

## EKSTRAKSI FIKOSIANIN DARI *Spirulina platensis* DAN AKTIVITAS ANTIMALARIA SECARA INVITRO

### *Phycocyanin Extraction from Spirulina platensis and Its Antimalarial Activity In-Vitro*

Diah Anggraini Wulandari<sup>1\*</sup>, Iriani Setyaningsih<sup>1</sup>, Din Syafrudin<sup>2</sup>,  
Puji Budi Setia Asih<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680. Telepon 0251-8622915, faks. 0251-8622916.

<sup>2</sup>Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, Jalan Diponegoro, Salemba, Jakarta Pusat

\*Korespondensi: [didia.thp@gmail.com](mailto:didia.thp@gmail.com)

Diterima: 23 Maret 2016/Review: 1 Maret 2016/ Disetujui: 12 April 2016

**Cara sitasi:** Wulandari DA, Setyaningsih I, Asih PBS. 2016. Ekstraksi dan aktivitas antimalaria fikosianin dari *Spirulina platensis* secara in vitro. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(1): 17-25.

#### Abstrak

Fikosianin merupakan pigmen protein kompleks dari phycobiliprotein yang sering ditemukan pada cyanobacter. Fikosianin dihasilkan dari *Phanizomenon flos-aquae* dan *Spirulina sp.* Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pelarut terbaik pada purifikasi fikosianin yang berasal dari *Spirulina platensis* menggunakan tiga jenis pelarut yaitu buffer fosfat, air, dan aseton ammonium sulfat, serta menentukan aktivitas antimalaria secara invitro dari fikosianin yang diekstrak dengan pelarut terbaik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan C-fikosianin (C-PC), rendemen dan protein pada fikosianin yang diekstraksi menggunakan buffer fosfat yaitu 8 mg/mL, 20,22%, 1,88%, fikosianin yang diekstraksi menggunakan air yaitu 6,63 mg/mL, 16,58%, 3,51%, dan fikosianin yang diekstraksi menggunakan aseton ammonium sulfat yaitu 2,86 mg/mL, 7,15%, 8,4%. Buffer fosfat merupakan pelarut terbaik pada ekstraksi fikosianin yang berasal dari *S. platensis*. Fikosianin dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* galur 3D7 dengan IC<sub>50</sub> 158,489 µg/mL. Mekanisme fikosianin dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum* diduga merusak polimerasi hemozoin dengan cara pembentukan ikatan antara C-PC dan ferriprotoporphyrin-IX pada permukaan membran plasma.

Kata kunci: aktivitas antimalaria, C-fikosianin, in-vitro kultur, *Plasmodium falciparum*, *Spirulina platensis*

#### Abstract

Phycocyanin is a pigment-protein complex from the light-harvesting phycobiliprotein family which is often found in cyanobacteria. The product phycocyanin produced by *phanizomenon flos-aquae* and *Spirulina sp.* The aim of this study were to determine the best solvents purification phycocyanin from *Spirulina platensis* in three solvents, phosphate buffer, water and acetone ammonium sulphate and to evaluate the antimalarial activity in vitro of phycocyanin in the best solvent extraction from *S. platensis*. The method of this study was using in-vitro antimalarial method. The result showed C- phycocyanin (C-PC), yield, and protein contents of phycocyanin were 8 mg/mL, 20.22%, 1.88% extracted and purified by phosphate buffer, 6.63 mg/mL, 16.58 %, 3.51% extracted and purified by water, 2.86 mg/mL, 7.15%, 8.4% extracted and purified by acetone ammonium sulphate respectively. Phosphate buffer was the best solvent of phycocyanin extraction from *S. platensis*. Antimalarial activity in vitro of phycocyanin in hosphate buffer against *Plasmodium falciparum* strains 3D7 with IC<sub>50</sub> was 158,489 µg/mL. The possible mechanism might be relied on the destruction of polymerization of Haemozoin by binding of C-PC with ferriprotoporphyrin-IX at the water surface of the plasma membrane.

Keywords: antimalarial activity, C-phycocyanin, in-vitro culture, *Plasmodium falciparum*, *Spirulina platensis*

#### PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium*

yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Malaria juga dapat ditularkan melalui transfusi darah, jarum suntik, serta ibu

hamil kepada bayinya (Mackintosh 2004). Ada lima spesies *Plasmodium* penyebab malaria pada manusia, yaitu *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. malariae*, dan *P. ovale* (Tarmuz 2003). Setiap tahun lebih dari 500 juta penduduk dunia terinfeksi malaria dan lebih dari 1.000.000 orang meninggal dunia (WHO 2013). Indonesia merupakan negara endemis malaria dengan spesies yang paling banyak dijumpai adalah *P. falciparum* dan *P. vivax*. *Plasmodium falciparum* merupakan spesies yang paling berbahaya terhadap manusia karena dapat menyebabkan infeksi akut. Kasus malaria terjadi pada tahun 2008-2013 di beberapa daerah seperti Papua (42,65 per 1.000 penduduk), Papua Barat (38,44 per 1000 penduduk) dan NTT (16,37 per 1.000 penduduk) (KEMENKES RI 2014). Peningkatan kasus malaria disebabkan oleh berbagai macam faktor antara lain resistensi obat malaria. Angka resistensi di Irian Jaya dan di daerah Mandailing Natal Sumatera Utara sekitar 75% sampai 95% dimana resistensi terhadap klorokuin sekitar 32% dan terhadap Sulfadoksin Pirimetamin (SP) 29% (KEMENKES RI 2004).

World Health Organization (WHO) tahun 2001 dan Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2004 merekomendasikan *Artemisinin based Combination Therapy* (ACT) sebagai obat pilihan pengganti klorokuin dan Sulfadoksin Pirimetamin (SP) dalam rangka mengatasi kasus resistensi tersebut, namun belakangan ini resistensi terhadap obat antimalaria golongan artemisin telah ditemukan di Kamboja, Myanmar, Thailand, dan Vietnam. Hasil penelitian Dondorp *et al.* (2009) menunjukkan adanya penurunan efektivitas pengobatan dengan artemisin di daerah perbatasan Kamboja-Thailand yang ditandai oleh *clearance* parasit yang melambat secara *in-vivo*. Resistensi obat berpotensi menyebabkan kematian pada penderita akibat timbulnya berbagai penyakit, misalnya liver, ginjal, kecacatan lahir, bayi prematur, keguguran pada ibu hamil. Hal ini menimbulkan kekhawatiran bagi masyarakat maupun WHO, oleh sebab itu

perlu adanya pengembangan obat baru dengan memanfaatkan *natural product*. Pemilihan obat yang berbasis bahan alami diharapkan mampu menurunkan resiko resistensi, dan tidak menimbulkan residu pada penderita malaria. Salah satu bahan alami yang dapat dikembangkan adalah fikosianin yang berasal dari *Spirulina platensis*.

Fikosianin merupakan senyawa protein yang termasuk kedalam kelompok fikobilliprotein berwarna biru digunakan sebagai penyimpan cadangan nitrogen pada cyanobacter. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fikosianin dapat digunakan sebagai antioksidan (Estrada *et al.* 2001; Benedetti *et al.* 2004; Enriksen 2008; McCarty 2007), anti-inflamasi (Romay *et al.* 2003; Jensen *et al.* 2001; McCarty 2007), dan anti tumor (Jensen *et al.* 2001). *Spirulina platensis* mengandung pigmen fikosianin yang membantu meningkatkan aktifitas unsur-unsur antibodi untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh virus, bakteri, maupun parasit, sehingga tubuh memiliki daya tahan yang lebih kuat (Richmond 2004). Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa fikosianin berfungsi sebagai antimalaria hal ini diperkuat oleh Pankaj *et al.* (2010) yang melaporkan bahwa 3 µg/mL fikosianin yang berasal dari Nostoc (Cyanobacter) dapat menghambat pertumbuhan parasit *P. falciparum* dengan nilai  $IC_{50}$  8,4-12,0 µg/mL, dengan demikian diduga bahwa fikosianin yang berasal dari *S. platensis* juga memiliki aktivitas antimalaria yang sama seperti halnya fikosianin yang berasal dari Nostoc, oleh karena itu perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antimalaria dari fikosianin yang berasal *S. platensis*.

*Spirulina* mengandung 20% fikosianin yang stabil pada pH 4,5-8,0 dengan suhu konstan 60°C dan peka terhadap cahaya (Cohen 1997), pigmen ini larut dalam air dan pelarut polar lainnya. Perbedaan pelarut dan metode ekstraksi akan menghasilkan kuantitas dan kualitas fikosianin yang berbeda. Hasil penelitian Silveira *et al.* (2007) menunjukkan bahwa fikosianin yang diekstrak menggunakan

air dan bufer fosfat menghasilkan konsentrasi *C-phycoyanin* yang berbeda yaitu 3,73 mg/mL dan 4,20 mg/mL. Sivasankari (2014) melaporkan bahwa fikosianin yang diekstrak menggunakan beberapa pelarut berbeda misalnya bufer sodium fosfat, asam organik, dan asam organik selama 48 jam menghasilkan rendemen yang berbeda berturut-turut yaitu 0,5 mg/g, 0,13 mg/g dan 0,57 mg/g. Hal ini membuktikan bahwa jenis pelarut berpengaruh terhadap rendemen dan konsentrasi *C-phycoyanin* yang dihasilkan. Pelarut yang direkomendasikan dalam ekstraksi fikosianin pada penelitian ini yaitu aseton. Sedjati *et al.* (2012) menyatakan bahwa aseton merupakan pelarut nonpolar yang dapat melarutkan klorofil pada *Spirulina*, sehingga diharapkan aseton dapat mereduksi klorofil dan meningkatkan produksi fikosianin yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pelarut terbaik dalam ekstraksi fikosianin menggunakan tiga jenis pelarut berbeda (bufer fosfat, air, dan ammonium sulfat dalam aseton) dan aktivitas antimalaria fikosianin terpilih dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum* 3D7.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kapsul *Spirulina* komersial, air tawar, air laut, inokulum *Spirulina platensis* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara-Jawa Tengah, media *Walne*, etanol, bufer fosfat, akuades, aseton, dan amonium sulfat, BSA, *Folin-ciocalteu-fenol*, Cu-alkali, HCl 2N, artemisinin, *P. falciparum* 3D7 (*cloroquine sensitive*) yang diperoleh dari Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, RPMI 1640 (Sigma-Alorich), HEPES (Sigma), NaHCO<sub>3</sub> (Sigma®), disinfektan (baycline), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, antibiotik gentamisin injeksi (Sigma® G1397), NaCl 3,5 %, sorbitol 5%, serum darah, sel darah merah, antikoagulan sitrat fosfat dektrosa (CPD), giemsa (Merck KGaA), akuabidestilata, nitrogen cair.

Alat yang digunakan meliputi peralatan kultivasi yaitu akuarium, toples, *nylon mesh*, selang, *aerator*, alat gelas, dan *Water Quality Meter* (WQM), timbangan digital (Quattro), *rotary evaporator* (Heidolph VV 2000), *vortex* (Thermolyne), sentrifuse (*Heraeus pyco17*), *oven*, *biosafety cabinet* (Hera SafeKSP, *Thermo scientific*), *multiple plate 48 well* (Costar 3596, Corning), *multiple plate 24 well* (Nunclon surface), inkubator (Heraeus instrument), *TEM cutting microscope* (Reichert ultracut 5 Leica), *candle jar*, dan mikroskop cahaya (*Zeiss axiokop*).

### Kultivasi *S. platensis* (Diharmi *et al.* 2001)

Kultivasi *S. platensis* mengacu pada Diharmi *et al.* (2001) dengan cara *S. platensis* dikultivasi menggunakan media *Walne*, suhu 25°C, intensitas cahaya 3000 lux perbandingan terang: gelap 16:8 (jam), salinitas air laut 15 ppt dan bibit yang digunakan 20% dari volume kultur. *Spirulina platensis* dipanen pada hari ke 7-8 dengan OD lebih dari 0,8 pada fase *end log-stasioner*. Biomassa dikeringkan menggunakan oven suhu 40°C untuk mendapatkan serbuk *S. platensis*.

### Ekstraksi Fikosianin (Pankaj *et al.* 2011)

Ekstraksi fikosianin dilakukan dengan cara serbuk *Spirulina* diekstrak menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda yaitu bufer fosfat, air, dan aseton. Ekstraksi fikosianin menggunakan bufer fosfat dan air mengacu pada Silveira *et al.* (2007) yang dilakukan dengan cara melarutkan serbuk *Spirulina* 0,04 g menggunakan 1 mL bufer sodium fosfat 10 mM pH 7,0 (NaOH-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) atau air. Sampel dihomogenkan lalu disimpan pada suhu 4°C selama 3 hari. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm, suhu 4°C selama 5 menit. Supernatan hasil sentrifugasi merupakan fikosianin yang akan dianalisis pada tahap selanjutnya.

Ekstraksi menggunakan aseton mengacu pada Pankaj *et al.* (2010) yang dilakukan dengan cara serbuk *Spirulina* dilarutkan menggunakan aseton 80% kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 4°C. Suspensi disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm, suhu 4°C selama 10 menit. Pelet ditambahkan 20 mL air diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Suspensi disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan supernatan yang mengandung *phycobiliproteins*, kemudian *phycopiliproteins* dipresipitasi dengan penambahan 70% amonium sulfat  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , dihomogenkan, kemudian disentrifugasi kembali pada 5.000 rpm, suhu 4°C selama 10 menit. Pelet hasil sentrifugasi dilarutkan kedalam 50 mM bufer fosfat pH 7,0 kemudian suspensi disentrifugasi pada 3.500 rpm, suhu 4°C, selama 5 menit. Supernatan fikosianin diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 615 nm, 620 nm dan 652 nm. Perhitungan *C-phycoyanin* (C-PC) dan rendemen mengacu pada Bennett dan Bogorad (1973), sedangkan pengujian total protein mengacu pada metode Lowry (1951). Perhitungan konsentrasi *C-phycoyanin* (C-PC) dan rendemen dapat dilihat dibawah ini:

$$\text{CPC (mg/mL)} = \frac{[(\text{OD } 615) - 0,474 (\text{OD } 652)]}{5,34}$$

$$\text{Rendemen PC} = \frac{\text{PC} \times \text{V}}{\text{DB}}$$

Keterangan:

CPC = Konsentrasi C-fikosianin (mg/mL)

V = Volume pelarut (mL)

DB = Biomassa kering (gram)

### Analisis Aktivitas Antimalaria Secara *In-vitro*

Analisis aktivitas antimalaria mengacu pada Jansen (2000). Konsentrasi fikosianin yang digunakan pada pengujian  $\text{IC}_{50}$  yaitu  $10^{-2}$ - $10^4$  µg/mL, sedangkan konsentrasi artemisinin yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu

$10^{-3}$ - $10^{-13}$  M. Pengujian antimalaria secara *in-vitro* pada parasit *P. falciparum*. Pengujian ini dilakukan dengan penentuan penghambatan parasit *Plasmodium*. Kepadatan parasitemia yang digunakan yaitu 1-2 %, setiap *well* ditambahkan 180 µL kultur sel parasit dan 20 µL fikosianin. Pengenceran dilakukan secara bertingkat hingga konsentrasi 0,01 µg/mL, kemudian kultur parasit yang telah dipaparkan fikosianin diinkubasi suhu dengan 37°C selama 48 jam. Jumlah parasitemia diamati dengan membuat apusan darah tipis lalu diberi pewarna giemsa dan dihitung dibawah mikroskop dengan minimal 1.000 eritrosit. Persentase laju pertumbuhan parasit dapat dilihat sebagai berikut:

$$\text{Parasit (\%)} = \left( \frac{\text{P}}{\text{RBC}} \right) \times 100\%$$

$$\text{Penghambatan (\%)} = \left( \frac{\text{P}}{\text{RBC}} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

P = Jumlah Parasit

RBC = Jumlah sel darah (minimal 1.000 eritrosit)

Nt = Jumlah hidup *P. falciparum* pada sumur pengujian

Nc = Jumlah hidup *P. falciparum* pada sumur kontrol

### Analisis Data

Analisis statistik yang digunakan yaitu RAL (Rancangan acak lengkap) yang mengacu pada Walpole (1995). Evaluasi data ekstraksi fikosianin melibatkan perbedaan jenis pelarut sebagai perlakuan, sedangkan pengujian antimalaria dianalisis menggunakan regresi linier, Analisis data dilakukan dengan *Analysis of Variant* (ANOVA) pada selang kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ). Perlakuan yang berpengaruh terhadap respon, selanjutnya diuji lanjut Duncan. Model RAL, dengan percobaan dua faktor adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

$\mu$  : rata-rata fikosianin

$Y_{ij}$  : jumlah fikosianin dari perlakuan ke-i, ulangan ke-j

Tabel 1 Rendemen *Spirulina platensis* yang dikultivasi menggunakan media Walne

Tempat	Volume (L)	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen
Toples	2	4,46	0,44	0,22±0,05
Akuarium	40	50,61	5,77	0,14±0,22

$\alpha_i$  : pengaruh dari pelarut ke-i (1: buffer fosfat, 2: amonium sulfat+aseton, 3: air)

$\epsilon_{ij}$  : pengaruh fikosianin pada perlakuan pelarut ke-1, ulangan ke-3

## HASIL DAN PEMBAHASAN

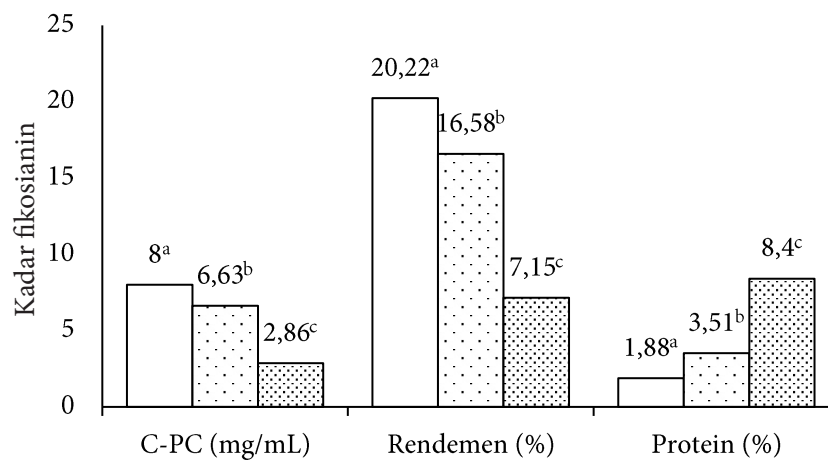
### Kultur *Spirulina platensis*

*Spirulina platensis* yang dikultivasi didalam toples menggunakan media Walne memiliki rendemen biomassa yang lebih tinggi dibandingkan *S. platensis* yang dikultivasi didalam akuarium (Tabel 1). Perbedaan rendemen disebabkan pengaruh bentuk wadah terhadap penetrasi cahaya. Cahaya yang masuk pada wadah berbentuk silinder bersifat konvergen atau menuju ke satu arah sedangkan penetrasi cahaya pada wadah dengan bentuk persegi panjang cenderung bersifat divergen atau menyebar ke segala arah (Evan & Benjamin 1981). Cahaya merupakan faktor penting dalam pertumbuhan *S. platensis* yang dibutuhkan pada proses fotosintesis untuk pembentukan metabolit primer dan skunder.

### Fikosianin

Fikosianin adalah *accessory* pigmen dari klorofil a yang merupakan pigmen fotosintesis yang terkandung dalam mikroalga hijau-biru seperti halnya *S. platensis*. Hasil analisis fikosianin meliputi konsentrasi C-phycoyanin (C-PC), rendemen, dan total protein dari fikosianin yang diekstraksi menggunakan tiga jenis pelarut dapat dilihat pada Gambar 1.

Konsentrasi C-phycoyanin (C-PC) yang diekstraksi menggunakan buffer fosfat berbeda nyata terhadap fikosianin yang diekstraksi menggunakan air dan aseton+ammonium sulfat ( $p < 0,05$ ). Konsentrasi C-PC pada ekstraksi menggunakan buffer fosfat lebih tinggi dibandingkan pelarut lain karena perbedaan tingkat kepolaran bahan pelarut. Hasil ini selaras dengan penelitian Silveira *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa fikosianin yang diekstrak menggunakan buffer fosfat memiliki kandungan C-PC yang lebih tinggi dibandingkan air,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaCl}$ , yaitu 4,2 mg/mL. Diharmi (2001) melaporkan bahwa



Gambar 1 Konsentrasi *C-phycoyanin*, rendemen dan total protein pada *S. platensis* yang diekstrak menggunakan pelarut yang berbeda. (□ bufer fosfat, ▨ air, ▩ aseton). Nilai dengan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).



biomassa sel *S. platensis* akan jauh lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti pada air dan larutan penyangga (buffer) bila dibandingkan dengan pelarut kurang polar seperti aseton atau kloroform.

Rendemen fikosianin yang diekstraksi menggunakan buffer fosfat berbeda nyata terhadap air dan aseton ( $p < 0,05$ ). Rendemen fikosianin tertinggi terdapat pada ekstraksi menggunakan buffer fosfat, yaitu 20,22% dari bobot keringnya. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada penelitian Silveira *et al.* (2004) yang menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan 0,1 M Na phosphate buffer memiliki rendemen 11,62% lebih tinggi dibandingkan 1%  $\text{CaCl}_2$  4,47% dan air 4,68%. Setyantini *et al.* (2014) menyatakan bahwa pelarut Na buffer fosfat mampu menarik fikosianin lebih efisien dibanding pelarut lainnya karena memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi sehingga rendemen fikosianin yang dihasilkan pada ekstraksi menggunakan buffer fosfat lebih banyak dibandingkan air dan aseton. Sedjati *et al.* (2012) menyatakan Indeks kepolaran buffer fosfat, air, dan aseton berturut-turut adalah 7,0, 6,8, dan 20,70

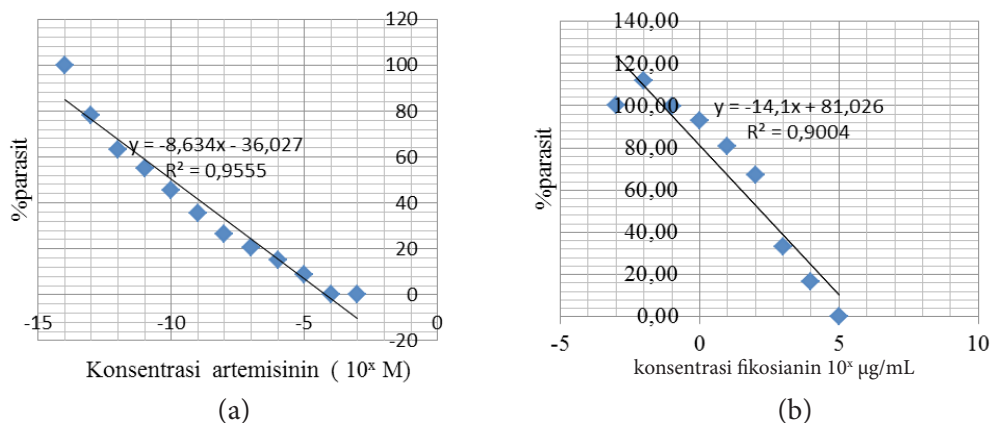
Kandungan protein pada fikosianin yang diekstraksi menggunakan buffer fosfat berbeda nyata terhadap air dan aseton ( $p < 0,05$ ). Kandungan protein terendah terdapat pada ekstraksi fikosianin menggunakan buffer fosfat yaitu 1,88%, hal ini menunjukkan tingkat kemurnian

fikosianin yang diekstraksi menggunakan buffer fosfat lebih tinggi dibandingkan dengan air dan aseton+ammonium sulfat. Kula *et al.* (1987) menyatakan bahwa buffer fosfat dapat menghambat aktivitas enzim seperti karboksilase, fumarase, dan pospoglucomutase yang berfungsi sebagai pendegradasi dan mencegah perubahan molekul protein pada ekstraksi fikosianin sehingga pemecahan sel menggunakan buffer fosfat lebih stabil dibandingkan pelarut lainnya, selain itu Pankaj *et al.* (2010) menyatakan bahwa ammonium sulfat dapat terdekomposisi menjadi ammonia, nitrogen, sulfur dioksida dan air pada suhu tinggi sehingga protein yang terukur bukan hanya fikosianin namun juga hasil dekomposisi dari ammonium sulfat. Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa pelarut terbaik dalam ekstraksi *phycoyanin* adalah buffer fosfat.

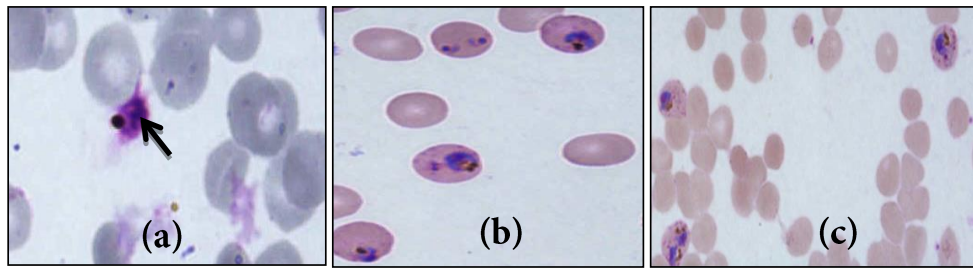
### Aktivitas Antimalaria Fikosianin

Aktivitas antimalaria digunakan untuk mengetahui penghambatan pertumbuhan *P. falciparum* 3D7 (*sensitive cloroquine*) yang dilakukan dengan cara menghitung nilai  $\text{IC}_{50}$  (50% *inhibitory concentration*) pada artemisinin dan fikosianin. Nilai  $\text{IC}_{50}$  penghambatan pertumbuhan parasit *P. falciparum* 3D7 yang dipaparkan artemisinin dan fikosianin dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol positif artemisinin dapat menghambat



Gambar 2 Kurva pertumbuhan parasit *P. falciparum* 3D7 yang dipaparkan artemisinin (a) dan fikosianin (b).



Gambar 3 Morfologi *P. falciparum* 3D7 yang dipaparkan (a) artemisinin, (b) fikosianin, (c) kontrol yang dilihat dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x. \*Tanda panah menunjukkan kerusakan sel parasit

pertumbuhan *P. falciparum* dengan  $IC_{50}$  0,0003  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan  $IC_{50}$  fikosianin yaitu 158,489  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas antimalaria fikosianin lebih lemah dibandingkan dengan artemisinin sebagai kontrol positif hal ini disebabkan senyawa artemisinin dapat menyebabkan kematian parasit, gangguan pada stadium perkembangan morfologi parasit yang menyebabkan kerusakan sel *P. falciparum* 3D7 (Gambar 3), sedangkan fikosianin tidak mampu menghambat pertumbuhan *P. falciparum* seperti halnya artemisinin. Parasit kontrol (tidak dipaparkan dengan senyawa apapun) dan parasit yang dipaparkan fikosianin tumbuh menjadi trophozoit dewasa, memiliki organel sel yang sempurna dan tidak terjadi kerusakan sel, sedangkan parasit yang dipaparkan artemisinin (kontrol positif) mengalami bentuk krisis terlihat dari inti yang menebal dan berwarna gelap (Gambar 3). Kerusakan sel pada parasit yang dipaparkan artemisinin menunjukkan bahwa senyawa artemisinin dapat menghambat pertumbuhan parasit *P. falciparum* 3D7.

Mekanisme senyawa artemisinin dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum* yaitu dengan cara pembentukan radikal oksigen sebagai penyusun radikal bebas karbon (carbon center radical) yang akan mengalkilasi molekul heme (O'Neill *et al.* 2004; Ding *et al.* 2011). Pembentukan ikatan antara heme dan artemisinin dapat menghambat proses polimerisasi heme, sehingga heme bersifat toksik dan menyebabkan kematian pada

parasit malaria (Kannan *et al.* 2002), selain itu mekanisme lain yang berperan yaitu artemisinin hybrid (*Artemisinin dipeptidyl vinyl sulfon hybrid*) juga dapat menghambat falcipain yang berfungsi memecah hemoglobin menjadi globin, peptida (oligo peptidase) dan heme. Penghambatan ini menyebabkan proses penguraian hemoglobin menjadi terganggu dan asam amino tidak terbentuk sehingga terjadi kematian parasit atau perlambatan pada pertumbuhan parasit (Na *et al.* 2004).

Aktivitas antimalaria fikosianin pada penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya Pankaj *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa fikosianin yang berasal dari *Nostoc* (Cyanobacter) dapat menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium* dengan nilai  $IC_{50}$  8,4-12,0  $\mu\text{g/mL}$ . Perbedaan ini disebabkan tidak adanya purifikasi dan fraksinasi pada proses ekstraksi fikosianin sehingga fikosianin yang digunakan masih dalam bentuk ekstrak kasar hal ini dibuktikan dengan ratio purity C-PC pada penelitian Pankaj *et al.* (2010) yang difraksinasi menggunakan ammonium sulfat 35-70% berkisar antara 0,41- 0,64 sedangkan ratio purity pada ekstrak kasar C-PC yaitu 0,99. *Ratio purity* C-PC yang tinggi menunjukkan tingkat kemurnian yang rendah. Mekanisme fikosianin yang mungkin terjadi pada penghambatan *P. falciparum* di duga dengan cara merusak polimerisasi hemozoin dengan pembentukan ikatan antara C-PC dan ferriprotoporphyrin-IX pada permukaan membran plasma.

## KESIMPULAN

*Spirulina platensis* yang dikultur menggunakan toples memiliki rendemen yang lebih tinggi dibanding *S. platensis* yang dikultur menggunakan akuarium. Pelarut terbaik pada ekstraksi fikosianin yaitu buffer fosfat dengan konsentrasi C-fikosianin 8 mg/mL, rendemen fikosianin 20,22% dan kandungan protein pada fikosianin 1,88 %. Fikosianin dari *S. platensis* yang diekstraksi menggunakan buffer fosfat memiliki  $IC_{50}$  158,489  $\mu$ g/mL.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bennett A, Bogorad L. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green algae. *Journal Cell Biology* 58(2):419–435.
- Benedetti S, Benvenuti F, Pagliarani S, Francogli S, Scoglio S, Canestrari F. 2004. Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green algae *Aphanizomenon flos-aquae*. *Life Sciences* 75(1):2353–2362.
- Belay A. 2002. *Spirulina* (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *Journal American Nutrition Association* 5(2): 27-48.
- Cohen Z. 1997. The Chemicals of *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology. *Vonshak* 175-204.
- Capelli B, Cysewski GR. 2010. Potential health benefits of *Spirulina* microalgae. A review of the existing literature. Cyanotech Corporation. Hawaii, 96740, USA. [www.cyanotech.com. hal 8].
- Diharmi A. 2001. Pengaruh pencahayaan terhadap kandungan pigmen bioaktif mikroalga *Spirulina platensis* strain local (INK). [Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor. 78 hlm.
- Estrada JE, Pin˜ero, Bermejo P, Besco, Villar del Fresno AM. 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protein extract. *Journal Farmaco* 56(1):497–500.
- Eriksen NT. 2008. Production of phycocyanin –a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Journal of Microbiology Biotechnoogy* 80(3):1-14.
- Jansen JB. 2000. In vitro culture of *Plasmodium* parasites. Editor by : Denise L. Dolan In book: *Malaria Methods and Protocols*. Human Press.
- Jensen GS, Ginsberg DI, Drapeau C. 2001. Blue-green algae as an immuno enhancer and biomodulator. *Journal of American Nutrition Association* 3(4):24-30.
- [KEMENKES RI]<sup>a</sup> Kementerian Kesehatan RI. 2014. Situasi Malaria Indonesia [Buletin]. www.depkes.go.id.
- [KEMENKES RI]<sup>b</sup> Kementerian Kesehatan RI. b. 2004. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia tentang Eliminasi malaria. www.depkes.go.id
- Lowry OH. 1951. The Lowry protein assay. *Journal of Biology and Chemistry* 193(1): 265-275.
- Mackintosh CL, Beeson JG, Marsh K. 2004. Clinical features and pathogenesis of severe malaria. *Journal Of Trends In Parasitology* 20(3):597-603.
- McCarty MF. 2007. Clinical Potential of *Spirulina* as a Source of Phycocyanobilin. *Journal of Medicinal Food* 10(4):566-570.
- Omoregie ES, Sisodia BS. 2012. Invitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of leaf extract of *Jatropha tanjorensis* J.L elii and saroja. *Bayero Journal of pure and applied science* 5(1):90-97.
- Pankaj p, Mallick N, Varma. 2010. Invitro antimalarial activity of C-phycocyanin from *Nostoc muscorum*. *Journal of Life Science* 3(1):68-78.
- Paradines B, Tall A, Prazy, Spiegel A. 1998. Inviro activity of phyronadine and amodiaquine against African isolate Senegal of *Plasmodium falciparum* in comparison with standard antimalarial agents. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 42(1):333-339.
- Prasanna RA, Sood P, Jaiswal S, Nayak V, Gupta V, Chaudhary M, Joshi & C. Natarjan. 2010. Rediscovering cyanobacteria as



- valuable sources of bioactive compounds. *Journal of Biochemistry and Microbiology* 46(2):119-134.
- Quan le tran, Tezuka Y, Ueda J, Nguyen NT. 2003. Invitro antiplasmodial activity of antimalarial medicinal plants use Vietnamese traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacy* 86(1): 249-252.
- Ranjitha K, kaushik BD. 2005. Purification of phycobiliprotein from *Nosto muscorum*. *Journal of Scientific and Industrial Research* 64(2):372-375.
- Ramazani A, Zakeri S, Sardari S, Khodakarim M. 2010. Invitro and invivo antimalarial activity of *Boerhavia elegans* and *Solanum surattens*. *Malaria Journal* 9(1):124.
- Richmond A. 1988. Open systems for the mass production for the photoautotrophic microalgae outdoor: physiological principles. *Journal of Application Phycology* 4(1):281-286.
- Richmond A. 2004. Biological principles of mass cultivation. Di dalam: Richmond A, editor. Handbook of microalgal culture. *Biotechnology and Applied Phycology*: 125-177.
- Romay Ch, González R, Ledón N, Ramirez D, Rimbau V. 2003. C-phycocyanin: A biliprotein with antioxidant. anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Journal Current Protein and Peptide Science* 4(1):207-216.
- Sedjati S, Yudiati E, Suryono. 2012. Profil pigmen polar dan non polar mikroalga laut *Spirulina* sp. dan potensinya sebagai pewarna alami. *Jurnal Ilmu Kelautan* 17(3):176-181.
- Setyantini WH, Sukenda, Harris E, Bambang N. 2014. Teknik produksi, ekstraksi dan karakterisasi fikosianin *Spirulina platensis* sebagai bahan imunostimulan. *Journal Oseanologi dan Limnologi Indonesia* 40(2):119-131.
- Silveira ST, Burkert JFM, Costa JAV, Burkert CAV, Kalil SJ. 2007. Optimization of fikosianin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresources Technology* 98(1):1629-1634.
- Tramuz A, Jereb M, Muzlovic I, Prabhu RM. 2003. Clinical Review: Severe Malaria. *Critical Care* 7(1):315-23.
- [WHO] World Health Organization. 2013. WHO Global Malaria Programme. World Malaria Report.
- Walpole RE. 1995. *Pengantar Statistika*. Ed ke-3. Sumantri B, penerjemah. PT. Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan dari: Introduction to Statistics.