : 100; 10; 1 ; 0,1 ; 0,01µg/mL.

#### I. Pengujian aktivitas antimalaria *In Vitro*

Pengujian aktivitas anti malaria *in vitro* dilakukan dengan cara diambil 5 µL bahan uji dan ditambahkan medium kompleks sampai 250µL .

Kedalam tiap-tiap sumur (*well*) dari lempeng mikrotiter datar yang telah diberi 1080 µL medium komplet, (kecuali apada kontrol (-) dimasukkan 500 µL), ditambahkan 120 µL larutan isolat yang diambil dari stok, kemudian dibuat pengenceran sehingga konsentasi akhir pada sumur mikrotiter adalah 100; 10; 1; 0,1; dan 0,01 µg/mL (kultur dibuat duplo).

Suspensi parasit dalam 500 µL eritrosit ditambahkan ke dalam masing-masing sumur (*well*) mikrotiter datar dengan tingkat parasitemia 1% dan hematokrit 5%, kemudian diinkubasi suhu 37<sup>0</sup>C, sesuai waktu uji yang diperlukan. Kultur dipanen dan dibuat hapusan dengan giemsa untuk selanjutnya dihitung jumlah eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* setiap 5000 eritrosit dengan menggunakan mikroskop cahaya.

J. Parasitemia dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\sum \text{eritrosit yang terinfeksi}}{5000 \text{ eritrosit}} \times 100\%$$

Persentase penghambatan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Penghambatan} = 100\% - \left[ \frac{X_p}{X_k} \times 100\% \right]$$

Keterangan :

Xp = Parasitemia perlakuan

Xk = Parasitemia kontrol negatif

#### **4.5. Analisis Data**

Data yang diperoleh berupa data diskriptif kualitatif dan kuantitatif. Data diskriptif dianalisis secara diskriptif dengan membandingkan antara kontrol dan perlakuan. Data kuantitatif dianalisis dengan ANOVA dan diuji lanjut dengan Uji Duncan.

**BAB V**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**5.1 Induksi dan Perbanyakan Kalus**

**5.1.1 Pengaruh berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus**

Zat pengatur tumbuh dari golongan auksin (2,4 D, IAA, IBA, NAA) dan sitokinin (BAP) digunakan untuk menginduksi kalus. Pengaruh berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh terhadap induksi kalus pada *Sonchus arvensis* L. berdasarkan hasil pengamatan memberikan respon yang berbeda-beda (Tabel 5.1)

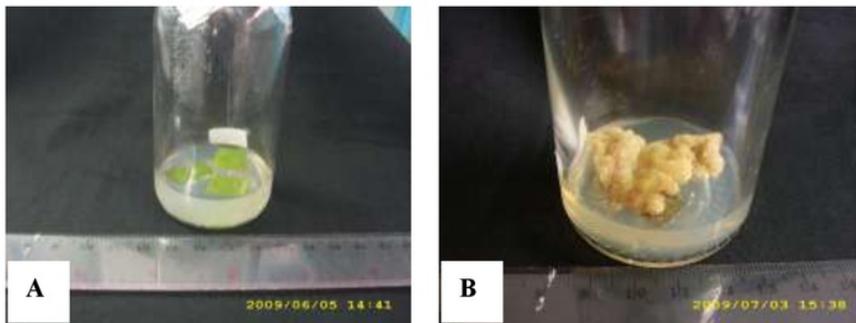
Tabel 5.1 Waktu induksi kalus, morfologi kalus, dan persentase eksplan membentuk kalus setelah diinkubasi selama 4 minggu

Perlakuan Hormon	Waktu terbentuknya kalus (Minggu ke)		Persentase Eksplan Membentuk Kalus (%)	Diskripsi morfologi kalus
	Inkubasi Gelap	Inkubasi Terang		
MS <sub>0</sub>	0	0	0	Tidak terbentuk kalus, eksplan hanya menggulung
MS <sub>1</sub>	2	3	100	Kalus pada tahap akhir berkembang membentuk tunas yang banyak sekali
MS <sub>2</sub>	2	2	100	Kalus sangat kompak dan tidak berkembang
MS <sub>3</sub>	2	3	100	Kalus berkembang menjadi tunas
MS <sub>4</sub>	2	3	100	Kalus berkembang menjadi tunas dan akar
MS <sub>5</sub>	2	2	100	Kalus berkembang menjadi tunas dan akar
MS <sub>6</sub>	2	3	100	Kalus sangat kompak dan tidak berkembang
MS <sub>7</sub>	2	3	100	Kalus berkembang menjadi tunas dan akar
MS <sub>8</sub>	2	3	100	Kalus tidak berkembang pesat
MS <sub>9</sub>	2	3	100	Kalus kompak dan berkembang maksimal

Keterangan: MS<sub>1</sub>= BAP 0,5 ppm; MS<sub>2</sub> = IAA 1 ppm; MS<sub>3</sub>=IAA 1ppm +BAP 0,5 ppm; MS<sub>4</sub> = IBA 1 ppm; MS<sub>5</sub> = IBA 1 ppm + BAP 0,5 ppm; MS<sub>6</sub> = NAA 1 ppm; MS<sub>7</sub>=NAA 1 ppm + BAP 0,5 ppm; MS<sub>8</sub> = 2,4D 1 ppm; MS<sub>9</sub> = 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm; MS<sub>0</sub> = tanpa zat pengatur tumbuh.

Kombinasi hormon 2,4D 1ppm dan BAP 0,5 ppm mampu menghasilkan kalus dengan kondisi terbaik dengan waktu pembentukan kalus 2 minggu, inkubasi gelap. Pada awal pertumbuhan kalus yang tumbuh berwarna kuning cerah dan friabel, dan pada pertumbuhan selanjutnya kalus menjadi kuning kecoklatan dan struktur kalusnya kompak (gambar 5.1). Kombinasi hormon ini yang akan digunakan untuk induksi kalus berikutnya.

Penggunaan hormon 2,4 D untuk induksi kalus merupakan pilihan terbaik untuk menghasilkan kalus (Indrianto, 2003), seperti iduksi kalus pada tanaman tebu (Yamani, 2009) dan pada tanaman teh (Sutini, 2008), walau responnya sangat tergantung pada genotif masing-masing tanaman (George and Sherington, 1992). Menurut Saptowo,dkk (2004) makin tinggi konsentrasi 2,4D, eksplan makin mudah membentuk kalus terutama yang dikombinasikan dengan BA.



Gambar 5.1 Pertumbuhan kalus *Sonchus arvensis* L. pada media MS dengan perlakuan 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm.(A) Awal penanaman; (B) minggu ke-4 setelah dikultur.

### 5.1.2 Pengaruh sukrosa terhadap pertumbuhan kalus

Sukrosa adalah sumber karbon yang mudah ditransportasi dalam tubuh tumbuhan. Perlakuan sukrosa diberikan dalam berbagai konsentrasi (tabel 5.2). Keberadaan sumber karbon sangat menentukan produksi metabolit sekunder. Pengaruhnya dapat berkorelasi positif maupun negatif terhadap efisiensi produksi metabolit yang diinginkan. Perlakuan sukrosa diberikan dalam bentuk konsentrasi diatas dan di bawah standar (20%-30%).



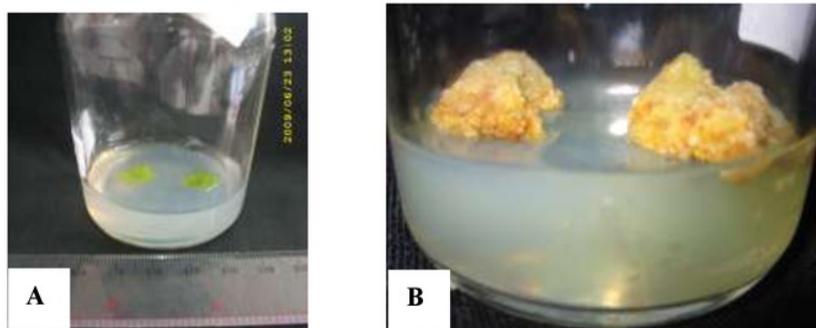
Tabel 5.2 Rerata berat basah dan berat kering kalus dari eksplan helaian daun pada berbagai perlakuan sukrosa + 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm pada kondisi gelap

Perlakuan	Helaian daun	
	Berat basah (g)	Berat kering (g)
N1	0,47 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>
N2	0,70 <sup>bc</sup>	0,04 <sup>b</sup>
N3	0,86 <sup>c</sup>	0,06 <sup>c</sup>
N4	1,07 <sup>cd</sup>	0,07 <sup>c</sup>
N5	0,61 <sup>ab</sup>	0,05 <sup>bc</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan ( $\alpha=5\%$ )

Keterangan: N<sub>1</sub> = Sukrosa 1%  
 N<sub>2</sub> = Sukrosa 2%  
 N<sub>3</sub> = Sukrosa 3%  
 N<sub>4</sub> = Sukrosa 4%  
 N<sub>5</sub> = Sukrosa 5%

Berdasarkan hasil analisa varian rerata berat basah dan berat kering kalus menunjukkan adanya beda nyata antar perlakuan sukrosa ( $\alpha=5\%$ , lampiran ). Pengaruh sukrosa terhadap berat basah dan berat kering kalus meningkat sampai pada konsentrasi 4% setelah itu menurun pada konsentrasi 5%, namun hasil uji lanjut antara perlakuan 3%, 4%, dan 5% tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata sehingga untuk kepentingan induksi kalus untuk produksi senyawa antimalaria digunakan sukrosa 3%.



Gambar 5.2 Pertumbuhan kalus *Sonchus arvensis* L. pada media MS dengan perlakuan 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 30 g. (A) Awal penanaman; (B) minggu ke-4 setelah dikultur.

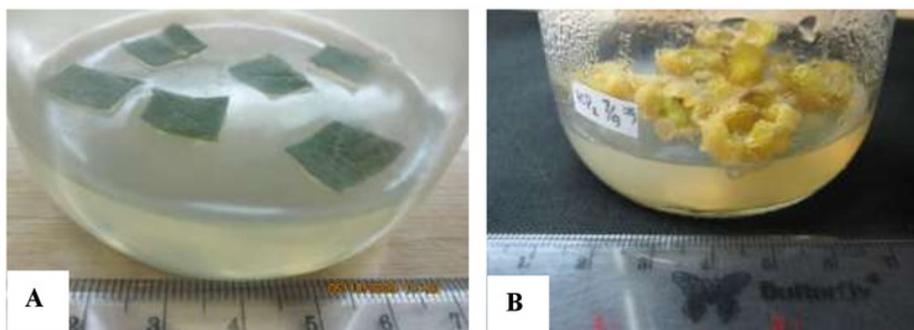
### 5.1.3 Pengaruh berbagai elisitor terhadap pertumbuhan kalus

Elisitor digunakan untuk memacu produksi senyawa antimalaria, bukan untuk memacu pertumbuhan. Pengaruh elisitor terhadap berat basah dan berat kering kalus tidak ada beda nyata setelah dilakukan analisa antar varian ( $\alpha=5\%$ , lampiran ).

Tabel 5.3 Rerata berat basah dan berat kering kalus yang dikultur pada media MS + 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 3% pada kondisi gelap dengan perlakuan berbagai elisitor.

Perlakuan	Berat basah (g)	Berat kering (g)
G1	8,5	0,28
G2	8,19	0,29
NN1	7,67	0,32
NN2	7,69	0,34
KN1	9,37	0,33
KN2	8,22	0,34
KP1	7,15	0,3
KP2	6,63	0,26
K	7,65	0,30

Keterangan : G<sub>1</sub> = Glutamin 0,25 g; G<sub>2</sub> = Glutamin 0,5 g; NN<sub>1</sub> = Amonium Nitrat 0,5 g; NN<sub>2</sub> = Amonium Nitrat 1g; KN<sub>1</sub> = Kalium Nitrat 0,5 g; KN<sub>2</sub> = Kalium Nitrat 1 g; KP<sub>1</sub> = Kalium Posphat 0,1 g; KP<sub>2</sub> = Kalium Posphat 0,2 g; K = Kontrol



Gambar 5.3 Pertumbuhan kalus *Sonchus arvensis* L. pada media MS dengan perlakuan 2,4D 1 ppm + BAP 0,5 ppm + sukrosa 50 g + elisitor KNO<sub>3</sub> 0,5 g. (A) Awal penanaman; (B) minggu ke-4 setelah dikultur.

## 5.2 Ekstraksi Kalus *Sonchus arvensis* L.

Kalus usia 4 bulan dipanen selanjutnya ditimbang berat basah dan berat keringnya. setelah kalus kering, dihaluskan dengan mortar dan selanjutnya diekstraksi dengan menggunakan pelarut methanol. Hasil ekstraksi tersaji pada tabel 5.4.

Tabel 5.4. Hasil ekstraksi kalus *Sonchus arvensis* L.

Sampel	Berat basah	Berat kering	Berat serbuk	Berat ekstrak
K	43,24	3,2	3,2	0,63
KN1	18,73	1,0	0,9	0,11
KN2	31,39	2,3	2,2	0,29
NN1	44,42	3,3	3,1	0,53
NN2	57,26	4,6	4,2	0,57
KP1	30,42	2,4	2,2	0,40
KP2	24,77	1,8	1,7	0,27
G1	49,61	3,4	3,2	0,43
G2	41,91	3,0	2,8	0,48

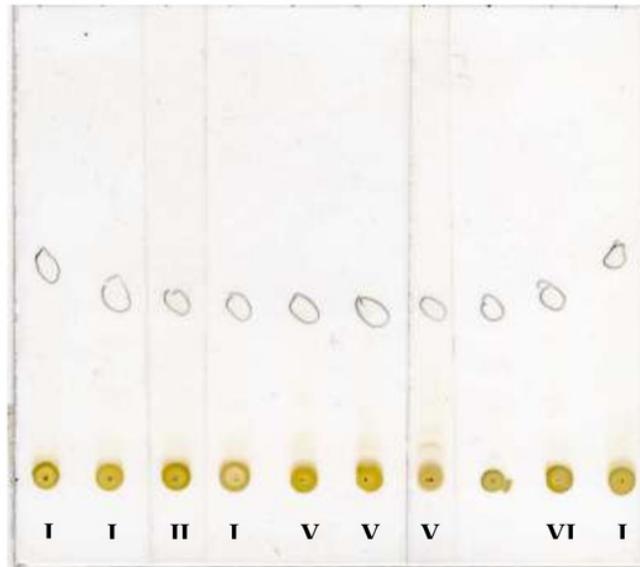
### 5.3. Hasil Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis

Hasil ekstraksi dari kalus *Sonchus arvensis* L. diamati dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan:

Fasa diam : Silika gel GF 254

Fasa gerak :  $\text{CHCl}_3$  : methanol = (95 : 5)

Penampak noda : Uap amoniak



Gambar 5.4 Kromatogram hasil KLT menggunakan fase gerak kloroform:metanol (95%:5%) dengan penampak noda uap amoniak

Keterangan gambar:

- I : Ekstrak dari kalus perlakuan KP2
- II : Ekstrak dari kalus perlakuan KP1
- III : Ekstrak dari kalus perlakuan NN2
- IV : Ekstrak dari kalus perlakuan KN2
- V : Ekstrak dari kalus perlakuan NN1
- VI : Ekstrak dari kalus perlakuan G1
- VII : Ekstrak dari kalus perlakuan KN1
- VIII : Ekstrak dari kalus perlakuan K
- IX : Ekstrak dari kalus perlakuan G2

Harga Rf hasil kromatografi lapis tipis dari ekstrak methanol kalus *Sonchus arvensis* L. adalah Rf:0,49. Hasil identifikasi dengan KLT tersebut adalah flavonoid.

#### 5.4. Uji Antimalaria

Hasil pengamatan aktifitas penghambatan pertumbuhan parasit *P. falciparum* dari ekstrak kalus *Sonchus arvensis* L. disajikan dalam tabel 5.5 dan tabel 5.6.

Tabel 5.5 Persentase parasitemia, pertumbuhan dan hambatan *P. falciparum* 3D7 oleh Ekstrak *Sonchus arvensis* L.

Bahan	Dosis (µg/ml)	Replikasi	%parasitemia	%pertumbuhan parasit	% penghambatan	Rata-rata % penghambatan
G2	Do	1	0,62	-	-	-
		2	0,62	-	-	-
	K	1	2,59	1,97	0	0
		2	2,68	2,06	0	
	100	1	0,48	-	100	100
		2	0,40	-	100	
	10	1	0,89	0,27	86,29	85,38022
		2	0,94	0,32	84,47	
	1	1	2,52	1,90	3,55	4,203834
		2	2,58	1,96	4,85	
	0,1	1	3,03	2,41	0	0
		2	2,72	2,10	0	
0,01	1	3	2,38	0	0	
	2	2,86	2,24	0		
NN1	Do	1	0,62	-	-	-
		2	0,62	-	-	-
	K	1	2,26	1,64	0	0
		2	2,12	1,5	0	
	100	1	-	-	100	100
		2	-	-	100	
	10	1	0,19	-	100	100
		2	0,18	-	100	
	1	1	1,85	1,23	25	20,83
		2	1,87	1,25	16,67	
	0,1	1	2,48	1,86	0	0
		2	2,37	1,75	0	
0,01	1	2,99	2,37	0	0	
	2	2,90	2,28	0		
NN2	Do	1	0,62	-	-	-
		2	0,62	-	-	-
	K	1	2,71	2,09	0	0
		2	2,82	2,2	0	
	100	1	0	0	100	100
		2	0	0	100	
	10	1	0,5	0	100	100
		2	0,4	0	100	
	1	1	1,77	1,15	44,98	46,8
		2	1,75	1,13	48,64	
	0,1	1	2,93	2,31	0	0
				2,81	2,19	0,45
0,01	1	3,29	2,67	0	0	
			3,29	2,67	0	

Sampai saat ini belum semua sampel diujikan, baru tiga perlakuan elisitor yang diujikan yaitu perlakuan Glutamin 500g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,5g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1g. Dari hasil uji rerata daya hambat ekstrak kalus yang diujikan diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Nilai  $\text{IC}_{50}$  dari ekstrak kalus *Sonchus arvensis* L.

Bahan uji	Rata-rata % penghambatan					$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
	100( $\mu\text{g/ml}$ )	10( $\mu\text{g/ml}$ )	1( $\mu\text{g/ml}$ )	0,1 ( $\mu\text{g/ml}$ )	0,01 ( $\mu\text{g/ml}$ )	
G2	100	85	4,2	0	0	1-10
NN1	100	100	20,8	0	0	1-10
NN2	100	100	46,8	0	0	1-10

Keterangan: G2=Glutamin 500g, NN1= $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,5g, NN2= $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1g

Dari tabel 5.6 dapat dilihat bahwa nilai  $\text{IC}_{50}$  berkisar antara 1-10 ( $\mu\text{g/ml}$ ). Weenen (1990) menyebutkan bahwa untuk ekstrak yang mempunyai harga  $\text{IC}_{50}$  sampai dengan 10 ( $\mu\text{g/ml}$ ) termasuk dalam golongan bahan yang mempunyai aktifitas tinggi/poten sebagai antimalaria.

Rerata persentase penghambatan antar perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan elisitor  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1g lebih besar dibanding perlakuan Glutamin 500g dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,5g. Baik glutamin maupun  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ditambahkan sebagai tambahan sumber nitrogen pada medium, dengan maksud dapat meningkatkan produksi alkaloid, sebagaimana banyak penelitian menyatakan bahwa alkaloid adalah golongan senyawa yang paling potensial sebagai antimalaria (Ekasari, 2001).

## BAB VI

### 5 KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan yang dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi hormon terbaik untuk induksi kalus *Sonchus arvensis* L. adalah kombinasi 1ppm 2,4D dan 0,5ppm BAP.
2. Perlakuan sukrosa memberikan pengaruh yang berbeda untuk setiap perlakuan, perlakuan sukrosa 4% memberikan pengaruh paling baik terhadap berat basah dan berat kering kalus
3. Perlakuan elisitor tidak memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata untuk setiap perlakuan terhadap berat basah dan berat kering kalus.
4. Golongan senyawa yang terdapat pada kalus *Sonchus arvensis* adalah flavonoid
5. Ekstrak kalus dengan perlakuan glutamine 500g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0,5 g, dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 g mempunyai aktifitas antimalaria dengan nilai  $\text{IC}_{50}=1-10\mu\text{g/l}$ .

#### 6.1. Saran

Uji aktifitas antimalaria ekstrak kalus *Sonchus arvensis* L. menunjukkan bahwa kalus *Sonchus arvensis* L. berpotensi dikembangkan sebagai sumber senyawa antimalaria. Untuk mengeksplorasi kandungan bahan aktif kalus *Sonchus arvensis* L. yang mempunyai aktifitas antimalaria perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang uji aktifitas antimalaria fraksi dari kalus *Sonchus arvensis* L.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulelah, H.A.A. and Zaenal, ABAH.2007. **In-Vivo antimalarial test of *Nigella sativa* (Black Seed) different extracts**. American Journal of Farmacology and Toxicology 2(2): 46-50
- <sup>24</sup> Alikaridis, F., Papadakis,D., Pantelia, K., and Kephalas ,T.. 2000. **Flavonolignan production from *Silybum marianum* transformed and untransformed root cultures**. Fitoterapia 71: 379-384.
- <sup>33</sup> Ayabe, S., K. Iida, and T. Furuya. 1986. **Induction of stress metabolites in immobilized *Glycyrrhiza echinata* cultured cells**. Plant Cell Rep. 3: 186-189.
- <sup>22</sup> Backer, C.A. and Van Der Brink, B.. 1965. **Flora of Java**. Vol II. Noodhoff NVP. Groninggen. The Netherlands.
- Ekasari, W. 2001. **Daya hambat senyawa alkaloid daun *Cassia siamea* pada biakan in-vitro *Plasmodium falciparum***. Thesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Airlangga.
- <sup>18</sup> Fukuda, H., Ito, M., Sugiyama, M. & Komamine, A. 1994. **Mechanism of the Proliferation and Differentiation of Plant Cell Culture Systems**. *Int. J. Dev. Biol.* 38: 287-299
- <sup>44</sup> George, E.F. and Sherimthou, P.D.1984. **Plant propagation by tissue culture**. England. Exegetis Limited.
- <sup>29</sup> Goleniowski, M. and V.S. Trippi. 1999. **Effect of growth medium composition on psilostachyinolides and altamisine production**. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 56: 215-. 218.
- <sup>28</sup> Hardyatmo. 1998. **Pengaruh Ekstrak air dan ekstrak alcohol daun tempuyung terhadap volume urine tifus in-vivo dan pelarutan batu ginjal in-vitro**. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada.
- Indrianto, A. 2003. **Kultur Jaringan Tumbuhan**. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada
- <sup>21</sup> Lambros, C. and Vanderberg, J.B. 1979. **Syncronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stage in culture**. The Journal Paracitology 3: 418-421.
- <sup>13</sup> Liestyarningsih, A. 1991. **Praperlakuan flavonoid fraksi etil asetat daun tempuyung untuk menghambat Hepatotoksisitas karbon tetraclorida (CCl<sub>4</sub>) pada mencit jantan**. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada.



- <sup>27</sup> Malpathak, N.P. and David, S.B.. 1986. **Flavor formation in tissue cultures of garlic (*Allium sativum* L.)**. Plant Cell Rep. **5**: 446-447
- Mozar, R. 2004. **Morfogenesis Planlet Pada Kalus Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)** Thesis. Departemen Biologi. ITB. Bandung.
- <sup>75</sup> Murch, S.J., Ray, K. and Saksena, P.K. <sup>7</sup> 2000. **Tryptophan is precursor for melatonin and serotonin biosynthesis in-vitrogenerated St. John'swort**. Plant Cell Rep. 19:698-704.
- <sup>36</sup> Nazif, N.M., M.R. Rady, and M.M. Seif El-Nasr. 2000. **Stimulation of anthraquinone production in suspension cultures of *Cassia acutifolia* by salt stress**. Fitoterapia 71: 34-40.
- Orihara, Y., J.W. Yang, N. Komiya, K. Koge, and T. Yoshikawa. 2002. **Abietane diterpenoid from suspension cultured cells of *Torreya nucifera* var. *radicans***. Phytochemistry 59: 385-389.
- <sup>6</sup> Radji, M. 2005. **Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal**. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II: 3.113 – 126.
- <sup>37</sup> Ratsimamanga-Usreg, S. et al., 1991. **Antimalarial activity and cytotoxicity of *Ficus pyrifolia* and *Rhus taratana* leaf extracts**. Phytoter. res 5 (1): 32-34
- Yamani, R.A. 2009. **Optimasi induksi pembentukkan kalus pada enam varietas tebu (*Saccharum officinarum*) dalam berbagai formulasi vitamin pada media MS**. Skripsi. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga.
- <sup>5</sup> Saptowo, J.P., Mariska, I., Lestari, EG., dan Slamet. 2004. **Regenerasi tanaman dan transformasi genetik salak pondoh untuk rekayasa buah partenokarpi**. Jurnal Bioteknologi Pertanian, Vol 9: 2, pp. 49-55
- <sup>23</sup> Shyamkumar, B., Anjaneyulu ,C. and Giri , C. C. 2007. **Genetic transformation of *Terminalia chebula* Retz. and detection of tannin in transformed tissue**. Current Science. Vol. 92. No. 3.
- <sup>35</sup> Sutini, B., W.Tatik, W. Wahyu, dan Sumitro, S.B. 2008. **Meningkatkan produksi flavan-3-ol melalui kalus *Camellia sinensis* dengan Elisitor  $Cu^{2+}$** . Berk. Penel. Hayati: 14(39-44).
- <sup>9</sup> Taniguchi, S., Y. Imayoshi, E. Kobayashi, Y. Takamatsu, H. Ito, T. Hatano, H. Sakagami, H. Tokuda, H. Nishino, D. Sugita, S. Shimura, and T. Yoshida. 2002. **Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli**. Phytochemistry 59: 315-323.

- 53  
Tjitrosoepomo, G. 2005. **Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- 38  
Trager, W. and Jensen, J.B., 1976. **Human malarial parasites in continous culture**. Science 193: 673-676.
- 10  
Vanisree, M., Lee, C., Lo, S., Nalawade, S. M., Lin, C.Y. and Tsay, H. 2004. **Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures**. Bot. Bull. Ac. Sin. 45:1-22
- 21  
Weenen, H. 1990. **Antimalarial activity of Tanzanian medicinal plants**. J. Planta Medica 56: 386-370.
- 6  
World Health Organization, 1985. **Special program for research and training in tropical disease research**. TDR seventh program report. Malaria (2) WHO spec. program for trop. disease. pp2-13.
- 16  
Wu, J., C. Wang, and X. Mei. 2001. **Stimulation of taxol production and excretion in *Taxus spp* cell cultures by rare earth chemical lanthanum**. J. Biotechnol. 85: 67-73.
- 17  
Yunita, R. dan Lestari E.G., 2008. **Perbanyakkan tanaman *Artemisia annua* secara in-vitro**. Jurnal Agrobiogen. Vol.4: 1.
- 15  
Zhao, J., W. Zhu, and Q. Hu. 2001. **Enhanced catharanthine production in *Catharanthus roseus* cell cultures by combined elicitor treatment in shake flasks and bioreactors**. Enzyme. Microb. Technol. 28: 673-681.

**LAMPIRAN-LAMPIRAN**  
**LAMPIRAN 1: Hasil Uji Statistik**  
**HASIL ANALISA STATISTIK**

**1. Pengaruh Sukrosa terhadap berat basah dan berat kering kalus**

20  
**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	25	3.0000	1.44338	1.00	5.00
Berat Kering	25	.0504	.01881	.01	.08
Berat Basah	25	.7428	.24862	.42	1.26

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Perlakuan	Berat Kering	Berat Basah
N		25	25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.0000	.0504	.7428
	Std. Deviation	1.44338	.01881	.24862
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.148	.175
	Positive	.156	.148	.175
	Negative	-.156	-.132	-.099
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.742	.876
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.640	.427

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Oneway**

20  
**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
Berat Basah	4.288	4	20	.011
Berat Kering	2.248	4	20	.100

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Berat Basah	Between Groups	1.066	4	.266	12.759	.000
	Within Groups	.418	20	.021		
	Total	1.484	24			
Berat Kering	Between Groups	.005	4	.001	7.643	.001
	Within Groups	.003	20	.000		
	Total	.008	24			

**Robust Tests of Equality of Means**

		Statistic <sup>a</sup>	df 1	df 2	Sig.
Berat Basah	Brown-Forsythe	12.759	4	7.345	.002
Berat Kering	Brown-Forsythe	7.643	4	10.492	.004

a. Asymptotically F distributed.

8

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable		(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
Berat Basah	LSD	N1	N2	-.22400*	.09140	.024	-.4147	-.0333
			N3	-.38800*	.09140	.000	-.5787	-.1973
			N4	-.59600*	.09140	.000	-.7867	-.4053
			N5	-.13600	.09140	.152	-.3267	.0547
			N2	.22400*	.09140	.024	.0333	.4147
		N2	N3	-.16400	.09140	.088	-.3547	.0267
			N4	-.37200*	.09140	.001	-.5627	-.1813
			N5	.08800	.09140	.347	-.1027	.2787
			N3	.38800*	.09140	.000	.1973	.5787
			N2	.16400	.09140	.088	-.0267	.3547
		N3	N4	-.20800*	.09140	.034	-.3987	-.0173
			N5	.25200*	.09140	.012	.0613	.4427
			N4	.59600*	.09140	.000	.4053	.7867
			N2	.37200*	.09140	.001	.1813	.5627
			N3	.20800*	.09140	.034	.0173	.3987
		N4	N5	.46000*	.09140	.000	.2693	.6507
			N1	.13600	.09140	.152	-.0547	.3267
			N2	-.08800	.09140	.347	-.2787	.1027
			N3	-.25200*	.09140	.012	-.4427	-.0613
			N4	-.46000*	.09140	.000	-.6507	-.2693
Berat Kering	LSD	N1	N2	-.01800*	.00820	.040	-.0351	-.0009
			N3	-.03600*	.00820	.000	-.0531	-.0189
			N4	-.04000*	.00820	.000	-.0571	-.0229
			N5	-.02800*	.00820	.003	-.0451	-.0109
			N2	.01800*	.00820	.040	.0009	.0351
		N2	N3	-.01800*	.00820	.040	-.0351	-.0009
			N4	-.02200*	.00820	.014	-.0391	-.0049
			N5	-.01000	.00820	.237	-.0271	.0071
			N3	.03600*	.00820	.000	.0189	.0531
			N2	.01800*	.00820	.040	.0009	.0351
		N3	N4	-.00400	.00820	.631	-.0211	.0131
			N5	.00800	.00820	.341	-.0091	.0251
			N4	.04000*	.00820	.000	.0229	.0571
			N2	.02200*	.00820	.014	.0049	.0391
			N3	.00400	.00820	.631	-.0131	.0211
		N4	N5	.01200	.00820	.159	-.0051	.0291
			N1	.02800*	.00820	.003	.0109	.0451
			N2	.01000	.00820	.237	-.0071	.0271
			N3	-.00800	.00820	.341	-.0251	.0091
			N4	-.01200	.00820	.159	-.0291	.0051

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Homogeneous Subsets

### Berat Basah

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
Duncan <sup>a</sup> N1	5	.4740			
N5	5	.6100	.6100		
N2	5		.6980	.6980	
N3	5			.8620	
N4	5				1.0700
Sig.		.152	.347	.088	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Berat Kering

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Duncan <sup>a</sup> N1	5	.0260		
N2	5		.0440	
N5	5		.0540	.0540
N3	5			.0620
N4	5			.0660
Sig.		1.000	.237	.181

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## 2. Pengaruh Elisitor Terhadap Berat Basah dan Berat Kering Kalus

### NPar Tests

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		berat basah	berat kering
N		43	43
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	4.7400	.3053
	Std. Deviation	1.32801	.07252
Most Extreme Differences	Absolute	.113	.086
	Positive	.107	.086
	Negative	-.113	-.060
Kolmogorov-Smirnov Z		.741	.564
Asymp. Sig. (2-tailed)		.642	.908

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Oneway

### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
berat basah	3.047	8	34	.011
berat kering	2.570	8	34	.026

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
berat basah	Between Groups	11.982	8	1.498	.820	.590
	Within Groups	62.089	34	1.826		
	Total	74.071	42			
berat kering	Between Groups	.030	8	.004	.665	.718
	Within Groups	.191	34	.006		
	Total	.221	42			



# PRODUKSI SENYAWA ANTIMALARIA DARI KALUS *Sonchus arvensis* L. : UPAYA PENANGANAN PENYAKIT INFEKSI

## ORIGINALITY REPORT

24%

SIMILARITY INDEX

21%

INTERNET SOURCES

10%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1

[ijtmh.org](http://ijtmh.org)

Internet Source

3%

2

[jurnal.unej.ac.id](http://jurnal.unej.ac.id)

Internet Source

2%

3

[eprints.uny.ac.id](http://eprints.uny.ac.id)

Internet Source

1%

4

Wirdhatul Muslihatin, Nurul Jadid, Ika D. Puspitasari, Chusnul E. Safitri. "Growth of vegetative explant *Moringa oleifera* on different composition of auxin and cytokinin and its synthetic seed germination", AIP Publishing, 2017

Publication

1%

5

[media.neliti.com](http://media.neliti.com)

Internet Source

1%

6

[eprints.unsri.ac.id](http://eprints.unsri.ac.id)

Internet Source

1%

7

[www.fp.unud.ac.id](http://www.fp.unud.ac.id)



1%

8

[repository.unhas.ac.id](http://repository.unhas.ac.id)

Internet Source

<1%

9

Zhang, Chang-Hao, Jie Luo, Tian Li, Yong Cui, Mei Jin, Da-Lei Yao, Ming-Shan Zheng, Zhen-Hua Lin, Jiong-Mo Cui, and Gao Li. "Chemical constituents from the aerial parts of *Melandrium firmum*", Archives of Pharmacal Research, 2015.

Publication

<1%

10

Maša Kandušer. "Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview", Food Engineering Series, 2009

Publication

<1%

11

[digilib.its.ac.id](http://digilib.its.ac.id)

Internet Source

<1%

12

[www.tamanhusadagrahafamili.com](http://www.tamanhusadagrahafamili.com)

Internet Source

<1%

13

[brc-pondokgede.com](http://brc-pondokgede.com)

Internet Source

<1%

14

[adharaspica.blogspot.com](http://adharaspica.blogspot.com)

Internet Source

<1%

15

Saurabh Chattopadhyay. "Bioprocess considerations for production of secondary

<1%

metabolites by plant cell suspension cultures",  
Biotechnology and Bioprocess Engineering,  
06/2002

Publication

16

[citeseerx.ist.psu.edu](http://citeseerx.ist.psu.edu)

Internet Source

<1%

17

[luqmanmaniabgt.blogspot.com](http://luqmanmaniabgt.blogspot.com)

Internet Source

<1%

18

[repositorio-aberto.up.pt](http://repositorio-aberto.up.pt)

Internet Source

<1%

19

[repository.usu.ac.id](http://repository.usu.ac.id)

Internet Source

<1%

20

[www.docstoc.com](http://www.docstoc.com)

Internet Source

<1%

21

Benoit, F.. "Antimalarial activity in vitro of  
Cochlospermum tinctorium tubercle extracts",  
Transactions of the Royal Society of Tropical  
Medicine and Hygiene, 199503/04

Publication

<1%

22

[eprints.ums.ac.id](http://eprints.ums.ac.id)

Internet Source

<1%

23

Mushke, Ramesh, Rajesh Yarra, Venugopal  
Rao Kokkerala, and Sadanandam Abbagani.  
"Cell, Tissue Culture, and Gene Transfer  
Techniques for Tasar (Wild) Sericulture Plants

<1%

—Introspect and Prospect", Journal of Sustainable Forestry, 2014.

Publication

---

24 [www.inast.org](http://www.inast.org) <1%  
Internet Source

---

25 [fr.scribd.com](http://fr.scribd.com) <1%  
Internet Source

---

26 [jurnal.untad.ac.id](http://jurnal.untad.ac.id) <1%  
Internet Source

---

27 Srivastava, Dinesh, Geetika Gambhir, and Poornima Sharma. "Plant Cell and Tissue Culture Techniques in Crop Improvement", Biotechnology in Agriculture and Food Processing Opportunities and Challenges, 2013. <1%  
Publication

---

28 [journal.uad.ac.id](http://journal.uad.ac.id) <1%  
Internet Source

---

29 [www.pakbs.org](http://www.pakbs.org) <1%  
Internet Source

---

30 [staff.uny.ac.id](http://staff.uny.ac.id) <1%  
Internet Source

---

31 [eprints.undip.ac.id](http://eprints.undip.ac.id) <1%  
Internet Source

---

32 [mdpi.com](http://mdpi.com)

<1%

33

Hideo Tanaka, Takanori Yamashita, Hideki Aoyagi, Yoshinari Yamamoto, Yukio Fukunaga. "Efficient production of chitinase by *Wasabia japonica* protoplasts immobilized in double-layered gel fibers", *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1996

Publication

<1%

34

[bdkbandung.kemenag.go.id](http://bdkbandung.kemenag.go.id)

Internet Source

<1%

35

[repository.uin-malang.ac.id](http://repository.uin-malang.ac.id)

Internet Source

<1%

36

Abdel-Rahman, Iman A.M., Till Beuerle, Ludger Ernst, Afaf M. Abdel-Baky, Ezz El-Din K. Desoky, Amany S. Ahmed, and Ludger Beerhues. "In vitro formation of the anthranoid scaffold by cell-free extracts from yeast-extract-treated *Cassia bicapsularis* cell cultures", *Phytochemistry*, 2013.

Publication

<1%

37

Rasoanaivo, P.. "Medicinal plants used to treat malaria in Madagascar", *Journal of Ethnopharmacology*, 199209

Publication

<1%

38

[www.scienceworldjournal.org](http://www.scienceworldjournal.org)

Internet Source

<1%

39

[www.editora.ufla.br](http://www.editora.ufla.br)

Internet Source

<1%

40

[www.kemkes.go.id](http://www.kemkes.go.id)

Internet Source

<1%

41

[www.rijksoverheid.nl](http://www.rijksoverheid.nl)

Internet Source

<1%

42

[sutir.sut.ac.th:8080](http://sutir.sut.ac.th:8080)

Internet Source

<1%

43

Recent Trends in Biotechnology and  
Therapeutic Applications of Medicinal Plants,  
2013.

Publication

<1%

44

[tissuecultureandorchidologi.blogspot.com](http://tissuecultureandorchidologi.blogspot.com)

Internet Source

<1%

45

[iptek.apjii.or.id](http://iptek.apjii.or.id)

Internet Source

<1%

46

Qiu, L.. "Preparation and characterization of  
Mg(OH)<sup>2</sup> nanoparticles and flame-retardant  
property of its nanocomposites with EVA",  
Composite Structures, 2003

Publication

<1%

47

[ej.kubagro.ru](http://ej.kubagro.ru)

Internet Source

<1%

---

48

[d-nb.info](http://d-nb.info)

Internet Source

<1%

---

49

[genome.cshlp.org](http://genome.cshlp.org)

Internet Source

<1%

---

50

[eprints.umk.ac.id](http://eprints.umk.ac.id)

Internet Source

<1%

---

51

[repository.ipb.ac.id](http://repository.ipb.ac.id)

Internet Source

<1%

---

52

[ir.lib.uth.gr](http://ir.lib.uth.gr)

Internet Source

<1%

---

53

[medialaborananakesuit.blogspot.com](http://medialaborananakesuit.blogspot.com)

Internet Source

<1%

---

54

[lambung.cs.ui.ac.id](http://lambung.cs.ui.ac.id)

Internet Source

<1%

---

55

[e-journal.biologi.lipi.go.id](http://e-journal.biologi.lipi.go.id)

Internet Source

<1%

---

56

Mustamin Anwar Masuku. "Efektivitas konsentrasi natrium bisulfit dan lama blanching terhadap parameter kualitas tepung jambu mete", Agrikan: Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan, 2014

Publication

<1%

---

57

[indonesiabch.or.id](http://indonesiabch.or.id)

Internet Source

<1%

---

58	<a href="http://tailieu.tv">tailieu.tv</a> Internet Source	<1%
59	<a href="http://www.parkourindonesia.web.id">www.parkourindonesia.web.id</a> Internet Source	<1%
60	<a href="http://ejournal.unesa.ac.id">ejournal.unesa.ac.id</a> Internet Source	<1%
61	<a href="http://karya-ilmiah.um.ac.id">karya-ilmiah.um.ac.id</a> Internet Source	<1%
62	<a href="http://mbahragilblog.blogspot.com">mbahragilblog.blogspot.com</a> Internet Source	<1%
63	<a href="http://repository.sb.ipb.ac.id">repository.sb.ipb.ac.id</a> Internet Source	<1%
64	<a href="http://repository.upi.edu">repository.upi.edu</a> Internet Source	<1%
65	<a href="http://bapendik.unsoed.ac.id">bapendik.unsoed.ac.id</a> Internet Source	<1%
66	<a href="http://www.pdii.lipi.go.id">www.pdii.lipi.go.id</a> Internet Source	<1%
67	<a href="http://journal.ipb.ac.id">journal.ipb.ac.id</a> Internet Source	<1%
68	<a href="http://ojs.polinpdg.ac.id">ojs.polinpdg.ac.id</a> Internet Source	<1%
69	<a href="http://perkebunan.litbang.deptan.go.id">perkebunan.litbang.deptan.go.id</a> Internet Source	<1%

<1%

70

Sridhar, Thulasi Muneppa, and Chenna Reddy Aswath. "Review on Medicinal Plants Propagation: A Comprehensive Study on Role of Natural Organic Extracts in Tissue Culture Medium", American Journal of Plant Sciences, 2014.

Publication

<1%

71

[togakita.com](http://togakita.com)

Internet Source

<1%

72

[reskarandika.blogspot.com](http://reskarandika.blogspot.com)

Internet Source

<1%

73

[rennioctavyan.blogspot.com](http://rennioctavyan.blogspot.com)

Internet Source

<1%

74

[opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de](http://opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de)

Internet Source

<1%

75

Nawaz, Muhammad A., Yuan Huang, Zhilong Bie, Waqar Ahmed, Russel J. Reiter, Mengliang Niu, and Saba Hameed. "Melatonin: Current Status and Future Perspectives in Plant Science", Frontiers in Plant Science, 2016.

Publication

<1%

76

Biotechnological strategies for the conservation of medicinal and ornamental climbers, 2016.

Publication

<1%



---

Exclude quotes      Off

Exclude matches      Off

Exclude bibliography      On

# PRODUKSI SENYAWA ANTIMALARIA DARI KALUS *Sonchus arvensis* L. : UPAYA PENANGANAN PENYAKIT INFEKSI

---

## GRADEMARK REPORT

---

FINAL GRADE

**/0**

GENERAL COMMENTS

**Instructor**

---

PAGE 1

---

PAGE 2

---

PAGE 3

---

PAGE 4

---

PAGE 5

---

PAGE 6

---

PAGE 7

---

PAGE 8

---

PAGE 9

---

PAGE 10

---

PAGE 11

---

PAGE 12

---

PAGE 13

---

PAGE 14

---

PAGE 15

---

PAGE 16

---

PAGE 17

---

PAGE 18

---

PAGE 19

---

PAGE 20

---

PAGE 21

---

PAGE 22

---

PAGE 23

---

PAGE 24

---

PAGE 25

---

PAGE 26

---

PAGE 27

---

PAGE 28

---

PAGE 29

---

PAGE 30

---

PAGE 31

---

PAGE 32

---

PAGE 33

---

PAGE 34

---

PAGE 35

---

PAGE 36

---

PAGE 37

---

PAGE 38

---