

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN UJI POTENSI ANTIMALARIA
EKSTRAK ETANOL 80% BATANG WIDURI (*Calotropis gigantea*) PADA
HEWAN COBA YANG TERINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD SHOFIYULLAH
NIM. 10630057

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN UJI POTENSI ANTIMALARIA
EKSTRAK ETANOL 80% BATANG WIDURI (*Calotropis gigantea*) PADA
HEWAN COBA YANG TERINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD SHOFIYULLAH
NIM. 10630057

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 6 November 2015

Pembimbing I

Pembimbing II

Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

Begum Fauziyah, S.Si., M. Farm
NIP. 19830628 200912 2 004

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DAN UJI POTENSI ANTIMALARIA
EKSTRAK ETANOL 80% BATANG WIDURI (*Calotropis gigantea*) PADA
HEWAN COBA YANG TERINFEKSI *Plasmodium berghei***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD SHOFIYULLAH
NIM. 10630057

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 6 November 2015

Penguji Utama : Tri Kustono Adi, M.Sc (.....)
NIP. 19710311 200312 2 001
Ketua Penguji : Diana Candra Dewi, M.Si (.....)
NIP. 19770720 200312 2 001
Sekretaris Penguji : Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt (.....)
NIP. 19800203 200912 2 003
Anggota Penguji : Begum Fauziyah, S.Si M.Farm (.....)
NIP. 19830628 200912 2 004

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Shofiyullah

NIM : 10630057

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Potensi Antimalaria Ekstrak Etanol 80% Batang Widuri (*Calotropis gigantea*) pada Hewan Coba yang Terinfeksi *Plasmodium berghei*.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Yang membuat pernyataan,

Materai 6000

Muhammad Shofiyullah

NIM. 10630057

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur penulis haturkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, hidayah dan inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis harutkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan *Jazakumullah Ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu selesainya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si, Selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Roihatul Muti'ah, M. Kes, Apt, Elok Kamilah Hayati, dan Begum Fauziyah, S.Si, M. Farm, Selaku pembimbing, konsultan, dan pembimbing agama yang telah memberikan banyak arahan dalam penyelesaian skripsi penulis.
5. Tri Kustono Adi, M.Sc, Diana Candra Dewi, M.Si, dan Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm, selaku penguji dan penguji agama.
6. Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen wali yang telah membimbing penulis.
7. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Kedua orang tua penulis, Subkhi, dan Ummu Shobihah serta adik penulis Lina Aulia Ulfa yang telah senantiasa memberikan kasih sayang, do'a dan dorongan semangat kepada penulis selama ini.
9. Seluruh teman-teman Kimia angkatan 2010 yang berjuang bersama-sama, dan banyak membantu penulis selama masa perkuliahan dan pengerjaan tugas akhir/skripsi.
10. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik materil maupun moril.

Semoga Allah SWT, melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa di dunia ini tidak ada yang sempurna. Begitu juga dalam penulisan skripsi ini, yang tidak luput dari kekurangan dan kesalahan.

Akhirnya, penulis berharap semoga rahmat dan izin-Nya, mudah-mudahan skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan bagi pembaca.

Amin ya Robbal 'alamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang,
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
ABSTRAK	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan Berkhasiat Obat dalam Prespektif Hukum Islam.....	9
2.2 Tanaman Widuri(<i>Calotropis gigantea</i>).....	12
2.2.1 Morfologi	12
2.2.2 Taksonomi.....	13
2.2.3 Penyebaran	14
2.2.4 Manfaat dan Kegunaan	14
2.2.5 Kandungan Senyawa Kimia.....	15
2.3 Penyakit Malaria	16
2.3.1 Siklus Hidup Parasit Malaria	17
2.3.1.1 Siklus Aseksual	17
2.3.1.2 Siklus Seksual	18
2.4 <i>Plasmodium berghei</i>	21
2.5 Tinjauan tentang Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	23
2.6 Metode Penelitian	24
2.6.1 Maserasi	24
2.6.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	26
2.7 Senyawa Aktif Antimalaria.....	29
2.7.1 Alkaloid.....	30
2.7.2 Flavonoid	32
2.7.3 Tanin	34
2.7.4 Saponin.....	35
2.7.5 Triterpenoid.....	36
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Pelaksanaan Penelitian	39
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	39
3.2.1 Alat.....	39
3.2.2 Bahan.....	40
3.3 Rancangan Penelitian	41
3.4 Tahapan Penelitian	41
3.5 Pelaksanaan Penelitian	42
3.5.1 Preparasi Sampel.....	42

3.5.2	Analisis Kadar Air.....	42
3.5.3	Ekstraksi Batang Widuri Menggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi	43
3.5.4	Uji Antimalaria.....	44
3.5.4.1	Persiapan Hewan Coba	44
3.5.4.2	Perlakuan Hewan Coba	44
3.5.4.3	<i>Freezing</i> dan <i>Thawing</i> Isolat <i>Plasmodium berghei</i>	45
3.5.4.4	Pembuatan Donor.....	46
3.5.4.5	Inokulasi <i>Plasmodium berghei</i>	46
3.5.4.6	Pengukuran Derajat Parasitemia	47
3.5.5	Uji Fitokimia	48
3.5.5.1	Uji Alkaloid.....	48
3.5.5.2	Uji Flavonoid	48
3.5.5.3	Uji Tanin	49
3.5.5.4	Uji Saponin	49
3.5.5.5	Uji Triterpenoid.....	49
3.5.6	Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik.....	50
3.6	Analisis Data	53
3.7	Rancangan Kerja	54
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Preparasi Sampel.....	55
4.2	Analisis Kadar Air.....	56
4.3	Ekstraksi Batang Widuri Menggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi	58
4.4	Aktivitas Antimalaria Ekstrak Etanol Batang Widuri(<i>Calotropis gigantea</i>)...59	59
4.5	Uji Fitokimia dengan Uji Warna Menggunakan Reagen Pereaksi	70
4.6	Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis	75
4.7	Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam.....	78
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	81
5.2	Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA		82
LAMPIRAN.....		91

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Kadar Air dalam Batang Widuri (<i>Calotropis gigantea</i>)	57
Tabel 4.2 Derajat Parasitemia dan Penghambatan	64
Tabel 4.3 Persen Penghambatan pada Hari Ke-3	68
Tabel 4.4 Hasil pengujian KLT Ekstrak Etanol 80% Batang Widuri (<i>Calotropis gigantea</i> Eluen benzene : kloroform (3 : 7)).....	77



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Widuri(<i>Calotropis gigantea</i>).....	13
Gambar 2.2 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	19
Gambar 2.3 <i>Plasmodium berghei</i>	21
Gambar 2.4 <i>Mus musculus</i>	23
Gambar 2.5 Struktur Inti Alkaloid.....	30
Gambar 2.6 Struktur Kina.....	32
Gambar 2.7 Struktur Inti Senyawa Flavonoid.....	33
Gambar 2.8 Struktur Dasar Tanin.....	34
Gambar 2.9 Struktur Dasar Saponin.....	35
Gambar 2.10 Senyawa Triterpenoid.....	36
Gambar 2.11 Struktur Beberapa Senyawa Turunan Triterpen.....	37
Gambar 4.1 Grafik Derajat Parasitemia Ekstrak Etanol.....	63
Gambar 4.2 Eritrosit Terinfeksi Hari Ke-0.....	66
Gambar 4.3 Eritrosit Terinfeksi Hari Ke-3.....	67
Gambar 4.4 Reaksi Alkaloid dengan Reagen Dragendorff.....	71
Gambar 4.5 Reaksi dugaan antara senyawatriterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard.....	74

ABSTRAK

Shofiyullah, Muhammad. 2015. **Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Potensi Antimalaria Ekstrak Etanol 80% Batang Widuri (*Calotropis gigantea*) pada Hewan Coba yang Terinfeksi *Plasmodium berghei*.** Pembimbing : (I) Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt. (II) Begum Fauziah, M.Farm, Konsultan: Elok Kamilah Hayati, M.Si.

Kata-kata kunci: Antimalaria, Batang Widuri (*Calotropis gigantea*), Etanol 80%, *Plasmodium berghei*, KLTA

Widuri (*Calotropis gigantea*) merupakan tanaman liar yang memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai obat antimalaria. Dalam Islam perintah berobat apabila sakit sangat jelas, hal ini ada dalam hadits yang artinya “*Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obat. Dan menjadikan untuk kamu bahwa setiap penyakit ada obatnya. Oleh karena itu berobatlah. Akan tetapi jangan berobat dengan yang haram*”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung, potensi ekstrak etanol batang Widuri sebagai antimalaria, dan mengetahui eluen terbaik yang digunakan saat uji KLT.

Penelitian ini meliputi ekstraksi batang Widuri menggunakan metode maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 80%. Pengadukan dibantu dengan *shaker* selama 3 jam. Ekstrak pekat dilakukan uji fitokimia, uji antimalaria dengan menggunakan hewan coba mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*, dan KLTA. Data derajat parasitemia mencit dianalisis dengan program Minitab 16 dengan Uji *TwoWay* ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji Tukey.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang widuri mengandung golongan senyawa aktif triterpenoid, dan berpotensi sebagai antimalaria dengan nilai ED_{50} 152,878 mg/kg bb yang termasuk dalam kategori baik. Hasil pengujian KLTA menunjukkan bahwa eluen terbaik untuk pemisahan triterpenoid dari ekstrak batang widuri adalah benzena : kloroform (3:7) yang menghasilkan 12 noda dengan nilai R_f 0,04; 0,06; 0,14; 0,21; 0,29; 0,35; 0,41; 0,48; 0,80; 0,84; 0,88; 0,91.

مستخلص البحث

محمد صفي الله، 2015، تحديد المركبات النشيطة و اختبار قدرة المضادة للملاريا من مخرجات إيتانول 80% في جذع السدر عند الحيوانات المختبرة المصابة بفيروقات البرغي، البحث. المشرف الأول : رائحة المطيعة الماجستير. المشرف الثاني : بيغوم فوزية الماجستير. مستشارة: الوك كما ملة حياة الماجستير

الكلمات المفتاحية : المضادة للملاريا، جذع السدر، إيتانول 80%، فيروقات البرغي، ك ل ت أ.

السدر (*Calotropis gigantea*) هو نبات برية، له المركبات الثانوية ذاتي الامكانية المضادة للملاريا. يهدف هذا البحث إلى معرفة محتوى المركبات النشيطة الموجود فيه. وإمكانية مخرجات إيتانول في جذع السدر باعتبارها المضادة للملاريا، ومعرفة أفضل السائل المستخدم في إختبار ك ل ت.

يحتوي هذا البحث مخرجات جذع السدر باستخدام طريقة النقع مع سائل إيتانول 80% خلال أربع وعشرين ساعة. وألة خلطها هي شاكر (*shaker*) لمدة ثلاث ساعات. ثم يجري فيه اختبار نباتي و مضادة الملاريا بتجربته إلى الفئران المصابة بفيروقات البرغي. ويجري ك ل ت أ. تحلل بيانات درجات الحرارة للفئران بالبرنامج *Minitab 16* وإختبار *Two Way ANOVA* ثم يليها إختيار توكي (*Tukey*).

تدل نتائج هذا البحث على أن مخرجات إيتانول من جذع السدر تحتوي على المركبات النشيطة (*triterpenoid*)، وله إمكانية كالمضادة للملاريا بقيمة ED50 : 152,878 mg/kg bb وهذه القيمة تعتبر جيدة. تدل نتائج إختبار ك ل ت أ. على أن أفضل السوائل لفصل بين المركبات النشيطة (*triterpenoid*) ومخرجات جذع السدر هو بيترينا (*benzena*) : الكلوروفوم (*kloroform*) بمقدار 3 : 7

الذي ينتج 12 نقطة مع القيم الترددات اللاسلكية من :

.0,91/0,88/0,84/0,80/0,48/0,41/0,35/0,29/0,21/0,14/0,06/0,04

ABSTRACT

Shofiyullah, Muhammad. 2015. **Identification of Active Compounds *Calotropis gigantea* Stem Extracts of Ethanol 80% for Antimalarial Potential Test on Infected Animal with *Plasmodium berghei***. Advisor: (I) Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt. (II) Begum Fauziah, M.Farm. Consultant: Elok Kamilah Hayati, M.Si

Keywords: antimalarial, Stem Thistle (*Calotropis gigantea*), Ethanol 80%, *Plasmodium berghei*, ATLC,

Thistle (*Calotropis gigantea*) is a wild plant that contain secondary metabolite which has antimalarial potential drugs. This research aims to determine the content of active compound contained, the potential of ethanol extracts stem thistle as an antimalarial, and knowing the best eluent used when TLC test.

This research covers the extraction of stem thistle (*Calotropis gigantea*) using maceration for 24 hours using ethanol 80%. Stirring assisted with shaker for 3 hours. Phytochemical test on concentrated extract, Antimalarial test using mice as experimental animal infected with *Plasmodium berghei*, and ATLC. Data degrees of parasitemia in mice were analyzed using Minitab 16 with TwoWay test ANOVA followed by Tukey Test.

The results show the value of percent inhibition of the parasite at 73,5 % for dose of 0,1 mg/kg; 60,8% for dose of 1 mg/kg, and 60,5% for dose of 10 mg/kg. ED₅₀ values were obtained 152,878 mg/kg. ATLC and photochemical test indicates that there is triterpenoids compounds and the combinations eluent benzene:chloroform (3:7) was the best eluent yielded 12 spots with Rf values are 0,04; 0,06; 0,14; 0,21; 0,29; 0,35; 0,41; 0,48; 0,80; 0,84; 0,88; 0,91.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus *Plasmodium* yang dapat ditularkan melalui gigitan *Anopheles* betina. *Plasmodium* merupakan suatu parasit yang menjadi penyebab penyakit malaria yang berbahaya dan sudah diketahui sejak zaman Yunani kuno. *Plasmodium* ini ditularkan satu orang ke orang lain lewat perantara nyamuk dari jenis *Anopheles*.

Malaria masih merupakan masalah kesehatan di dunia baik di negara-negara berkembang maupun di negara maju. Menurut Badan Kesehatan Dunia (*World Organization Health = WHO*) sekitar 41% penduduk dunia atau kurang lebih 2,3 miliar penduduk tinggal di daerah endemis yang berisiko terinfeksi malaria. Sebanyak 300 – 500 juta diantaranya terinfeksi malaria setiap tahunnya dan diperkirakan 1,5 – 2,7 juta meninggal per tahun, terutama balita dan ibu hamil (WHO, 2004). Kondisi malaria di Indonesia tidak jauh berbeda dengan kondisi malaria di dunia. Di Pulau Jawa dan Bali tingkatan AMI (*Annual Malaria Incidence*) turun menjadi 0,06 per mil per tahun 1995 dari 0,19 mil tahun 1993. Di luar Pulau Jawa dan Bali kondisinya lebih memprihatinkan lagi, meskipun *Annual Malaria Incidence* (AMI) menurun dari 20,3 per mil pada tahun 1993 menjadi 19,13 per mil pada tahun 1995 (Abednego dan Suroso, 1988).

Obat yang pertama kali digunakan untuk penyakit ini adalah kina. Obat ini digunakan sebagai obat utama malaria sejak tahun 1600 sampai dengan 1800-an. Seiring dengan majunya ilmu pengetahuan dan teknologi, penemuan obat-obat lain sebagai antimalaria pun berkembang pesat. Obat-obat sintesis seperti

klorokuin, primakuin, pirimetamin, dan lain-lain yang kemudian digunakan sebagai obat malaria pengganti kina. Akan tetapi timbul resistensi *plasmodium* terhadap obat-obat tersebut (Milhous dan Kyle, 1998). Nabi Muhammad SAW bersabda :

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالذَّوَاءَ وَجَعَلَ لَكُمْ دَاءً وَدَوَاءً فَتَدَاوُوا وَلَا تَتَدَاوُوا بِالْحَرَامِ (رواه ابو هريرة)

Artinya:

“*Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obat. Dan menjadikan untuk kamu bahwa setiap penyakit ada obatnya. Oleh karena itu berobatlah. Akan tetapi jangan berobat dengan yang haram*” (H.R. Abu Hurairah)

Hadits shahih tersebut memerintahkan umat muslim untuk menggunakan obat dan upaya-upaya itu tidak bertentangan dengan kodrat ketergantungan manusia (tawakal) kepada Allah. Meninggalkan penggunaan oba-obatan akan bertentangan dengan sifat ikhtiar kepada Allah, dan hadits shahih tersebut menentang orang yang tidak berupaya mencari obat. (Al-Jauziyah, 2004)

Manusia diperintahkan untuk berikhtiar dan tidak boleh menyerah, salah satu ikhtiar manusia apabila sedang sakit yaitu dengan berobat. Dalam hal penyakit fisik, seperti contohnya apabila seseorang sedang terkena penyakit malaria, maka ia diperintahkan untuk berobat, dan tidak menyerah hingga ia sembuh. Manusia diwajibkan untuk berobat menggunakan obat-obatan asalkan bukan dari hal-hal yang di haramkan. Obat-obat itu bisa jadi berasal dari tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitar kita.

Resistensi *Plasmodium* terhadap obat-obat malaria telah banyak dilaporkan, antara lain resistensi *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) terhadap obat malaria golongan 4-aminokuinolin (klorokuin dan amodiakuin). Pertama kali ditemukan pada tahun 1960 di Kolumbia dan Brazil, dan sekarang telah menyebar

ke Asia Tenggara. Dilaporkan pula bahwa *P. falciparum* telah resisten terhadap kuinin di Thailand.

Masalah resistensi parasit terhadap obat malaria merupakan tantangan besar yang dihadapi dalam upaya pemberantasan malaria. Implikasi dari resistensi obat antimalaria adalah penyebaran malaria di daerah yang telah baru dan munculnya kembali malaria di daerah yang telah diberantas. Resistensi obat juga mempunyai peranan penting dalam terjadinya epidemik atau kejadian luar biasa (KLB) di Indonesia. Keadaan ini diperberat dengan adanya perpindahan atau mobilitas penduduk yang besar dengan membawa dan memperkenalkan parasit yang resisten (Tjitra, 2004).

Pengobatan penyakit malaria yang berlandaskan sumber alam hayati terutama tumbuhan, telah digunakan sejak lama oleh manusia seperti daun *Artemisia* di Papua (Aryanti dkk, 2006). Penggunaan tumbuh-tumbuhan sebagai obat seringkali berdasarkan pertimbangan rasional sehubungan dengan pengetahuan tentang senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut yang diketahui mempunyai aktifitas biologis. Akan tetapi, ada juga di antara tumbuhan-tumbuhan ini yang belum diketahui kandungan senyawa kimianya sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

إِنَّ الثَّمَرَاتِ كُلِّ وَمِنَ الْأَعْنَابِ وَالنَّخِيلِ وَالزَّيْتُونَ الزَّرْعَ بِهِ لَكُمْ يُنْبِتُ

يَتَفَكَّرُونَ لِقَوْمٍ لَّا يَذَّكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya:

Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan. (Q.S. An-Nahl:11)

Dari firman Allah di atas dapat di ambil pelajaran bahwa manusia harus mampu mengkaji dan meneliti lebih lanjut sumber alam hayati sesuai kemampuannya masing-masing dengan tujuan untuk menggali ilmu Allah dan meningkatkan keyakinan akan keberadaan-Nya. Menggali ilmu Allah dapat dilakukan dengan banyak cara, salah satunya yaitu dengan melakukan penelitian tentang fungsi dan manfaat sumber alam hayati di sekitar kita.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi dijadikan obat adalah tumbuhan Widuri. Tanaman Widuri merupakan semak tegak dengan tinggi antara 0,5 – 3 m. Tanaman Widuri termasuk family *Asclepiadaceae* dan genus *Calotropis*. Batang Widuri berbentuk bulat, kulit tebal, dan beranting, memiliki daun tunggal, bertangkai pendek, berwarna hijau keputihan dengan panjang 8 – 30 cm dan lebar 4 – 15 cm (Utami, 2008).

Widuri merupakan tanaman liar yang kaya akan kandungan kimia. Akar Widuri mengandung saponin, sapogenin, kalotropin, kalotoksin, uskarin, kalaktin, gigantini, dan harsa. Daun Widuri mengandung saponin, flavonoida, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat. Batang Widuri mengandung tanin, saponin, dan kalsium oksalat. Menurut Hariana (2006), kulit pohon, akar, daun, bunga dan getah Widuri bermanfaat sebagai obat untuk mengatasi berbagai penyakit, seperti kudis, batuk, campak, sakit gigi dan kutil.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Mudi dan Bukar (2011) bahwa terdapat aktivitas anti *plasmodia* (antimalaria) oleh ekstrak daun *Calotropis procera*. Penelitian tersebut menggunakan metode LC_{50} . Penelitian tersebut menunjukkan adanya penurunan aktivitas plasmodia seiring bertambahnya

konsentrasi daun *Calotropis procera* yang diekstrak menggunakan larutan metanol dengan petroleum eter, etanol, klorofom dan etil asetat.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mudi dan Bukar (2011) diketahui bahwa terdapat aktivitas anti *plasmodia* (anti malaria) pada *Calotropis procera*, sehingga dapat dikatakan juga bahwa terdapat aktivitas anti malaria pada *Calotropis gigantea* karena *Calotropis gigantea* merupakan tanaman satu famili dengan *Calotropis procera*, dimana di ketahui bahwa tanaman satu famili memiliki kandungan kimia yang hampir sama. Pada bagian batang Widuri juga diketahui mengandung tanin, saponin, dan asam oksalat (Redaksi Agromedia, 2008), dan menurut Kailavani (2003) menemukan bahwa pada ekstrak etanol batang Widuri ditemukan terdapat senyawa terpenoid. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Husna (2011) diketahui bahwa bahwa senyawa aktif tanin dan alkaloid mampu untuk menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 85,74 % untuk dosis 0,01 mg/Kg BB. Selain itu menurut penelitian Hayati dan Muti'ah diketahui juga terdapat aktifitas antimalaria pada senyawa aktif sisquiterpen yang didapatkan dari ekstrak daun bunga matahari. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa bukan hanya satu jenis senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium* tetapi banyak senyawa aktif yang dimungkinkan mampu untuk meghambat pertumbuhan *Plasmodium*. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukannya sebuah penelitian identifikasi senyawa antimalaria pada batang Widuri (*Calotropis gigantea*) sebagai tumbuhan yang selama ini kurang bermanfaat. Batang Widuri di pilih dengan tujuan untuk variasi bagian sampel yang digunakan, karena dimungkinkan pada bagian tanaman yang berbeda maka senyawa aktif dan potensi antimalaria yang dimiliki berbeda pula,

selain itu tumbuhan Widuri cukup melimpah di Indonesia, dan hanya sebagai rumput liar, apabila ditemukan senyawa aktif dalam batang Widuri, maka tumbuhan ini akan memberikan manfaat dan tidak hanya sebagai tumbuhan pengganggu.

Identifikasi dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan tikus putih sebagai objek yang akan di infeksi oleh penyakit malaria serta menggunakan batang Widuri yang di ekstrak oleh pelarut etanol. Penggunaan etanol sebagai pelarut karena etanol bersifat polar dan inert, pelarut polar akan mampu memecah sel dan menyari semua senyawa yang terdapat dalam sel, dan pelarut inert harus digunakan untuk menghindari terjadinya dekomposisi, etanol juga mudah didapatkan dan terjangkau. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan galur Balb/C. Digunakan mencit putih jantan galur Balb/C karena mencit putih jantan galur Balb/C lebih rentan terhadap infeksi *Plasmodium berghei* (*P. berghei*) dan memiliki kemampuan bertahan hidup yang lebih lama setelah diinfeksi dengan *P. berghei*, sehingga mencit Balb/C lebih sesuai untuk digunakan. Digunakan *carain vivo* karena dengan *carain vivo* kondisi percobaan dalam mencitakan sama dengan pengondisian dalam tubuh manusia karena leukosit dan eritrosit sama-sama ada di dalam hewan uji.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Golongan senyawa aktif apakah yang terdapat pada batang tanaman Widuri(*Calotropis gigantea*)?
- b. Apakah ekstrak etanol batang Widuri(*Calotropis gigantea*) mempunyai potensi antimalaria secara *in vivo*?

- c. Apa eluen terbaik yang didapatkan pada uji KLT?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat pada batang tanaman Widuri(*Calotropis gigantea*).
- b. Mengetahui potensi antimalaria ekstrak etanol batang tanaman Widuri(*Calotropis gigantea*) secara *in vivo*.
- c. Mengetahui eluen terbaik yang digunakan saat uji KLT.

1.4 Batasan Masalah

- a. Sampel yang digunakan adalah bagian batang dari tanaman *Calotropis gigantea*
- b. Hewan coba yang digunakan adalah mencit putih jantan galur Balb/C berat 20 – 23 gr berumur \pm 8 – 12 minggu.
- c. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80 %
- d. Parasit yang digunakan adalah *Plasmodium berghei*
- e. Tumbuhan Widuri yang digunakan adalah tumbuhan Widuri dengan ketinggian \pm 1 meter.

1.5 Manfaat Penelitian

Secara khusus penelitian ini bermanfaat untuk peneliti, selain sebagai tambahan ilmu, penelitian ini juga merupakan tugas akhir untuk mendapatkan gelar sarjana S-1 bagi peneliti. Sehingga, penelitian ini sangat penting dilakukan oleh peneliti, karena merupakan syarat kelulusan program S-1.

Secara umum, penelitian ini bermanfaat karena dapat memberikan informasi tentang solusi alternatif antimalaria yang baru dari tanaman lain yang belum diteliti, dapat menambah jenis-jenis tanaman yang bisa digunakan sebagai antimalaria, dan juga dapat digunakan sebagai dasar untuk melanjutkan penelitian dari tanaman *Calotropis gigantea* pada tingkat selajutnya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Berkhasiat Obat dalam Prespektif Hukum Islam

Tanaman dan hewan merupakan makhluk Allah SWT yang tumbuh di muka bumi. Adanya tanaman dan hewan adalah wujud kasih sayang Allah SWT kepada manusia yang telah dipilih-Nya sebagai pemimpin di bumi. Berdasarkan firman Allah dalam surat Al-An'am ayat 165 yang berbunyi :

يَعْرَبْنَاكَ إِنَّا فَتْنُكُمْ مَّا فِي لِيَبْلُوكُمْ دَرَجَاتٍ بَعْضُ فَوْقَ بَعْضٍ وَرَفَعْنَا الْأَرْضَ حَلْتِيفًا جَعَلْنَاكَ الَّذِي وَهُوَ
رَّحِيمٌ لِّغُفُورٍ وَإِنَّهُ الْعِقَابِ سِرِّ

Artinya:

Dan dia lah yang menjadikan kamu penguasa-penguasa di bumi dan dia meninggikan sebahagian kamu atas sebahagian (yang lain) beberapa derajat, untuk mengujimu tentang apa yang diberikan-Nya kepadamu. Sesungguhnya Tuhanmu amat cepat siksaan-Nya dan Sesungguhnya dia Maha Pengampun lagi Maha Penyayang.(Q.S. Al-An'am:165).

Berdasarkan ayat tersebut, menurut Ghoffar dan Mu'thi (2003) Allah telah menjadikan kalian pemakmur bumi dari generasi ke generasi, dari satu masa ke masa yang lain. Serta Allah membedakan di antara kalian dalam hal rizki, akhlak, kebaikan, keburukan, penampilan, bentuk dan warna, dan dalam hal itu semua Allah mempunyai hikmah. Allah memberikan nikmat untuk menguji kepada kalian mengenai nikmat yang telah diberikan (Ghoffar dan Mu'thi, 2003).

Salah satu cara mensyukuri nikmat yang telah diberikan Allah adalah dengan menggunakan akal untuk berfikir mengenai kekuasaan Allah. Allah berkuasa menciptakan berbagai macam tanaman dan hewan yang dikehendaki-Nya. Aneka macam tanaman dan hewan tersebut semua tentu memiliki manfaat dan peranan

masing-masing dalam kehidupan. Firman Allah di dalam Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 99 yang berbunyi :

رَأْمِنُهُ فَأَخْرَجْنَا شَيْءٍ كُلِّ نَبَاتٍ بِهِ ۚ فَأَخْرَجْنَا مَاءَ السَّمَاءِ مِنْ أَنْزَلِ الَّذِي وَهُوَ
 مِنْ وَجَدْتِ دَانِيَةً قِنْوَانٌ طَلَعَهَا مِنَ النَّخْلِ وَمِنْ مُتْرَاكِبًا حَبًّا مِنْهُ خُرْجُ حَصْ
 عِهِ ۚ أَثْمَرَ إِذَا ثَمَرَهُ ۚ إِلَى أَنْظُرُوا أَمْتَشَبِهِ وَغَيْرِ مُشْتَبِهًا وَالزُّمَانَ وَالزَّيْتُونَ أَعْنَابَ
 يُؤْمِنُونَ لِقَوْمٍ لَّا يَتَذَكَّرُ فِي إِنْ وَيَدِ ﴿٩٩﴾

Artinya:

Dan dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman. (Q.S. Al-An'am:99).

Ayat tersebut mengingatkan kita tentang adanya tanda-tanda kekuasaan Allah dalam dunia tumbuh-tumbuhan yang penuh dengan tanda-tanda keagungan dan keperkasaan-Nya. Semua jenis tumbuhan makan dan tumbuh dari air, sinar, karbon, oksigen, hydrogen, nitrogen, fosforus, sulfur, kalium, kalsium, magnesium, dan besi. Meskipun makanannya sama, tanah menumbuhkan apel yang manis, *colocynth* yang pahit, kapas yang lembut, kaktus yang berduri, gandum, barley, jeruk, kurma, anggur, buah ara, zaitun dan delima. Demikianlah, dalam tanah yang sama, unsur makanan yang sama, dan air yang sama, biji-biji yang sangat kecil itu menumbuhkan ribuan jenis tumbuhan. Dan buah-buahan dengan aneka ragam bentuk, warna, bau dan rasa (Pasya, 2004).

Tumbuhan juga memiliki keanekaragaman jenis yang tersebar luas di seluruh bagian bumi ini. Keanekaragaman jenis tumbuhan juga diikuti dengan keanekaragaman manfaatnya bagi kehidupan manusia, seperti tumbuhan sebagai makanan pokok, dan bahan bangunan, dan potensi lainnya yang masih perlu untuk digali, seperti halnya dalam pemanfaatan tumbuhan sebagai obat. Tentang keragaman tumbuhan juga telah termaktub dalam Al-Qur'an surat Asy-Syu'ara ayat ke 7, yaitu :

﴿ كَرِيمٌ زَوْجِ كُلِّ مِّنْ فِيهَا أَنْبَتْنَا كَرَّمًا لِّلْأَرْضِ إِلَى يَوْمِ الْوَأُولَمِ ﴾

Artinya:

Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. (Q.S. Asy-Syu'ara:7).

Menurut Shihab (2002) kata *zauj* berarti pasangan. Ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhanpun memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangan. Sedangkan kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya.

Dari penafsiran Al-Qur'an surat Al-An'am ayat 99 dan surat Asy-Syu'araa' ayat ke 7-8 dapat diambil kesimpulan bahwa Allah SWT memberikan petunjuk tentang adanya manfaat pada penciptaan tumbuhan. Selain sebagai bahan makanan pokok, dan bahan bangunan, tentunya masih banyak manfaat penciptaan tumbuhan yang perlu diteliti lebih jauh. Sudah banyak diketahui bahwa tumbuhan memiliki fungsi sebagai obat-obatan, tetapi belum semua tumbuhan diketahui fungsinya untuk pengobatan jenis penyakit apa, karena setiap tumbuhan memiliki fungsi sebagai obat untuk jenis penyakit yang berbeda-beda. Maka perlu

dilakukan penelitian untuk mengetahui tumbuhan yang diteliti mempunyai potensi sebagai obat atau tidak dengan melakukan pengujian terlebih dahulu.

Berdasarkan penafsiran tersebut, sudah sepantasnya manusia yang telah dipilih sebagai kholifah di bumi ini bersyukur dengan mendekati diri kepada Allah SWT. Selain itu, bersyukur dan melakukan penelitian serta pengkajian terhadap pemanfaatan dan pengolahan bermacam-macam tanaman tersebut untuk kepentingan manusia juga merupakan salah satu cara untuk mendekati diri kepada Allah SWT. Dalam hal ini, pengujian atau penelitian tumbuhan sebagai obat dilakukan pada tanaman Widuri sebagai antimalaria.

Menurut penelitian Mudi dan Bukar (2011) diketahui bahwa terdapat aktivitas antimalaria pada *Calotropis procera*, sehingga diasumsikan tanaman Widuri memiliki aktivitas antimalaria pula, karena pada umumnya, tumbuhan dari *family* yang sama memiliki kandungan kimia yang hampir sama pula. Dengan pemanfaatan dan pengujian tumbuhan berarti manusia secara tidak langsung telah beribadah kepada Allah SWT sebagai tugas manusia di bumi ini.

2.2 Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*)

2.2.1 Morfologi

Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) banyak di temukan di daerah bermusim kemarau panjang, seperti padang rumput yang kering, lereng-lereng gunung yang rendah, dan pantai berpasir (Mubasyir, 2007). Kartasapoetra (2004) menyatakan bahwa tanaman Widuri termasuk family Asclepiadaceae yang banyak terdapat di berbagai wilayah di Indonesia. Mubasyir (2007) menyatakan bahwa tanaman Widuri berupa semak tegak yang tingginya 0,5 – 3 m, mempunyai batang

yang berbentuk bulat dan tebal. Widuri mempunyai daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, helaian daun berbentuk bulat telur atau bulat panjang, ujung tumpul, pangkal berbentuk jantung, tepi rata, pertulangan menyirip, panjangnya 8 – 30 cm, lebar 4 – 15 cm, berwarna hijau muda. Permukaan atas helaian daun muda berambut rapat berwarna putih (lambat laun menghilang), sedangkan permukaan bawah tetap berambut tebal berwarna putih.

Kartasapoetra (2004) berpendapat bahwa daun Widuri banyak diperlukan farmasi dan industri obat-obatan, dan rasanya pahit. Jika salah satu bagian tumbuhan Widuri dilukai, akan mengeluarkan getah berwarna putih, encer, rasanya pahit, baunya sangat kuat. Mubasyir (2007) juga berpendapat bahwa kulit batang Widuri mengandung bahan serat yang dapat digunakan untuk membuat jala.



Gambar 2.1 Widuri (*Calotropis gigantea*) (Anonim, 2011)

2.2.2 Taksonomi

Kingdom : *Plantae*
 Divison : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Asteridae*
 Ordo : *Gentianales*
 Familia : *Asclepiadaceae*
 Genus : *Calotropis*
 Species : *Calotropis gigantea* (L.) (Integrated Taxonomic Information System, 2007).

2.2.3 Penyebaran

Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) dapat ditemukan di beberapa negara, seperti di Indonesia, India, Sri Lanka, Singapura, Malaysia, Filipina, Cina Selatan, dan Thailand. Nama tumbuhan Widuri di Indonesiapun berbeda-beda, seperti Babaokan (Sunda), Widuri (Jawa), Biduri (Indonesia). (Karnizan, 2015)

2.2.4 Manfaat dan Kegunaan

Secara konvensional sering dimanfaatkan untuk keperluan pengobatan tradisional. Bagian kulit akar bermanfaat memacu kerja enzim pencernaan, peluruh kencing (*diuretik*), peluruh keringat (*diaforetik*), dan perangsang muntah (*emetik*). Kulit batang yang diolah dahulu berguna untuk perangsang muntah, sedang bunganya berkhasiat tonik, serta menambah nafsu makan (*stomatik*). Daunnya berkhasiat rubifisien dan menghilangkan gatal. Getah yang disekresikan bersifat racun, namun berkhasiat sebagai obat pencahar.

Organ tumbuhan tersebut mengandung beberapa senyawa aktif yang bisa dimanfaatkan dalam pengobatan beberapa penyakit luar atau penyakit dalam. Beberapa pengguna juga sudah memanfaatkan bahan tanaman ini untuk kepentingan pengendalian hama, sebagai insektisida, antinematoda, serta antirayap (Jayashankar et al., 2002). Sedang penelitian yang telah Chobchuenchum dkk (2004), menggunakan ekstrak *Calotropis gigantea* dengan beberapa pelarut sebagai agen biomoluskisida pada keong mas (*Pomacea canaliculata*).

Kulit akar Widuri berkhasiat kolagoga, peluruh keringat (*diaforetik*), perangsang muntah (*emetik*), memacu kerja enzim pencernaan (*alteratif*), dan peluruh kencing (*diuretik*).

2.2.5 Kandungan Senyawa Kimia

Hampir semua organ tubuh tanaman mengandung senyawa-senyawa kimia bermanfaat. Secara umum, akar mengandung saponin, sapogenin, kalotropin, kalotoksin, uskarin, kalaktin, gigantini, dan harsa. Organ daun mengandung bahan aktif seperti saponin, flavonoid, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat. Kandungan pada batang berupa tanin, saponin, dan kalsium oksalat. Getah yang dihasilkan juga memuat senyawa racun jantung yang menyerupai digitalis (Redaksi Agromedia, 2008)

Bahan kimia khas yang terkandung yaitu *calotropin* dan *giganticine*. Dari review yang dikemukakan oleh Ahmed *et al* (2005), investigasi-investigasi telah menemukan senyawa dari kelompok *cardenolide* dari getah dan daun. Kelompok *cardiac glikoside* yang telah teridentifikasi yaitu *calotropogenin*, *calotropin*, *uscharin*, *calotoxin*, dan *calactin*. Kelompok *cardenolide glikoside* meliputi *coroglaucigenin*, *frugoside* dan *4'-o-beta-D-glukopyranosylfrugoside*. Pada ekstrak alkohol dari akar dan daun menghasilkan efek antikanker pada *epidermal carcinoma* manusia serta kultur jaringan *nasopharynx*. Dari uji coba tertentu, campuran senyawa tersebut bersifat sitotoksik pada beberapa tipe bentuk sel pada manusia dan mencit. Efek antiplasmodia juga dibuktikan pada percobaan *invitro* menggunakan eritrosit. Adanya *calotropin* menghambat *spermatogenesis* dan menimbulkan efek *abortif* pada tikus dan kelinci. Getah campuran yang diramu khusus mengganggu siklus uterus pada tikus. Lhinhatrakool dan Sutthivaiyakit (2006) mengemukakan bahwa adanya kelompok senyawa *cardenolids* yang terkandung memberikan efek sitotoksik pada siklus sel kanker.

2.3 Penyakit Malaria

Malaria sebagai penyakit infeksi yang disebabkan *plasmodium* mempunyai gejala utama demam. Keluhan prodromal dapat terjadi sebelum terjadinya demam berupa, kelesuan, malaise, sakit kepala, nyeri pada tulang/otot, anoreksia, perut terasa tidak enak, diare ringan, dan kadang-kadang merasa dingin di punggung. Pada *Plasmodium falciparum* keluhan prodromal ini kadang tidak jelas dan bahkan gejala dapat timbul mendadak.

Malaria dapat ditemukan di daerah mulai dari belahan bumi utara 490 – 640° LU (Amerika Utara sampai Eropa dan Asia) ke belahan bumi selatan pada 320° LS (Amerika Selatan), mulai dari daerah dengan ketinggian 2850 m (Bolivia) sampai dengan daerah yang letaknya 400 m di bawah permukaan laut (*dead sea*) (Staf Pengajar Departemen Parasitologi FKUI Jakarta, 2008).

Penyakit malaria hingga kini masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat dunia yang utama. Malaria menyebar di berbagai negara, terutama di kawasan Asia, Afrika, dan Amerika Latin. Di berbagai negara, malaria bukan hanya permasalahan kesehatan semata. Malaria telah menjadi masalah sosial-ekonomi, seperti kerugian ekonomi, kemiskinan dan keterbelakangan (Oswari, E. 2003)

Malaria ditularkan ke penderita dengan masuknya *sporozoit plasmodium* melalui gigitan nyamuk betina *Anopheles* yang spesiesnya dapat berbeda dari satu daerah dengan daerah lainnya. Terdapat lebih dari 15 spesies nyamuk *Anopheles* yang dilaporkan merupakan faktor malaria di Indonesia. Penularan malaria dapat juga terjadi dengan masuknya parasit bentuk *aseksual*

(*tropozoit*) melalui transfusi darah, suntikan atau melalui plasenta (*malaria congenital*) (Soedarto, 2003).

Ciri utama famili *Plasmodium* adalah adanya 2 siklus hidup yaitu siklus aseksual pada vertebrata yang berlangsung di eritrosit dan organ lainnya serta siklus seksual yang dimulai pada vertebrata dan seterusnya berlanjut pada nyamuk. Siklus hidup semua spesies parasit malaria pada manusia adalah sama, yaitu mengalami stadium yang berpindah dari vektor nyamuk ke manusia dan kembali ke nyamuk lagi. Terdiri dari siklus seksual (*sporogoni*) yang berlangsung pada nyamuk *Anopheles* dan siklus aseksual yang berlangsung pada manusia. Siklus pada manusia terdiri pada fase eritrosit (*erythrocytic schizogony*) dan fase yang berlangsung di dalam parenkim hati (*exo-erythrocytic schizogony*) (Wellemdan Miller, 2003 dalam Husna, 2011).

2.3.1 Siklus Hidup Parasit Malaria

2.3.1.1 Siklus Aseksual

Sporozoit infeksius dari kelenjar ludah nyamuk *Anopheles* betina masuk dalam daerah manusia melalui tusukan nyamuk tersebut. Dalam waktu tiga puluh menit jasad tersebut memasuki sel-sel parenkim hati dan dimulainya stadium eksoeritrositik daur hidupnya. Di dalam sel hati, parasit tumbuhan menjadi skizon dan berkembang menjadi merozoit. Sel hati yang mengandung parasit pecah dan merozoit keluar dengan bebas, sebagian mengalami fagositosis. Oleh Karena prosesnya terjadi sebelum memasuki eritrosit maka disebut stadium pre-eritrositik atau ekso-eritrositik. Siklus eritrositik dimulai saat merozoit menerobos masuk sel-sel darah merah. Parasit tampak sebagai kromatin kecil, dikelilingi oleh sitoplasma yang membesar, bentuk tidak teratur dan mulai membentuk tropozoit. Tropozoit

berubah menjadi skizon muda, kemudian berkembang menjadi skizon matang dan membelah diri menjadi beberapa merozoit. Dengan selesainya pembelahan tersebut sel darah merah pecah dan merozoit, pigmen dan sisa sel kanker dan bebas berada dalam plasma darah. Merozoit dapat masuk sel darah merah lainnya lagi untuk mengurangi siklus skizogoni. Selain dapat memasuki eritrosit kembali dan membentuk skizon, merozoit dapat juga membentuk gametosit yaitu bentuk seksual parasit *Plasmodium* (Nugroho, 2000).

2.3.1.2 Siklus Seksual

Siklus seksual terjadi dalam tubuh nyamuk. Gametosit yang ada di darah tidak dicerna oleh sel-sel tubuh yang lain. Pada gamet jantan, kromatin membagi menjadi 6 – 8 inti yang bergerak ke pinggir parasit. Di pinggir ini beberapa filament dibentuk seperti cambuk dan bergerak aktif disebut mikrogamet. Pembuahan terjadi karena masuknya mikrogamet ke dalam makrogamet untuk membentuk zigot. Zigot berubah bentuk seperti cacing pendek disebut ookinet yang dapat menembus lapisan epitel dan membran basal dinding lambung nyamuk. Di tempat ini ookinet membesar dan disebut ookista. Dalam ookista dibentuk ribuan sporozoit dan beberapa sporozoit menembus kelenjar ludah nyamuk dan bila nyamuk menggigit atau menusuk manusia memungkinkan sporozoit masuk ke dalam darah dan memulailah siklus pre eritrositik (Nugroho, 2000). Adapun siklus hidup parasit malaria seperti pada gambar berikut:

dibagi dalam 5 golongan (Staf Pengajar Departemen Parasitologi FKUIJakarta, 2008):

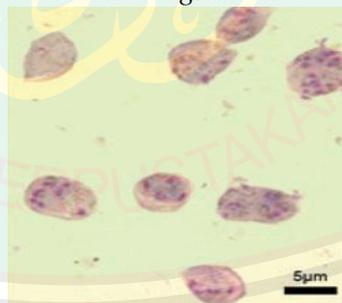
1. Skizontosida jaringan primer: proguanil, primetamin, dapat membasmi parasit praeritrosit sehingga mencegah masuknya parasit ke dalam eritrosit, dapat digunakan sebagai profilaksis kasual.
2. Skizontosida jaringan skunder: primakuin, dapat membasmi parasit daur eksoeritrosit atau stadium jaringan *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium ovale* dan digunakan untuk pengobatan radikal sebagai obat anti relaps.
3. Skizontosida darah: membasmi parasit stadium eritrosit, yang berhubungan dengan penyakit akut disertai gejala klinis. Skizontosida darah juga mengeliminasi stadium seksual di eritrosit *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*, tetapi tidak efektif terhadap gametosit *Plasmodium falciparum* yang matang. Skizontosida darah yang ampuh adalah kina, amodiakuin, dan golongan artemisin.
4. Gametositosid: mengeliminasi semua stadium seksual termasuk gametosit *Plasmodium falciparum*, juga mempengaruhi stadium perkembangan parasit malaria dalam nyamuk *Anopheles*. Beberapa obat gametositosida bersifat sporontosida. Primakuin adalah gametositosida untuk keempat, sedangkan kina, klorokuin, amodiakunnin adalah gametositosida untuk *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*.
5. Sporontosida: mencegah atau menghambat gametosit dalam darah untuk membentuk ookista dan sporozoit dalam nyamuk *Anopheles*. Obat ini mencegah transmisi penyakit malaria dan disebut juga obat anti sporogonik. Obat yang termasuk golongan ini ialah: primakuin dan proguanil.

2.4 *Plasmodium berghei*

Penelitian ini menggunakan *Plasmodium berghei* sebagai parasit. *Plasmodium berghei* merupakan salah satu spesies malaria yang menyerang mamalia selain manusia, dan spesies ini adalah salah satu dari empat (4) spesies yang menyerang *rodensia* di Afrika Barat. Parasit ini merupakan subyek yang praktis untuk penelitian dan percobaan mengenai parasit mamalia serta terbukti analog dengan malaria manusia pada segi-segi penting dari struktur, fisiologi, dan siklus hidup (Kusumawati, dkk., 2008).

Taksonomi *Plasmodium berghei* adalah sebagai berikut (Wardhni, 2007).

Regnum	:	Animalia
Sub Regnum	:	Protozoa
Filum	:	Sporozoa
Kelas	:	Sporozoea
Sub Kelas	:	Coccidea
Super Ordo	:	Eucoccidae
Ordo	:	Haemosporida
Famili	:	Haemosporidae
Genus	:	Plasmodium
Spesies	:	<i>Plasmodium berghei</i>



Gambar 2.3 *Plasmodium berghei* (Anonim, 2011)

Plasmodium berghei adalah hemoprotzoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia, terutama rodensia kecil. Dasar biologi *Plasmodium* yang menyerang rodensia sama dengan *Plasmodium* yang menyerang manusia seperti siklus hidup maupun morfologinya, genetik dan pengaturan genomnya, fungsi dan struktur pada kandidat vaksin antigen target sama (Tambayong, 2004).

Plasmodium berghei memiliki 14 kromosom yang dapat dipisahkan secara *pulsed-field gel electrophoresis*. Ukuran genomnya diperkirakan mendekati ukuran genom *Plasmodium falciparum*, yaitu pada sekuen 25 – 30 Mb. Perbandingan Adenin/Timin pada genom *Plasmodium berghei* adalah 80 % jika dibandingkan dengan Adenin/Timin *Plasmodium falciparum* (NIH, 2000).

Seperti parasit malaria pada manusia, *Plasmodium berghei* ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* dan dapat menginfeksi *hepar* setelah masuk pembuluh darah akibat gigitan nyamuk betina. Setelah mengalami multiplikasi dan perkembangan (beberapa hari) parasit meninggalkan *hepar* dan menginvasi eritrosit. Multiplikasi parasit di darah menyebabkan keadaan patologis seperti anemia dan merusak organ-organ penting dalam tubuh *host*, seperti paru-paru, *hepar*, dan lien (Harijanto, 2007).

Alasan penggunaan *Plasmodium berghei* sebagai model penelitian dikarenakan, yaitu:

- a. *Plasmodium berghei* belum pernah ditemukan dapat menyebabkan malariapada manusia dan dalam penelitian laboratorium umumnya ditularkan melalui suntikan darah hewan pengerat terinfeksi ke hewan pengerat lainnya.
- b. *Plasmodium berghei* memiliki kesamaan morfologi dengan parasit malaria pada manusia
- c. *Plasmodium berghei* juga memiliki kesamaan protein permukaannya yang berperan dalam invasi sel darah merah.

Pada pengecatan khusus darah mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* terlihat gambaran bercak pada sel yang terinfeksi dimana sel kecil,

bundar dan bervakuola sedikit lalu berkembang menjadi besar, bundar dan mengandung banyak vakuola yang bersifat trofozoit.

2.5 Tinjauan tentang Mencit (*Mus musculus*)

Menurut Anggonowati (2008), taksonomi *Mus musculus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus*



Gambar 2.4 *Mus musculus* (Dilla, 2010)

Pemilihan suatu metode uji dengan menggunakan hewan sangat ditentukan oleh kepekaan hewan terhadap metode uji tersebut. Dengan demikian kepekaan menjadi faktor utama. Faktor-faktor lain yang dapat menjadi pertimbangan adalah kemudahan berkembang biak sehingga mudah didapat replikasinya, masalah harga, faktor ketahanan hewan, dan kemudahan beradaptasi dengan lingkungan. Dalam suatu uji khasiat obat atau bahan obat umumnya dimulai dari hewan spesies rendah, misal udang kresik dan berlanjut ke hewan spesies tinggi seperti

mencit, tikus, marmot, kelinci, kucing, anjing sampai simpanse yang struktur dan fisiologisnya mirip dengan manusia (Smith. 1998)

Sundari, dkk (1997) menyatakan beberapa keunggulan hewan pengerat (Mencit) dapat dijadikan model penelitian malaria adalah:

- a) Dasar biologi dari parasit pada manusia dan hewan pengerat adalah sama
- b) Terdapat kesamaan karakteristik antara parasit pada manusia dan parasit pada hewan pengerat dalam hal dasar molekuler sensitivitas dan resistensi obat
- c) Terdapat analogi dari organisasi genom dan genetika antara parasit pada manusia dan pada hewan pengerat
- d) Pada mencit yang diinfeksi malaria diperoleh derajat parasitemia yang lebih tinggi daripada binatang tikus dan hamster
- e) Cara pemeliharaannya lebih mudah

Mencit Balb/C lebih rentan terhadap infeksi *Plasmodium berghei* dan memiliki kemampuan bertahan hidup yang lebih 14 hari setelah diinfeksi *Plasmodium berghei*. Sehingga untuk mempelajari malaria cerebral dari parasit *Plasmodium berghei* menggunakan mencit Balb/C adalah yang paling sesuai (Jerry, 2006)

2.6 Metode Penelitian

2.6.1 Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya

rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu lamanya maserasi berbeda-beda antara 4 - 10 hari. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan cairan pengekstraksi terhadap simplisia, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1995).

Djarwis (2004) mengatakan proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Larutan dari hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan saringan halus dan kemudian dipompa ke dalam *evaporator*, sehingga pelarut dapat diuapkan. *Evaporator* tersebut mempunyai konstruksi yang bermacam-macam yang merupakan modifikasi dari penangas air atau penangas uap (Guenther, 1987).

Salah satu kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

Menurut Voight (1995) persyaratan untuk mengekstraksi bahan kandungan tumbuhan adalah tingkat kehalusan yang cocok dari material awal. Dengan

meningkatnya tingkat kehalusan, maka luas permukaan yang dikenai cairan ekstraksi akan semakin besar. Serbuk dengan penghalusan yang tinggi kemungkinan sel-sel yang rusak juga semakin besar, sehingga memudahkan pengambilan bahan kandungan langsung oleh bahan pelarut. Harborne (1987) mengatakan untuk ekstraksi serbuk kering jaringan tumbuhan (misalnya dari lembaran herbarium, bila perlu) dapat diekstraksi dengan sedikit etanol 70% pada suhu kamar selama 8 – 24 jam. Sifat kelarutan zat di dasarkan pada teori *like dissolves like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2008).

Lenny^b (2006) mengatakan pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder.

2.6.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fasa (fasa gerak dan fasa diam) yang kepolarannya berbeda. Apabila molekul-molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fasa diam. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak. Apabila dua atau lebih komponen memiliki daya interaksi dengan fasa diam atau fasa gerak yang hampir sama maka komponen-komponen tersebut sulit dipisahkan (Hendayana, 2006).

Menurut Sastrohamidjojo (1991), kromatografi lapis tipis digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofob seperti lipida-lipida dan hidrokarbon. Sebagai fase diam digunakan senyawa yang tak bereaksi seperti silika gel atau alumina. Silika gel biasa diberi pengikat yang dimaksudkan untuk memberikan kekuatan pada lapisan dan menambah adhesi pada gelas penyokong. Pengikat yang biasa digunakan adalah kalsium sulfat.

Larutan cuplikan atau sampel ditotolkan pada plat dengan pipet mikro atau injektor pada jarak 1 – 2 cm dari batas plat. Setelah kering plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak sampai pada batas tertentu. Proses pengembangan dikerjakan dalam wadah tertutup yang diisi eluen dan telah dijenuhi uap eluen agar dihasilkan pemisahan yang baik (Anwar, 1994).

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia, fisika, maupun biologi. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Untuk Penyemprotan lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak. Dalam penelitian ini digunakan pereaksi Dragendorff untuk golongan alkaloid, Lieberman-Burchard untuk golongan steroid, dan FeCl_3 untuk golongan tanin.

Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar

ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, membuat bercak akan terlihat jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berfluoresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan kelihatan berfluoresensi (Gandjar dan Rohman, 2007). Sinar UV yang digunakan biasanya pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Menurut Sudjadi (1988) pada UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi.

Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik jenis apa saja, sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator fluoresensi, dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya ialah bercak gelap dengan latar belakang yang bersinar (Gritter, 1991).

Pada UV 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom yang ada pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke

keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak pada lampu UV 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Sudjadi, 1988).

Lapisan silika gel atau alumina yang akan dipakai sebagai penyerap diusahakan tidak mengandung banyak air, karena jika tidak maka air akan menempati semua titik penyerapan sehingga tidak akan ada pelarut yang melekat. Menurut Gritter (1991), penampakan bercak pada KLT menggunakan larutan ninhidrin dan senyawa yang terpisah dapat diidentifikasi dengan menghitung harga R_f (*Retardation Factor*) yaitu:

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}} \dots\dots\dots (2.1)$$

Harga-harga R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Harga-harga R_f yang diperoleh berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan (Sastrohamidjojo, 2007). Pengukuran ini dilakukan dengan mengukur jarak dari titik pemberangkatan (pusat zona campuran awal) ke garis depan pengembang dan pusat ratapan tiap zona. Nilai R_f akan menunjukkan identitas suatu zat yang dicari, contohnya asam amino dan intensitas zona itu dapat digunakan sebagai ukuran konsentrasi dengan membandingkan dengan moda-noda standar (Khopkar, 1990).

2.7 Senyawa Aktif Antimalaria

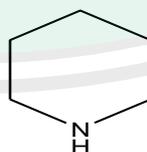
Senyawa antimalaria tertua (tahun 1820) untuk mengobati demam malaria adalah kulit pohon kina (*Cinchona succirubra*) dan alkaloid yang dikandungnya, senyawa lain yang berkhasiat antimalaria dari tanaman adalah artemisinin dari

tumbuhan *Artemisia annua* yang berasal dari China yang dikenal sebagai *qinghaosu* (Tjaj dan Rahardja, 2000 dalam Cholis, 2009).

Beberapa senyawa metabolit sekunder telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa ini dapat digolongkan dalam tujuh golongan besar yaitu alkaloid, quassinoid, sesquiterpen, triterpenoid, flavonoid, quinon dan senyawaan *miscellaneous*(Saxena et al, 2003 dalam Cholis, 2009).

2.7.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Achmad, 1986). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroksida dan asam sulfat (Robinson, 1995)



Gambar 2.5 Struktur inti alkaloid

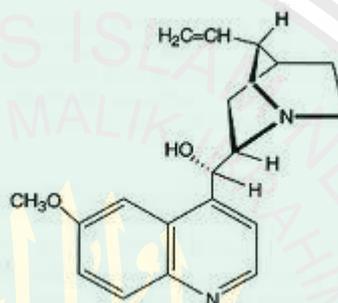
Metode pemurnian dan karakterisasi alkaloid umumnya mengandalkan sifat kimia alkaloid yang paling penting yaitu kebasaanya, dan pendekatan khusus harus dikembangkan untuk beberapa alkaloid (misalnya rutaekarpina, kolkisina, dan risinina) yang tidak bersifat basa. Alkaloid biasanya diperoleh dengan

caramengekstraksi bahan tumbuhan memakai asam yang melarutkan alkaloid sebagai garam, atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium karbonat dan sebagainya lalu basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter, dan sebagainya. Beberapa alkaloid sintesis dapat terbentuk jika kita menggunakan pelarut reaktif. Untuk alkaloid yang dapat menguap seperti nikotina dapat dimurnikan dengan cara penyulingan uap dari larutan yang dibasakan. Larutan dalam air yang bersifat asam dan mengandung alkaloid dapat dibasakan dan kemudian alkaloid diekstraksi dengan pelarut organik sehingga senyawa netral dan asam yang mudah larut dalam air tertinggal dalam air (Robinson, 1995). Menurut Harborne (1987), sebagai basa, alkaloid biasanya diekstraksi dari tumbuhan dengan pelarut alkohol yang bersifat asam lemah (HCl 1 M atau asam asetat 10 %), kemudian diendapkan dengan amoniak pekat.

Runadi (2007) mengekstraksi alkaloid dari tanaman komfrey menggunakan asam klorida 2 N dan 9 mL akuades. Widodo (2007) mengekstraksi alkaloid dari jamur tiram putih dengan 300 mL amoniak 10 %.

Lebih dari 100 jenis alkaloid dari berbagai macam tanaman telah diketahui memiliki aktivitas antimalaria. *Alstonine*, *villalstonine* dan *makrocarpamin* merupakan senyawa metabolit sekunder dari tanaman pule (*Alstonia scholaris* Linn.) yang memiliki aktivitas antimalaria (Arulmozhi *et al.*, 2007 dalam Cholis, 2009). Penelitian Umami (2006) menyebutkan bahwa senyawa alkaloid golongan erythrinan dari daun cangkring (*erythrinofusca*) dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* secara in vitro dengan nilai LC_{50} sebesar 2,07 $\mu\text{g/mL}$.

Kuinin (kina) merupakan alkaloid penting yang diperoleh dari kulit pohon, sinkona. Kina mengandung gugus kuinolin yang terikat pada cincin yang terikat pada cincin kuinoklidin melalui ikatan alkohol sekunder, juga mengandung rantai samping –metoksi dan –vinil. Struktur kuinidin sama dengan kina, kecuali konfigurasi sterik alkohol sekundernya, sedangkan sinkonidin dan sinkonin tidak memiliki gugus metoksi (Farmakologi FKUI. 1995).



2.6 Struktur Kina

Fase gerak yang digunakan untuk KLT alkaloid adalah methanol : diklorometan (9 : 1) (windono dkk, 2011), kloroform : etanol (9 : 1) (Ekasari *et al.*, 2005), methanol : kloroform (0,5 : 9,5) (Widodo, 2007). Kloroform : metanol (9 : 1) (Barus, dkk., 2010), kloroform : n-heksana (2 : 1) (Susilaningih, 2007) dengan pereaksi Dragendorff. Kemudian dilihat pada sinar UV 254 nm dan 366 nm dan bila bercak warna jingga pada lempeng hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa alkaloid.

2.7.2 Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Arifin, 1986).

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mengandung C₁₅ terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Struktur umum flavonoid dapat juga digambarkan sebagai deretan senyawa C₆ – C₃ – C₆, struktur umum molekul ini ditunjukkan dalam gambar berikut (Sastrohamidjojo, 1996)



2.7 Struktur inti senyawa flavonoid (Robinson, 1995)

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988)

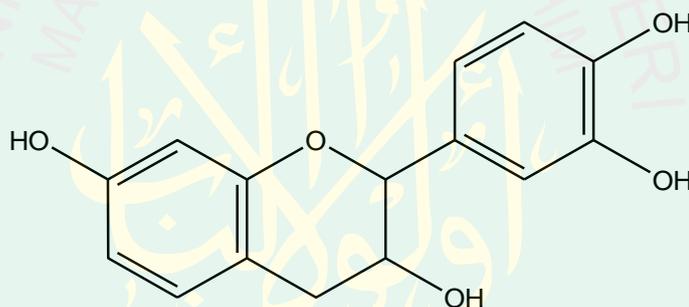
Fitria dkk.,(2009) mengisolasi flavonoid dari buah tumbuhan mempelas menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan dikorometana. Jimmy dk., (2002) mengisolasi flavonoid dari kulit batang rengas menggunakan pelarut n-heksana.

Fase gerak yang digunakan untuk KLT flavonoid adalah metanol : kloroform (1 : 9) (Milyasari, 2010), etil asetat : metanol (7 : 3) (Ellizar dan Ma'ruf, 2009), etil asetat : metanol (8 : 2) (Ellizar dan Ma'ruf, 2009), etil asetat : metanol (9 : 1)

(Ellizar dan Ma'ruf, 2009), kloroform : metanol (3 : 2) (Sukadana, 2010) yang diuapi dengan ammonia dan akan berwarna biru kehijauan. Penampakan noda diamati pada lampu UV 254 nm dengan warna kuning atau merah jingga.

2.7.3 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, dan buah yang belum matang. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin, dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).



2.8 Struktur dasar tanin

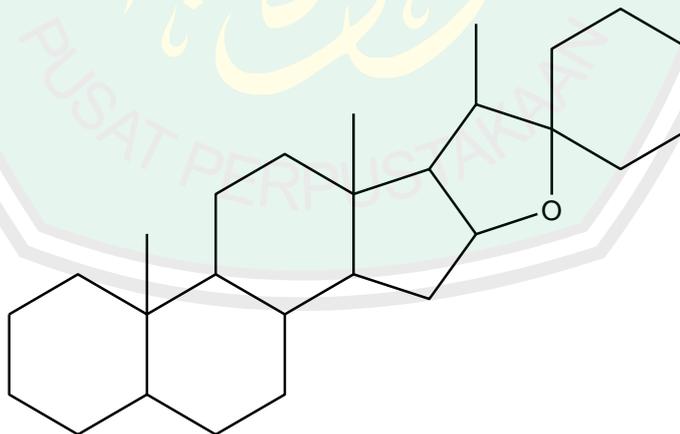
Deny (2007) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa tanin dapat diekstrak dari bagian-bagian tumbuhan tertentu dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang umum adalah aseton, etanol, maupun metanol dan secara komersial tanin dapat diestraksi dengan menggunakan pelarut air tetapi yang paling efektif untuk mengekstrak tanin dari kulit kayu dapat digunakan larutan air dengan etanol atau aseton dengan perbandingan 1 : 1.

Fase gerak yang digunakan untuk KLT tanin adalah asam asetat glasial : air : asam klorida (30 : 10 : 3) (Hayati, 2010), butanol : asam asetat : air (14 : 1 : 5) (Harborne, 1987), asam asetat glacial : air : HCl (30 : 10 : 3) (Nuraini, 2002),

butanol : asam asetat : air (2 : 0,5 : 1,1) (Yulia, 2006), n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) (Sa'adah *et al.* 2010) dengan pereaksi FeCl_3 . Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV-vis pada panjang gelombang 366 nm menunjukkan warna ungu kehitaman. Pengamatan noda tanpa sinar UV berwarna biru kehijauan.

2.7.4 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer dapat sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai antimikroba, dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam asam atau menggunakan enzim (Robinson, 1996).



2.9 Struktur dasar saponin

Lutfillah (2008) dalam penelitiannya menunjukkan adanya senyawa saponin dari ekstrak tanaman angret dengan pelarut etanol. Fase gerak yang digunakan untuk KLT saponin adalah jenis eluen yang digunakan adalah kloroform : metanol

: air (13 : 7 : 3) (Harborne, 1987), kloroform : metanol : air (20 : 60 : 10) (Kristianingsih, 2005), kloroform : metanol : air (3 : 1 : 0,1), dan kloroform : metanol : air (14 : 6 : 1) (Bogoriani, *et al.*, 2007), dan kloroform : aseton (4 : 1) (Suryani dkk., 2005). Ketika ditambahkan H_2SO_4 0,1 M akan menimbulkan warna ungu gelap.

2.7.5 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas, dan sebagai glikosida. Triterpenoid alkohol menhidroksi dalam tumbuhan tidak bersamaan dengan pigmen, sedangkan triterpenadiol berada bersama-sama dengan karotenoid dan triterpenoid asam dengan flavonoid (Robinson, 1995).

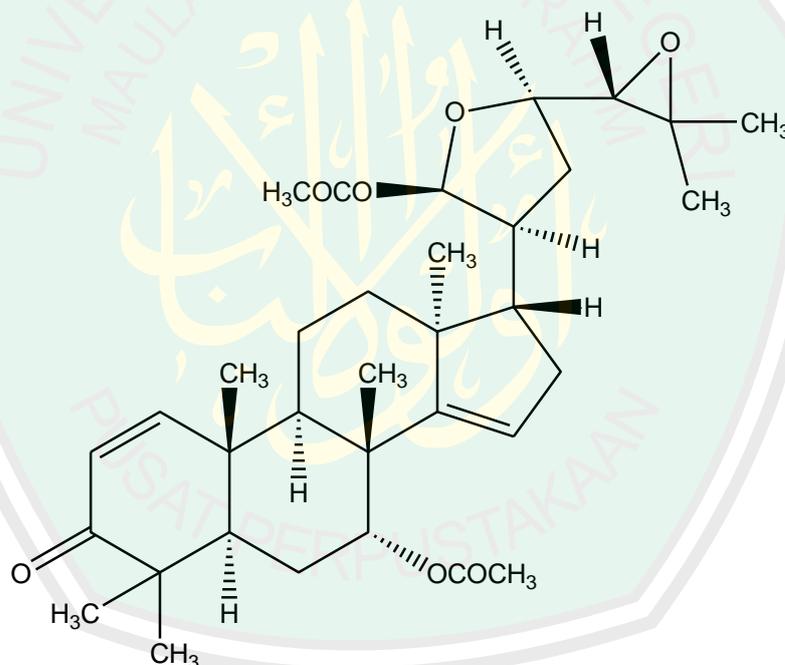


2.10 Senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)

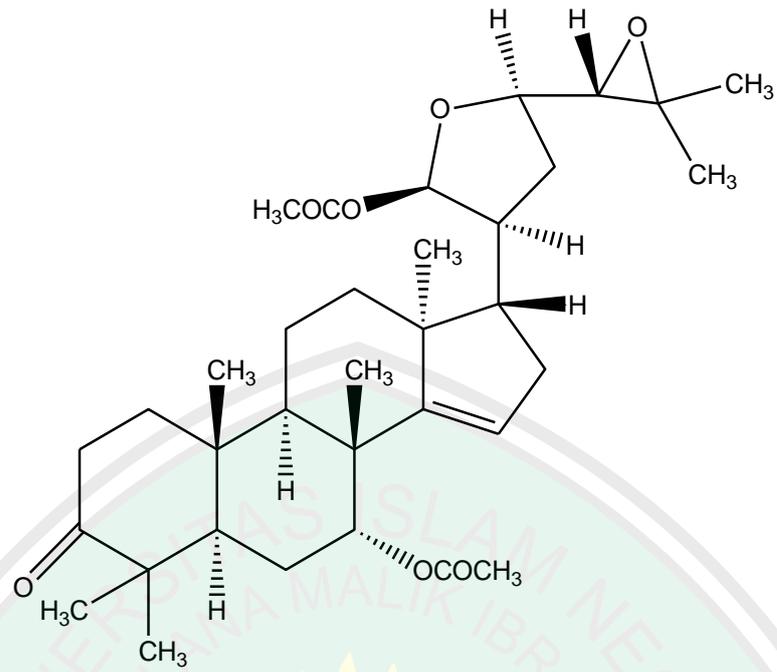
Triterpena dapat dipisahkan dengan KLT memakai pengembang seperti heksana : etil asetat (1 : 1) dan kloroform : metanol (10 : 1) dengan pendeteksi

antimony klorida dalam kloroform (Harborne, 1987). Sriwahyuni (2010) menggunakan pengembang benzena : kloroform (3 : 7) dan n-heksana : etil asetat (1 : 1) untuk memisahkan senyawa triterpenoid dari tanaman anting-anting dan eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik adalah eluen campuran n-heksana : etil asetat (1 : 1).

Kitagawa (1994) dalam Achmad, dkk., (2009) menyebutkan senyawa triterpen dari *B. Javanica* yaitu bruceajavanin A dan dihidrobruceajavanin A memperlihatkan aktivitas penghambatan pada pertumbuhan kultur *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap klorokuin.



Brucejavanin A



Dihydrobruceajavanin A

Gambar 2.11 Struktur beberapa senyawa turunan triterpen (Kitagawa, 1994)

dalam Achmad, dkk (2009)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2014 sampai September 2014 di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Optik Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ekstraksi maserasi adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, blender, cawan penguap, neraca analitik, gelas vial, kertas saring whatman, *shaker*, penyaring *buchner*, dan *vacuum rotary evaporator*. Alat-alat yang digunakan untuk pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis adalah plat KLT silika gel 60 F₂₅₄, bejana pengembang, lampu UV, pipa kapiler, bola hisap dan pipet ukur.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian uji antimalaria adalah kandang hewan uji yang terbuat dari bak plastik, kawat, botol minum dan tempat makan mencit. Alat untuk *Thawing* isolat *P. Berghei* adalah *vacum tube*, *yellow tip*, pinset, mikropipet, mikroskop cahaya, gunting, spuit 1 mL, *laboratory bottle 100 mL*, *object glass*. Alat untuk inokulasi *P. Berghei* adalah mikropipet, *yellow tip*, pinset, spuit 1 mL. Alat untuk mengambil darah mencit antara lain gunting

steril, spuit 1 mL, jarum steril dan kapas. Alat untuk mengukur derajat parasitemia adalah *object glass*, mikroskop, kaca, preparat dan pipet.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang tanaman Widuri(*Calotropis gigantea*). Bahan yang digunakan untuk ekstraksi maserasi dan uji fitokimia adalah etanol 80%, gas N₂, reagen Dragendorf, reagen Mayer, metanol 50%, logam Mg, HCl 2%, HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, aquades, larutan FeCl₃ 1%, H₂SO₄, HCN 1N. Bahan yang digunakan untuk Kromatografi Lapis Tipis adalah aquades, etanol (p.a), kloroform (p.a), metanol (p.a), n-heksanan (p.a), asam sulfat 50%, uap amonika, toluena, etil asetat (p.a), reagen Dragendorf, reagen Lieberman-Burchard, dan plat KLT.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji antimalaria adalah mencit putih jantan galur Balb/C, pakan mencit (pellet), serbuk kayu, air minum Aqua. Bahan yang digunakan untuk *Thawing* kultur isolat *P. Berghei* adalah darah jantung dari mencit donor, EDTA (etilenadiaminatetraasetat), larutan Alsever's, gliserol 10%, dan aquades. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan mencit donor adalah mencit Balb/C, larutan PBS (*phosphate buffer saline*) 10%, sel darah merah yang terinfeksi parasit dari hasil proses *thawing*. Bahan-bahan yang digunakan untuk inokulasi *P. Berghei* adalah darah mencit yang terinfeksi, larutan PBS 10%. Bahan untuk mengukur derajat parasitemia adalah ekor mencit, buffer Giemsa, Giemsa fluka, metanol (p.a). Bahan-bahan yang digunakan untuk terapi yaitu klorokuin, ekstrak batang tanaman Widuri dan larutan CMC-Na (*carboxymethyl cellulose-sodium*) 1%.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik. Sampel diambil dari batang tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*). Kemudian sampel dikeringkan dan dihaluskan dalam bentuk serbuk. Sampel diekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 80%. Selanjutnya, ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri gas N₂ sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antimalaria secara *in vivo* dengan variasi dosis yaitu 0,1 mg/Kg BB sehari secara oral, 1 mg/Kg BB sehari secara oral dan 10 mg/Kg BB sehari secara oral terhadap mencit untuk mengetahui daya hambat *P. Berghei* melalui nilai derajat parasitemia yang diperoleh dengan 6 ulangan pada setiap kelompok. Setelah itu, dilakukan uji fitokimia. Sampel yang positif uji fitokimia, dipisahkan dengan KLT analitik berdasarkan campuran berbagai eluen.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel.
2. Analisis kadar air.
3. Ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi.
4. Uji antimalaria.
5. Uji fitokimia dengan uji warna menggunakan reagen peraksi.
6. Pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik
7. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Batang Widuri yang telah diambil 2 Kg dan dicuci, kemudian dikeringkan di udara terbuka, dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 30 – 37 °C selama 5 – 6 jam. Setelah kering batang Widuri diblender sampai berbentuk serbuk.

Pemblenderan dilakukan bertujuan untuk mendapatkan ukuran partikel sampel menjadi <60 mesh, sehingga didapatkan serbuk yang homogen, untuk membuktikan bahwa ukuran partikel sampel <60 mesh, dilakukan pengayakan menggunakan ayakan 60 mesh. Setelah didapatkan serbuk halus, sampel diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 80%

3.5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan. Cawan yang digunakan dipanaskan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 100 – 105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel batang Widuri yang telah menjadi serbuk, dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya. Sampel ditimbang sekitar 5 g, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel dipanaskan kembali ke dalam oven ± 20 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut (Milyasari, 2010):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan : a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \dots\dots\dots(3.2)$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{kadar air} - \text{faktor koreksi}$$

Setelah memperoleh nilai % kadar air terkoreksi pada serbuk batang Widuri, selanjutnya dilakukan pemblenderan yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel dan untuk memperoleh serbuk halus dengan ukuran < 60 mesh (dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh) sehingga serbuk homogen. Kemudian serbuk halus batang Widuri diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80%.

3.5.3 Ekstraksi Batang Widuri menggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi atau perendaman. Serbuk batang tanaman Widuri ditimbang sebanyak 100 g dan perlakuan dibagi menjadi dua, masing-masing 50 g untuk proses ekstraksi. Lalu diekstraksi secara maserasi masing-masing menggunakan 250 mL pelarut etanol 80% selama 24 jam dengan pengocokan selama 3 jam menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm, kemudian ampas yang diperoleh direndam dengan 250 mL pelarut yang sama sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat. Filtrat yang diperoleh digabungkan dan dipisahkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat etanol. Ekstrak pekat tersebut dioven pada suhu 37 °C untuk menghilangkan residu etanolnya kembali. Kemudian ditimbang sampai diperoleh berat yang konstan. Cara ini

akan memberikan hasil maksimal dimana ekstrak pekat yang diperoleh memiliki kandungan residu etanol paling kecil. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antimalaria secara *in vivo* (Nadia, 2010).

3.5.4 Uji Antimalaria

3.5.4.1 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur Balb/C jenis kelamin jantan, umur 8 - 12 minggu, berat badan 20 – 23 g. Sebelum perlakuan, mencit dipelihara dalam kandang yang diberi alas serbuk kayu dan anyaman kawat sebagai penutup. Pemberian makan dan minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum*.

3.5.4.2 Perlakuan Hewan Coba

Penelitian dilakukan dengan enam kelompok perlakuan. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009). Rumus Federer: $(n-1)(t-1) \geq 15$; dengan $t = \text{jumlah kelompok} = 6$

$n = \text{jumlah pengulangan tiap sampel}$

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15, \text{ maka } n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah empat sediaan mencit untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 24 ekor mencit. Pada penelitian ini, tiap kelompok perlakuan diletakkan 2 mencit, sehingga jumlah mencit yang digunakan 36 mencit. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian pelarut 0,5 mL CMC-Na 1% sekali sehari per oral
- b. Kelompok kontrol positif adalah kelompok perlakuan klorokuin dosis 5,71 mg/Kg BB sekali sehari per oral.
- c. Kelompok non infeksi adalah kelompok perlakuan tanpa infeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian 0,5 mL larutan CMC-Na 1% sekali sehari per oral
- d. Kelompok Widuri 1 adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dan terapi ekstrak etanol Widuri dosis 0,1 mg/Kg BB sekali sehari per oral
- e. Kelompok Widuri 2 adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dan terapi ekstrak etanol Widuri dosis 1 mg/Kg BB sekali sehari per oral
- f. Kelompok Widuri 3 adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dan terapi ekstrak etanol widuri dosis 10 mg/Kg BB sekali sehari per oral

Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode Fitri L.E modifikasi dari metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991 dalam Muti'ah, 2010). Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 1 – 5 % yang dihitung sebagai hari ke-0. Terapi dilakukan setiap hari selama 4 hari. Pengamatan derajat parasitemia dilakukan pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, dan hari ke-3.

3.5.4.3 Freezing dan Thawing Isolat *Plasmodium berghei*

Perlakuan *freezing* dan *thawing* isolat parasit dalam penelitian ini merujuk pada penelitian Coutrier (2009). *Freezing* dilakukan dengan menampung darah mencit yang telah terinfeksi dan ditampung dalam *beaker glass*, kemudian diambil 0,8 mL darah mencit yang telah terinfeksi sebanyak 0,8 mL menggunakan pipet ukur 1 ml. Darah mencit yang telah diambil, dimasukkan ke dalam *vacuum*

tubeyang telah diisi dengan EDTA. Setelah itu, ditambah dengan 1,6 mL larutan Alsever's yang mengandung gliserol 10 %. Selanjutnya *vacuum tube* ditutup dan dimasukkan ke dalam *liquid nitrogen tank* selama ± 1 menit, kemudian dipindahkan ke dalam *freez -70 °C*.

Ketika akan digunakan untuk perlakuan infeksi, isolat parasit diambil dari *freezer* agar parasit dapat mencair dan siap untuk diinfeksi pada hewan coba. Semua pekerjaan yang berhubungan dengan isolat *Plasmodium berghei* didalam *Laminar Air Flow* dan bersifat spesifik.

3.5.4.4 Pembuatan Donor

Perlakuan dalam pembuatan donor merujuk pada penelitian Muti'ah *et al.*, (2010). Dalam membuat sistem donor ini, sel darah merah yang telah terinfeksi parasit diambil 6,7 μL menggunakan mikropipet dan diresuspensikan sampai 200 μL dengan PBS. Selanjutnya disuntikkan pada mencit secara *intraperitoneal (i.p)* dan diamati derajat parasitemianya. Apabila derajat parasitemianya telah mencapai 2,5 %, maka mencit tersebut dapat digunakan untuk menginfeksi mencit yang lain.

3.5.4.5 Inokulasi *Plasmodium berghei*

Inokulasi *Plasmodium berghei* ini merujuk penelitian Muti'ah *et al* (2010) yang mana inokulasi *Plasmodium berghei* dilakukan secara *intraperitoneal (i.p)* dengan jumlah parasit yang diinfeksi sebanyak 1×10^6 . Dalam hal pemeriksaan mencit yang telah terinfeksi parasit ini, diasumsikan pada mencit yang normal nilai hematokritnya (angka yang menunjukkan prosentase zat padat dalam darah terhadap cairan darah) adalah 60 % dan di sini mencit donor memiliki 6×10^9 sel darah merah/mL dalam darah. Jika derajat parasitemia mencit

donor sebesar 2,5 % maka diambil darah sebesar 6,7 μ L, kemudian disuspensikan sampai 200 μ L dengan larutan PBS. Setelah dilakukan infeksi, selanjutnya dilakukan pengamatan parasitemia setiap hari hingga mencapai 1 – 5 % sebagai hari ke-0 terapi, kemudian dilakukan terapi obat atau ekstrak uji pada hari ke-1, ke-2 dan ke-3

3.5.4.6 Pengukuran Derajat Parasitemia

Mula-mula dibuat hapusan darah yang dilakukan dengan cara mengambil setetes darah dari ekor mencit dengan menggunting ekor mencit dan ditetaskan pada object glass. Tetesan darah tersebut ditipiskan dengan menggunakan tepi object glass dan ditunggu sampai kering. Kemudian hasil hapusan ditetesi dengan metanol hingga merata dan ditunggu hingga kering. Selanjutnya dilakukan pewarnaan Giemsa dengan cara mencampurkan Giemsa fluka dan Buffer Giemsa dengan perbandingan 1 : 9. Pewarnaan Giemsa ditetaskan pada hapusan dan ditunggu selama 20 menit. Selanjutnya dibilas dengan air mengalir hingga tidak ada cat yang tersisa kemudian dikeringkan. Selanjutnya hapusan darah yang sudah dicat dilakukan pemeriksaan parasitemia di bawah mikroskop menggunakan pembesaran 1000x dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi malaria dari 1000 eritrosit. Persen derajat parasitemia adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi *P. berghei* dalam 1000 eritrosit. Persen derajat parasitemia ditentukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi}}{1000 \text{ eritrosit}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.3)$$

Sedangkan persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(\text{parasitemia kontrol negatif} - \text{parasitemia obat ekstrak})}{\text{parasitemia kontrol negatif}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.4)$$

Selanjutnya ditentukan harga ED₅₀ dengan menggunakan analisis probit dari % penghambatan hari ke-3.

3.5.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan golongan senyawa aktif pada ekstrak tanaman. Tanaman umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri maupun lingkungannya (Lenny, 2006) Sehingga dilakukan uji fitokimia agar dapat diketahui senyawa yang terdapat di dalamnya. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.

3.5.5.1 Uji Alkaloid

Dimasukkan ekstrak batang Widuri (*Calotropis gigantea*) sebanyak 500 µL dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi menjadi tiga tabung. Tabung pertama larutan ditambah 0,5 mL larutan asam encer sebagai pembanding, tabung kedua larutan ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendorff dan tabung ketiga larutan ditambah 2 – 3 tetes reagen Mayer. Apabila tabung kedua terbentuk endapan jingga dan pada tabung ketiga terbentuk endapan kekuningan, hal ini menunjukkan bahwa terdapat golongan senyawa alkaloid dalam sampel.

3.5.5.2 Uji Flavonoid

Dimasukkan ekstrak batang Widuri (*Calotropis gigantea*) sebanyak 500 µL dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 1 – 2 mL methanol 50 % panas. Kemudian ditambahkan logam Mg dan 4 – 5 tetes HCl

pekat. Diamati, apabila larutan membentuk warna merah atau jingga menunjukkan terdapat golongan senyawa flavonoid dalam sampel (Indrayani, dkk., 2006)

3.5.5.3 Uji Tanin

Dimasukkan ekstrak batang Widuri (*Calotropis gigantea*) sebanyak 500 μ L dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 1 – 2 ml air, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl_3 . Jika terdapat senyawa golongan tanin akan ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi hijau, hal ini mengindikasikan terdapat tanin katekol, apabila warna larutan berubah menjadi biru kehijauan, hal ini menunjukkan adanya tanin galat

3.5.5.4 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan metode Forth. Diambil 500 μ L ekstrak batang Widuri(*Calotropis gigantea*) 10000 ppm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL aquades dan dikocok 1 menit, diamati perubahan yang terjadi. Jika menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin dalam sampel.

3.5.5.5 Uji Triterpenoid

Dimasukkan ekstrak batang Widuri(*Calotropis gigantea*) sebanyak 500 μ L dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi. Kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya, campuran ditetesi dengan 1 – 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya terpenoid.

3.5.6 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Pemisahan golongan senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder pada uji fitokimia. Proses identifikasi merujuk pada sumber literatur Harborne (1987) dan Sastrohamidjojo (1985). Disiapkan bejana pengembang sebagai tempat menampung eluen saat proses pemisahan dilakukan, dimasukkan campuran eluen ke dalam bejana pengembang dan ditutup bejana pengembang selama 1 jam untuk menjenuhkan uap eluennya.

Identifikasi dengan KLT digunakan plat silica gel F₂₅₄ yang sudah diaktivasi dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60 – 70° C selama 10 menit. Masing-masing plat dipotong dengan ukuran 1x10 cm² dan diberi tanda batas 1 cm dari bagian atas dan bawah plast silika gel. Selanjutnya ekstrak pekat batang Widuri 1000 mg dilarutkan dalam 1 mL etanol 80 %, kemudian ditotolkan sebanyak 5 – 10 totolan pada plat KLT pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat menggunakan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas (± 1 cm dari atas plat), maka elusi dihentikan. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian dipanaskan di oven pada suhu 60° C selama 10 menit dan diamati noda tersebut dan dihitung nilai R_f untuk mengetahui golongan senyawa antimalaria.

Adapun fase gerak untuk masing-masing golongan senyawa aktif adalah sebagai berikut:

- 1) **Golongan Alkaloid** : digunakan fase gerak berupa kloroform : metanol (9,5 : 0,5) menghasilkan warna noda jingga kehitaman (Hayati dkk, 2012), etil

asetat : etanol : n-heksan (2 : 1 : 30) menghasilkan warna noda biru dan merah (Kusrini, 2013), kloroform : etanol (9 : 1) menghasilkan warna noda jingga, coklat, jingga, dan putih (Ekasari *et al*, 2005), etil asetat : metanol : air (100 : 16,5 : 13,5) menghasilkan warna noda jingga berlatar belakang kuning (Marliana, 2007), dan diklorometan : metanol (1 : 9) menghasilkan warna noda jingga (Kholifah, 2008) dengan pereaksi Dragendorff. Kemudian dilihat pada sinar UV 254 nm dan 366 nm.

- 2) **Golongan Flavonoid** : eluen yang digunakan adalah metanol : kloroform (1 : 9) menghasilkan noda lembayung (Milyasari, 2010), butanol : asam asetat : air (3 : 1 : 1) menghasilkan noda kuning muda (Marliana, 2005), butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) menghasilkan noda ungu dan merah kecoklatan (Halimah, 2010), metanol : kloroform (1 : 39) menghasilkan noda hijau muda, hijau tua, tidak berwarna, dan kuning kehijauan (Inayah, 2011), dan butanol : asam asetat : air (9 : 2 : 6) menghasilkan noda lembayung (Rohyami, 2008), yang diuapi dengan ammonia dan akan berwarna biru kehijauan. Penampakan noda diamati pada lampu UV 254 nm dengan warna kuning atau merah jingga.
- 3) **Golongan Tanin** : eluen yang digunakan adalah asam asetat glasial : air : asam klorida (30 : 10 : 3) menghasilkan noda biru muda dan hijau kebiruan (Hayati, 2012), butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) menghasilkan noda warna coklat kehijauan, hijau dan ungu kemerahan (Sa'adah, 2010), n-heksan : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2) menghasilkan noda berwarna hitam keabu-abuan (Suryaningsih dkk., 2010), butanol : asam asetat : air (14 : 1 : 5) menghasilkan noda ungu kehitaman (Khasirunnisak, 2013), dan kloroform :

metanol : air (7 : 3 : 0,4) menghasilkan noda hitam, merah, ungu muda dan hijau (Khairunnisak, 2013), dengan pereaksi FeCl_3 . Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV-vis pada panjang gelombang 366 nm menunjukkan warna ungu kehitaman. Pengamatan noda tanpa sinar UV berwarna biru kehijauan.

- 4) **Golongan Saponin** : jenis eluen yang digunakan adalah heksana : aseton (4 : 1) menghasilkan noda merah jambu atau ungu (Marliana, 2005), kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) secara visual tidak terdapat bercak noda (Suharto, 2012), etanol : ammonia : butanol (2 : 5 : 7) menghasilkan noda biru hijau (Rosida, 2002), kloroform : metanol : air (20 : 60 : 10) menghasilkan noda berwarna ungu (Jaya, 2010), dan kloroform : metanol : aquades (20 : 60 : 4) menghasilkan noda berwarna kecoklatan (Jaya, 2010). Ketika ditambahkan H_2SO_4 0,1 M akan menimbulkan warna ungu gelap.
- 5) **Golongan Terpenoid** : eluen n-heksana : etil asetat (2 : 8), mendapatkan noda merah muda, merah keunguan, dan kuning kecoklatan (Zamrodi, 2011), n-heksan : etil asetat (2 : 8) menghasilkan noda merah muda, kuning kecoklatan, merah keunguan, dan merah sedikit kecoklatan (Halimah, 2010), benzena : kloroform (3 : 7) menghasilkan noda hijau kecoklatan, dan hijau tua (Sriwahyuni, 2010), n-heksana : etil asetat (1 : 1) menghasilkan noda kuning muda kehijauan (Sriwahyuni, 2010), n-heksan : etil asetat (7 : 3) menghasilkan noda kuning muda, dan kuning kecoklatan (Zahro, 2011) yang menunjukkan warna ungu dan merah keunguan dengan reagen penyemprot Lieberman-Burchard.

3.6 Analisis Data

Data yang dianalisis adalah presentase penghambatan pertumbuhan parasit ekstrak etanol 80 % batang Widuri dalam kaitannya dengan dosis ekstrak yang diberikan pada perlakuan. Nilai efektifitas dosis 50 % (ED_{50}) dihitung berdasarkan analisa probit % penghambatan pertumbuhan parasit selama 4 hari dan dilanjutkan dengan analisis regresi linier dengan program Microsoft Office Excel.

Data dari pemisahan dianalisis secara deskriptif yaitu dengan memperlihatkan pola pemisahan dan kenampakan noda pada plat KLT dengan berbagai eluen yang digunakan.

Program lain yang digunakan untuk analisis data adalah MINITAB 16 dengan cara *two way ANOVA*. Hasil pengujian yang diperoleh digunakan untuk menggambarkan pengaruh pemberian perlakuan ekstrak batang Widuri terhadap derajat parasitemia mencit bermakna atau tidak. Analisis *post Hoc* dengan uji *Tukey* untuk mengetahui kelompok mana saja yang menunjukkan perbedaan yang signifikan (Muti'ah *et al.*, 2010)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini memiliki judul "Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Potensi Antimalaria Ekstrak Etanol 80% Batang Widuri(*Calotropis gigantea*) pada Hewan Coba yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*". Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam batang Widuri, mengetahui potensi antimalaria ekstrak etanol batang Widuri secara *in vivo* dan mengetahui eluen terbaik dalam uji KLT. Hasil dan pembahasan penelitian ini akan diurutkan sesuai dengan tahapan penelitian, yaitu : preparasi sampel, analisis kadar air, ekstraksi batang Widuri menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi, uji antimalaria, uji fitokimia dengan uji warna menggunakan reagen pereaksi, dan pemisahan golongan senyawa aktif dengan KLT.

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian batang tanaman Widuri(*Calotropis gigantea*) yang diambil dari Kota Pasuruan. Sampel diambil sebanyak 2 kg dan dicuci hingga bersih untuk menghilangkan kotoran atau tanah yang menempel pada batang Widuri agar tidak mengganggu dalam proses selanjutnya, sampel di angin-anginkan untuk mengurangi kadar air dalam sampel yang diakibatkan oleh pencucian, kemudian sampel di potong kecil-kecil untuk memperlebar luas permukaan sehingga sampel lebih cepat kering dan lebih mudah untuk di haluskan, selanjutnya sampel dikeringkan dengan oven pada suhu 30 – 37 °C selama 5 – 6 jam, pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sampel, mencegah tumbuhnya jamur, sehingga sampel lebih tahan untuk disimpan

dalam waktu yang lama dan kandungan pada sampel tidak mengalami perubahan (Halimah, 2010). Langkah selanjutnya sampel di blender hingga halus dengan nilai kehalusan di bawah 60 mesh, semakin halus sampel akan semakin baik karena semakin halus sampel maka semakin lebar luas permukaan sampel sehingga pada saat proses maserasi akan lebih lebar luas permukaan yang berinteraksi dengan pelarut yang digunakan. Pembuktian bahwa ukuran partikel sampel di bawah 60 mesh dilakukan dengan mengayak sampel dengan menggunakan ayakan yang berukuran 60 mesh, apabila sampel berukuran kurang dari 60 mesh, maka semua sampel akan lolos dari ayakan. Hasil dari proses penggilingan didapatkan sampel halus berwarna putih kecoklatan dengan ukuran di bawah 60 mesh.

4.2 Analisis Kadar Air

Kadar air adalah persentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat basah atau berat kering. Berat bahan kering adalah berat bahan setelah mengalami proses pemanasan beberapa waktu tertentu sehingga beratnya tetap (konstan) (Syarif dan Halid, 1993). Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan metode pemanasan (*thermografi*), yaitu dengan mengeringkan bahan di dalam oven pada suhu 105-110 °C sampai diperoleh berat konstan (Winarno, 2002)

Pengujian kadar air ditujukan untuk mengetahui kadar air dari sampel yang akan diteliti, karena kadar air berpengaruh pada proses penyimpanan sampel dan berpengaruh pada proses ekstraksi, semakin kecil kadar air maka sampel tidak

mudah ditumbuhi mikroorganisme sehingga dapat disimpan lebih lama, selain itu sampel akan semakin mudah terekstrak karena daya serap sampel semakin tinggi.

Pengujian kadar air dilakukan dengan cara memanaskan cawan kosong selama 15 menit dan di simpan dalam desikator selama 10 menit, kemudian ditimbang, hal ini dilakukan sampai diperoleh berat cawan konstan, kemudian ditambahkan sampel yang akan diuji. Dikatakan berat cawan sudah konstan apabila selisih antara penimbangan adalah maksimal 0,002 gram. Pengujian kadar air sampel basah dan kering dilakukan sama seperti pengujian pada cawan kosong, pengujian dilakukan sampai diperoleh berat yang konstan. Pemanasan sampel bertujuan untuk menguapkan kandungan air dalam sampel, dan penyimpanan dalam desikator bertujuan untuk mendinginkan cawan dan agar uap yang masih dikeluarkan oleh sampel tidak kembali ke sampel melainkan terikat pada silica gel yang ada di dalam desikator. Kadar air sampel merupakan selisih berat sampel sebelum dan sesudah dikeringkan (Winarno, 2002).

Tabel 4.1 Kadar air dalam batang Widuri (*Calotropis gigantea*)

Sampel	Kadar Air (%)
Sampel Basah	76,62
Sampel Kering	3,57

Dari data pada tabel 4.1 dapat dilihat bahwa sampel basah memiliki kadar air lebih tinggi yaitu 76,62 % daripada sampel kering yang hanya 3,57 %, hal ini dikarenakan sampel basah dilakukan pengujian kadar air saat keadaan sampel masih segar, sedangkan sampel kering diuji kadar airnya pada keadaan kering yang sebelumnya telah dikeringkan terlebih dahulu. Soetarno dan Soediro (1997) menyatakan bahwa sampel dapat dikatakan baik dan dapat disimpan dalam jangka

waktu yang lama apabila memiliki kadar air kurang dari 10 %, karena apabila kandungan air lebih dari 10 %, maka akan mudah untuk ditumbuhi jamur dan mikroorganisme yang lain, sehingga sampel akan lebih cepat rusak dan tidak dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Kandungan air pada sampel kering batang Widuri(*Calotropis gigantea*) < 10 %, sehingga dapat dikatakan bahwa sampel kering batang Widuri(*Calotropis gigantea*) bisa disimpan dalam wadah yang tertutup untuk beberapa waktu.

4.3 Ekstraksi Batang Widurimenggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi maserasi ini adalah etanol 80 %. Etanol bersifat polar dan inert, sehingga diharapkan etanol mampu memecah sel dan menyari semua senyawa yang bersifat polar yang terdapat dalam sel batang Widuri, selain itu etanol bersifat inert, sehingga tidak mudah terjadi dekomposisi.

Ekstraksi dilakukan dengan cara menimbang sampel sebanyak 100 gram kemudian di bagi menjadi 2, masing-masing 50 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup, kemudian masing-masing erlenmeyer ditambahkan dengan 250 ml pelarut yaitu etanol 80 %, kemudian dishaker dengan kecepatan 120 rpm selama 3 jam, pengocokan dilakukan dengan tujuan untuk mempercepat proses reaksi antara sampel dengan pelarut, sehingga senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel akan lebih cepat terikat pada pelarut, dan penggunaan shaker agar pengocokan dapat bersifat konstan. Selanjutnya sampel disimpan selama 24 jam, kemudian disaring dengan menggunakan corong buchner, agar proses penyaringan dapat dilakukan dengan cepat, proses ini dilakukan berulang-ulang hingga didapatkan filtrat yang berwarna bening. Perubahan warna terjadi

dari filtrat yang berwarna hijau pekat hingga berwarna hijau pucat setelah dilakukan pengulangan selama 4 hari, dimana warna pucat menunjukkan bahwa pengambilan ekstrak telah sempurna, dan tidak ada lagi yang terikat pada pelarut. Pada proses maserasi ini di dapatkan filtrat dari hasil maserasi sebanyak 2 liter.

Filtrat hasil maserasi di dipekatan dengan menggunakan *vacumrotary evaporator*, untuk memisahkan ekstrak batang widuri dengan pelarut etanol, sehingga di hasilkan ekstrak pekat. *Vacuum rotary evaporator* merupakan alat yang digunakan untuk mempercepat pemisahan pelarut dari campuran larutan. Prinsip kerja *vacum rotary evaporator* yaitu pada penurunan tekanan dalam labu alas bulat, sehingga pelarut akan menguap pada suhu yang lebih rendah dari pada titik didihnya.

Ekstrak pekat yang didapatkan dipindahkan ke gelas vial yang sebelumnya telah ditimbang posisi gelas vial kosong. Ekstrak pekat batang widuri berwarna hijau pekat. Ekstrak pekat yang didapat belum sepenuhnya terbebas dari pelarut. Untuk lebih memakatkannya lagi, dilakukan pengovenan ekstrak pekat pada suhu 37 °C dan ditimbang, perlakuan ini dilakukakan berulang-ulang, hingga diperoleh berat ekstrak pekat yang konstan, dan didapatkan ekstrak pekat batang widuri seberat 4,5523 gr.

4.4 Aktivitas Antimalaria Ekstrak Etanol Batang Widuri (*Calotropis gigantea*)

Uji aktivitas antimalaria ekstrak etanol batang Widuri bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol batang Widuri terhadap hewan yang telah diinfeksi dengan parasit terlebih dahulu. Parasit yang digunakan adalah parasit

dari genus plasmodium yaitu *Plasmodium berghei*, dan hewan coba yang digunakan adalah mencit *Mus musculus* jantan galur Balb/C.

Pemilihan *Plasmodium berghei* dikarenakan *Plasmodium berghei* merupakan salah satu spesies malaria yang menyerang mamalia selain manusia, sehingga tidak membahayakan peneliti. Dasar biologi *Plasmodium* yang menyerang rodensia sama dengan *Plasmodium* yang menyerang manusia, seperti siklus hidup maupun morfologinya (Tambayong, 2004)

Hewan uji yang digunakan adalah mencit *Mus musculus* jantan. Penggunaan hewan uji mencit dikarenakan menurut Sundari, dkk (1997) salah satu keunggulan hewan pengerat dapat dijadikan model penelitian adalah terdapat kesamaan karakteristik antara parasit pada manusia dan pada hewan pengerat dalam hal dasar molekuler sensitivitas dan resistensi obat. Mencit Balb/C dipilih karena menurut Jerry (2006) mencit Balb/C rentan terhadap infeksi *Plasmodium berghei* dan memiliki kemampuan bertahan hidup lebih dari 14 hari setelah diinfeksi *Plasmodium berghei*, sehingga untuk mempelajari cerebral dari parasit *Plasmodium berghei* menggunakan mencit Balb/C adalah yang paling sesuai. Tuhi (2006) menyatakan alasan penggunaan mencit jantan karena kondisi biologisnya stabil dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi masa siklus estrus.

Pada penelitian ini digunakan 6 kelompok perlakuan, antara lain : kontrol negatif, kontrol positif, non infeksi, Widuri 1, Widuri 2, dan Widuri 3. Kelompok kontrol positif merupakan kelompok infeksi yang diberikan obat yaitu klorokuin dengan dosis 5,71 mg/kg bb sekali sehari per oral, kelompok kontrol negatif merupakan kelompok infeksi yang hanya diberikan 0,5 ml larutan CMC-Na 1%

sekali sehari per oral tanpa diberikan obat, dan kelompok non infeksi merupakan kelompok yang tidak diinfeksi dengan Plasmodium berghei dan diberikan 0,5 ml CMC-Na 1% sekali sehari per oral. Kelompok Widuri 1, 2, dan 3 merupakan kelompok yang diinfeksi dan diberikan ekstrak etanol batang Widuri dengan variasi dosis, yaitu kelompok Widuri 1 dengan dosis 0,1 mg/kg bb, kelompok Widuri 2 dengan dosis 1 mg/kg bb, dan kelompok Widuri 3 dengan dosis 10 mg/kg bb.

Pembuatan larutan dosis, diperlukan bahan tambahan untuk mempermudah saat memasukkan ekstrak ke dalam tubuh mencit, bahan yang digunakan adalah CMC-Na. Cara pembuatannya adalah dengan mencampurkan ekstrak yang akan diujikan dengan CMC-Na sesuai dengan dosis yang akan digunakan. Penggunaan CMC-Na karena CMC-Na merupakan zat yang mudah diremah oleh mencit, sehingga akan lebih mudah saat memasukkan ke dalam mulut mencit, dan juga CMC-Na tidak memiliki efek samping pada mencit yang akan mempengaruhi hasil data yang akan di dapat.

Proses infeksi malaria pada mencit dilakukan dengan menyuntikkan malaria melalui Intraperitoneal. Penyuntikkan dilakukan pada perut sebelah kanan garis tengah, jangan terlalu tinggi agar tidak mengenai hati dan kantung empedu kemih. Hewan dipegang di punggung supaya abdomen menjadi tegang. Pada saat penyuntikkan, posisi kepala lebih rendah dari pada abdomen. Suntikkan jarum membentuk sudut 10 derajat menembus kulit dan otot masuk ke dalam rongga peritoneal.

Perlakuan dilakukan dengan pemberian obat melalui jalur yang sama seperti pada manusia, yaitu dengan memasukkan obat melalui jalur oral. Memasukkan

obat melalui oral mencit membutuhkan alat yang terbuat dari suntikkan yang sebelumnya ujung jarum suntikkan telah diberikan mercik agar tidak melukai langit-langit mulut mencit. Dimasukkan jarum suntikkan ke dalam oral mencit melewati langit-langit hingga mencapai esofagus, dan disemprotkan dosis perlakuan ke dalam dengan cepat. Terapi dilakukan setiap hari selama masa pengamatan, yaitu mulai hari ke-0 sampai hari ke-3.

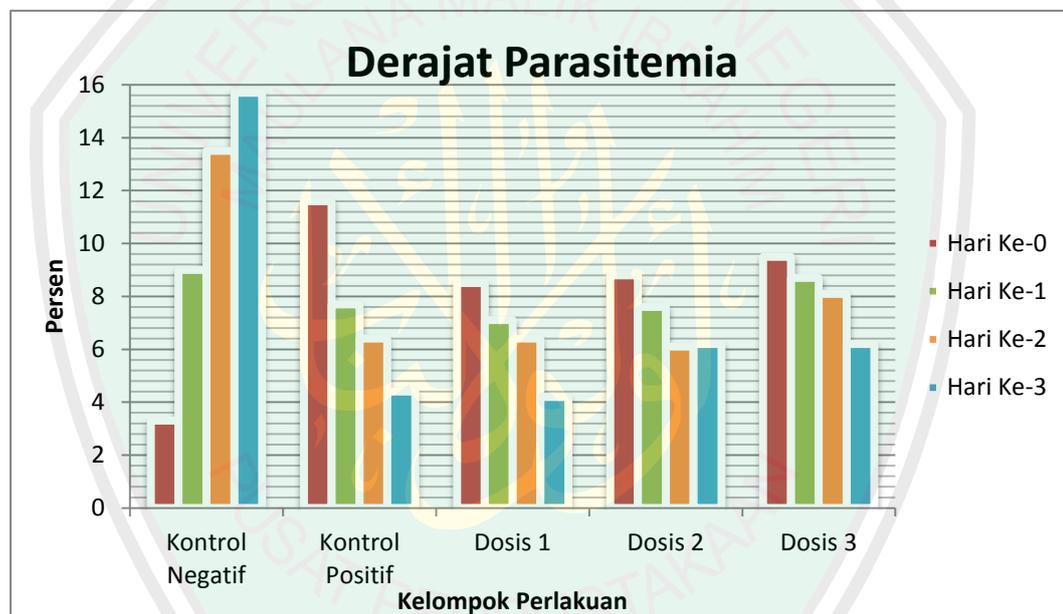
Menghitung derajat parasitemia dilakukan dengan membuat hapusan darah. Pembuatan hapusan darah yaitu dengan cara memotong ujung kecil ekor mencit, dan ditetaskan darah yang mengalir dari ekor mencit ke *object glass*. Tetesan darah mencit pada *object glass* ditipiskan dengan menggunakan tepi *object glass* yang lain dan ditunggu hingga darah kering. Langkah selanjutnya ditetesi darah pada *object glass* dengan metanol hingga merata dan ditunggu hingga kering. Setelah hapusan kering, kemudian dilakukan pewarnaan pada hapusan, yaitu dengan meneteskan pewarna giemsa pada hapusan hingga merata. Pewarna giemsa dibuat dari campuran antara giemsa fluka dan buffer giemsa dengan perbandingan 1 : 9. Setelah dilakukan pewarnaan pada hapusan, ditunggu selama 20 menit. Selanjutnya dibilas dengan air mengalir dan ditunggu hingga kering. Untuk mengetahui derajat parasitemia, dilakukan pengamatan hapusan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x dan dihitung berapakah jumlah eritrosit yang terinfeksi dari 1000 eritrosit. Persen derajat parasitemia adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi dalam 1000 eritrosit. Persen derajat parasitemia ditentukan dengan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi}}{1000 \text{ eritrosit}} \times 100\% \dots \dots \dots (4.1)$$

Untuk penghitungan persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{penghambatan} = \frac{(\text{parasitemia kontrol negatif} - \text{parasitemia obat ekstrak})}{\text{parasitemia kontrol negatif}} \times 100\% \dots \dots \dots (4.2)$$

Pengamatan derajat parasitemia dilakukan mulai hari ke-0 hingga hari ke-3. Pengamatan derajat parasitemia dilakukan bertujuan untuk mengetahui laju kenaikan atau penurunan jumlah eritrosit pada tubuh mencit yang terinfeksi oleh *Plasmodium berghei*.



Gambar 4.1 Grafik Derajat Parasitemia Ekstrak Etanol

Menurut Muti'ah (2010) mengatakan bahwa pemeriksaan parasitemia hari ke-0 bersifat untuk membuktikan semua mencit berada dalam range derajat parasitemia yang sama pada hari akan dilakukan pengobatan. Pada grafik di atas dapat dilihat bahwa derajat parasitemia pada hari ke-0 pada tiap perlakuan berbeda jauh, hal ini dikarenakan, data yang ada pada grafik adalah data rata-rata derajat parasitemia seluruh mencit pada masing-masing kelompok

perlakuan. Penentuan hari ke-0 ditentukan saat mencit sudah mencapai derajat parasitemia sebesar 5%. Setelah dilakukan infeksi pada mencit, dilakukan pengamatan derajat parasitemia pada mencit setiap hari, hingga derajat parasitemia mencit mencapai 5%. Pada penelitian ini, mencit yang dipilih untuk melihat parasitemia mencit sebelum hari ke-0 dipilih secara acak, pada saat derajat parasitemia mencit yang dipilih sudah mencapai 5%, maka pada hari itu, ditentukan sebagai hari ke-0 pengamatan. Maka dari itu pada saat perhitungan derajat parasitemia pada mencit-mencit yang lain, ada yang sudah melebihi 5% dan ada yang masih belum mencapai 5%. Rata-rata derajat parasitemia pada semua perlakuan sebesar 8,34 %.

Tabel 4.2 Derajat parasitemia dan penghambatan

No.	Perlakuan	Ulangan ke-	Pengamatan Parasitemia (%)			
			Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	
1.	Kontrol Negatif	1	10,5	18,6	19,8	
		2	8,4	12,9	14,9	
		3	6,7	12,8	13,5	
		4	6,1	8,7	12,1	
		5	17,3	21,8	26,4	
		6	4,7	5,9	7,4	
	Rata-rata			9,0	13,5	15,7
2.	Kontrol Positif	1	9,1	8,3	5,6	
		2	9,9	9,8	4,8	
		3	7,1	5,2	4,2	
		4	4,1	2,8	2,4	
		5	8,2	5,7	5	
	Rata-rata			7,7	6,4	18,6
	Penghambatan	1	-1,7	38,3	64,3	
		2	-10,6	27,1	69,4	
		3	20,7	61,3	73,2	
		4	54,2	79,2	84,7	
		5	8,4	57,6	68,1	
Rata-rata			14,2	52,7	71,9	
3.	Widuri 1	1	10,5	13,9	9,9	
		2	6,7	5,6	4	
		3	7	6,8	4,5	
		4	6,4	3,7	3,2	

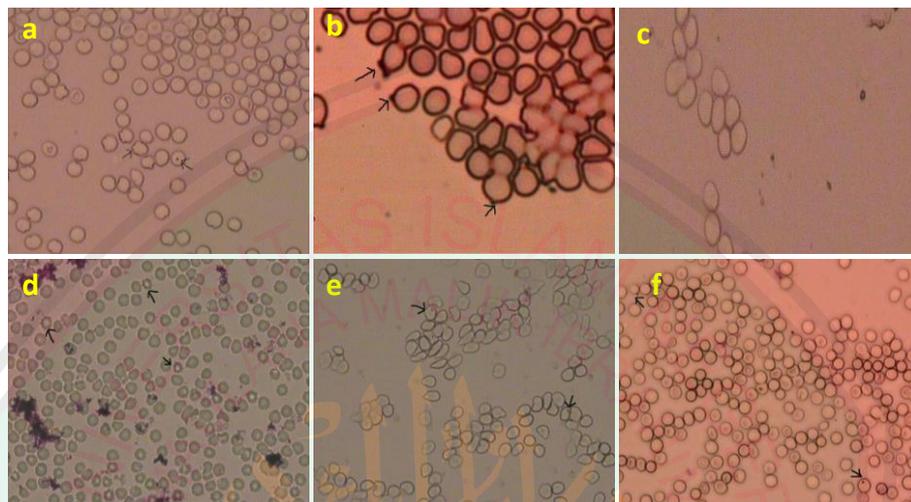
		5	5,1	3,6	3,1
		6	6,7	4,9	3,6
	Rata-rata		7,1	6,4	4,2
	Penghambatan	1	-17,3	-3,3	58,6
		2	25,1	58,4	74,5
		3	21,8	49,4	71,3
		4	28,5	72,5	79,6
		5	43	73,2	80,2
		6	25,1	63,6	77
	Rata-rata		21	52,3	73,5

Lanjutan Tabel 4.2 Derajat parasitemia dan penghambatan

4.	Widuri 2	1	9,8	8,8	10,8	
		2	5,9	3,8	4,1	
		3	7,4	7,4	6,4	
		4	5,7	2,3	2,2	
		5	6,8	5,9	4,2	
		6	9,7	8,1	9,2	
		Rata-rata		7,6	6,1	6,2
	Penghambatan	1	-9,5	34,6	31,1	
		2	34,1	71,7	73,9	
		3	17,3	45	59,2	
		4	36,3	82,9	86	
		5	24	56,1	73,2	
		6	-8,4	39,8	41,3	
	Rata-rata		15,6	55	60,8	
5.	Widuri 3	1	7,6	7,6	4,7	
		2	9,2	10	8,5	
		3	8,8	8,5	6,2	
		4	8,3	7,6	4,8	
		5	6,8	4,3	4,2	
		6	11,4	10,7	8,8	
		Rata-rata		8,7	8,1	6,2
	Penghambatan	1	15,1	43,5	70	
		2	-2,8	25,7	45,8	
		3	1,7	36,8	60,5	
		4	7,3	43,5	69,4	
		5	24	68	73,2	
		6	-27,4	20,4	31,8	
	Rata-rata		3,0	39,7	60,5	

Pada tabel dan grafik di atas dapat dilihat bahwa derajat parasitemia pada kontrol negatif semakin meningkat seiring bertambahnya hari, sedangkan pada kontrol positif dan dosis 1, 2, dan 3, nilai derajat parasitemianya semakin

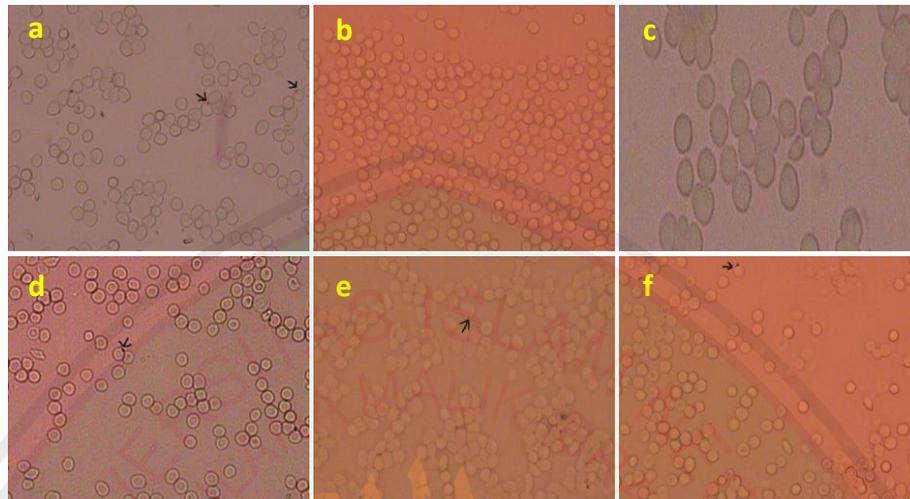
menurun seiring bertambahnya hari. Berikut ini adalah foto eritrosit yang terinfeksi pada hari ke-0 dan hari ke-3:



Gambar 4.2 Eritrosit Terinfeksi Hari Ke-0

Gambar a. Kontrol Negatif, b. Kontrol Positif, c. Non Infeksi, d. Dosis 0,1 mg/kg e. Dosis 1 mg/kg, dan f. Dosis 10 mg/kg

Pada gambar 4.2 dapat dilihat bahwa cukup banyak eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei*, kecuali pada gambar c, karena gambar c merupakan kelompok non infeksi, di mana kelompok non infeksi tidak diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. Tidak seperti gambar 4.2, pada gambar 4.3 di bawah ini menunjukkan bahwa eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* lebih sedikit, hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan aktivitas *Plasmodium berghei* pada sel darah merah mencit.



Gambar 4.3 Eritrosit Terinfeksi Hari Ke-3

Gambar a. Kontrol Negatif, b. Kontrol Positif, c. Non Infeksi, d. Dosis 0,1 mg/kg, b. Dosis 1 mg/kg, dan c. Dosis 10 mg/kg

Kenaikan derajat parasitemia pada kontrol negatif terjadi dari hari ke-0 sebesar 3,3 % dan terjadi kenaikan setiap hari yaitu pada hari ke-1 menjadi 9 %, hari ke-2 sebesar 13,5 % dan hari ke-3 sebesar 15,7 %. Peningkatan derajat parasitemia secara drastis pada kontrol negatif disebabkan oleh tidak diberikannya perlakuan obat hanya pemberian CMC-Na, dimana CMC-Na tidak memiliki pengaruh apapun pada penghambatan eritrosit, sehingga hanya antibodi tubuh mencit saja yang menghalangi perkembangan infeksi pada eritrosit mencit tanpa adanya bantuan obat. Pada perlakuan kontrol positif, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 terjadi penurunan derajat parasitemia, dari data tersebut dapat diketahui bahwa terdapat penurunan jumlah infeksi *Plasmodium berghei* pada eritrosit, sehingga terdapat pengaruh obat yang membantu penurunan derajat parasitemia pada eritrosit mencit. Pada kontrol positif terjadi penurunan mulai hari ke-0 yang

mempunyai derajat parasitemia sebesar 11,6% menurun hingga 7,7% pada hari ke-1 dan terjadi penurunan terus-menerus setiap hari yaitu pada hari ke-2 sebesar 6,4% dan hari ke-3 sebesar 4,4%. Kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang dilakukan infeksi *Plasmodium berghei* pada mencit dan dilakukan pemberian klorokuin pada mencit. Pada kelompok dosis 1, dosis 2 dan dosis 3, penghambatan paling baik terjadi pada dosis 1, Hal ini dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 4.3 Persen penghambatan pada Hari Ke-3

No.	Perlakuan	% Penghambatan
1.	Dosis 1	73,5
2.	Dosis 2	60,8
3.	Dosis 3	60,5

Dari tabel di atas, dapat diketahui bahwa % penghambatan paling besar terjadi pada dosis 1. Derajat parasitemia hari ke-0 pada dosis 1 yaitu sebesar 8,5% dan menurun pada hari ke-1 yaitu sebesar 7,1%, penurunan terus terjadi pada hari ke-2 menjadi sebesar 6,4% dan pada hari ke-3 yaitu sebesar 4,2%.

Penentuan dosis efektif 50% (ED_{50}) pada penelitian ini menggunakan probit % penghambatan pertumbuhan parasit selama 4 hari kemudian dilanjutkan dengan analisis regresi linier dengan program Microsoft Office Excel, dan dilakukan juga analisis probit dengan program Minitab. Alasan dipilihnya analisis probit karena hubungan respon terhadap dosis secara alami bersifat sigmoid (Vincent, 2008 dalam Husna, 2011). Dengan demikian kurva yang diperoleh antara hubungan respon dengan dosis merupakan kurva dosis-respon yang bersifat sigmoid. Hasil analisis dan perhitungan ED_{50} tersebut ada pada lampiran 6.

Persamaan linier yang didapat dengan memasukkan nilai penghambatan yang telah ditranformasikan dalam bentuk probit pada Microsoft Excel mendapatkan persamaan linier $Y = -0,185X + 5,406$ dengan nilai R^2 sebesar 0,83, dimana R^2 merupakan koefisien determinasi log dosis terhadap Probit penghambatan pertumbuhan parasit.

Penentuan ED_{50} dilakukan dengan menggunakan data statistik dengan metode analisa Probit, dan hasil perhitungan ED_{50} yang didapat dari hasil perhitungan dengan menggunakan analisa Probit pada SPSS yaitu 152.878 mg/kg bb

Menurut Munoz, *et al.* (2000) aktivitas antiplasmodium *in vivo* (penghambatan *P. berghei*) dilihat dari nilai ED_{50} . Nilai ED_{50} ini dikelompokkan menjadi sangat baik bila $ED_{50} \leq 100$ mg/kgbb/hari, baik bila ED_{50} 101-250 mg/kgbb/hari, sedang bila ED_{50} 251-500 mg/kgbb/hari, dan tidak aktif jika > 500 mg/kgbb/hari.

Efek penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* juga dapat diketahui dari hasil analisis statistik derajat parasitemia menggunakan program Minitab 16 dengan uji *Twoway* ANOVA digunakan untuk mengetahui signifikansi rata-rata derajat parasitemia perlakuan terhadap kontrol, selanjutnya untuk mengetahui signifikansi perbedaan tiap-tiap kelompok perlakuan dilakukan uji Tukey.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata derajat parasitemia antar perlakuan pada masing-masing hari, digunakan uji perbandingan berganda Tukey seperti yang disajikan pada lampiran 6.

Berdasarkan data yang telah didapat dengan analisa *Twoway* Anova, didapatkan *p-value* sebesar 0,206. Dilihat dari *p-value* maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan pada nilai penghambatan pada tiap kelompok

perlakuan. Dan pada uji Tukey didapati bahwa pada perbandingan dosis, tidak ada dosis yang memiliki beda nyata dengan dosis lainnya, dan begitu juga dengan perlakuan hari. Kesimpulan yang dapat diambil adalah semakin tinggi dosis dan semakin lama perlakuan tidak ada pengaruh nyata yang didapat.

4.5 Uji Fitokimia dengan Uji Warna menggunakan Reagen Pereaksi

Uji fitokimia merupakan suatu uji kualitatif kandungan senyawa aktif dalam sampel, sehingga dapat diketahui kandungan senyawa aktif apa saja yang terdapat dalam sampel yang diujikan. Uji fitokimia dalam penelitian ini dilakukan pada ekstrak etanol 80% batang Widuri (*Calotropis gigantea*) yang direaksikan dengan reagen pereaksi. Uji fitokimia ekstrak etanol 80% batang Widuri dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid.

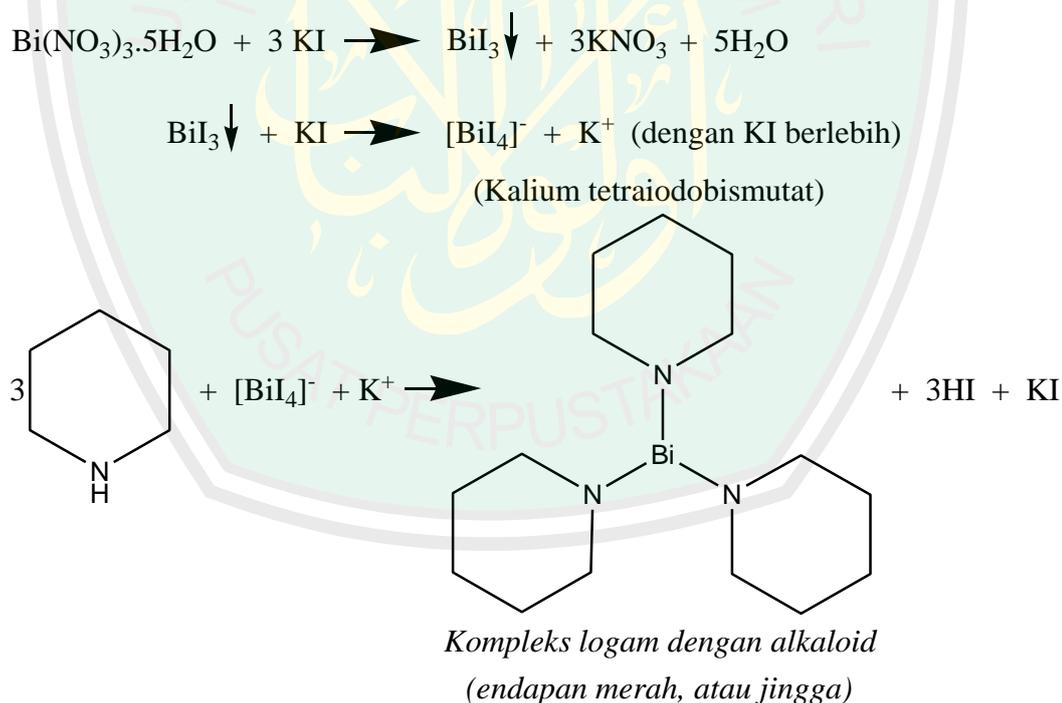
Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 80% batang Widuri diketahui bahwa terkandung golongan senyawa alkaloid dan triterpenoid dalam ekstrak etanol 80% batang Widuri.

1. Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan memasukkan sedikit ekstrak batang Widuri ke dalam tabung, selanjutnya ditambahkan HCl ke dalam tabung yang telah berisi ekstrak batang Widuri. Penambahan HCl ke dalam tabung bertujuan untuk mengekstrak alkaloid, karena alkaloid bersifat basa, sehingga ekstraksi dilakukan dengan pelarut yang bersifat asam. Ekstrak yang telah ditambahkan dengan HCl di bagi menjadi 3 tabung, tabung pertama diisi dengan asam encer, penambahan asam encer dilakukan sebagai pembanding terhadap tabung yang diisi dengan reagen dragendorff dan reagen meyer. Bukti kualitatif terkandung alkaloid dalam

ekstrak dilakukan dengan menambahkan reagen dragendorff di tabung kedua dan reagen meyer pada tabung ketiga.

Uji alkaloid ekstrak etanol batang Widuri menunjukkan bahwa tidak terdapat alkaloid dalam ekstrak etanol batang Widuri, hal ini dapat diketahui dari tidak dihasilkannya endapan berwarna jingga pada tabung yang ditambahkan dengan reagen dragendorff. Djoronga, dkk (2014) mengatakan bahwa adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih setelah ditambahkan dengan reagen mayer dan jingga setelah ditambahkan dengan dragendorff, dan terbentuk endapan jingga setelah ditambahkan dengan reagen dragendorff. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid adalah sebagaimana reaksi berikut:



Gambar 4.4 Reaksi Alkaloid dengan Reagen Dragendorff (Hidayati, 2009)

2. Flavonoid

Uji Flavonoid dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak batang Widuri sebanyak 500 μL dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi, kemudian di tambahkan dengan 1 - 2 ml metanol 50% panas, kemudian di tambahkan dengan logam Mg dan HCl pekat. Penambahan HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan dengan H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa, dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Robinson, 1985).

Data yang didapat setelah melakukan pengujian metabolit sekunder flavonoid pada batang Widuri, menghasilkan data bahwa tidak terdapat kandungan flavonoid pada batang Widuri, hal ini dapat diketahui dari hasil pengujian flavonoid pada ekstrak batang Widuri yang tidak menghasilkan warna merah atau jingga. Septyaningsih (2010) menjelaskan bahwa jika dalam ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga.

3. Tanin

Uji tannin dilakukan dengan memasukkan ekstrak batang Widuri sebanyak 500 μL dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi, dan kemudian dilarutkan ke dalam 1 -2 ml air, kemudian ditambahkan FeCl_3 2 tetes, karena dengan penambahan FeCl_3 apabila terdapat senyawa golongan tannin akan terjadi perubahan warna larutan menjadi hijau, atau biru kehijauan. Terjadinya pembentukan warna ini disebabkan karena terbentuknya senyawa kompleks antara

logam Fe dan tannin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion/atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007).

Data yang didapat setelah melakukan pengujian metabolit sekunder tannin pada batang Widuri, menunjukkan bahwa tidak terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder tanin dalam Widuri. Hal ini dapat diketahui dari tidak terbentuknya warna hijau atau biru kehijauan setelah dilakukan langkah pengujian tanin pada ekstrak batang Widuri. Hasil pengujian tanin pada ekstrak batang Widuri menghasilkan warna jingga kemerahan.

4. Saponin

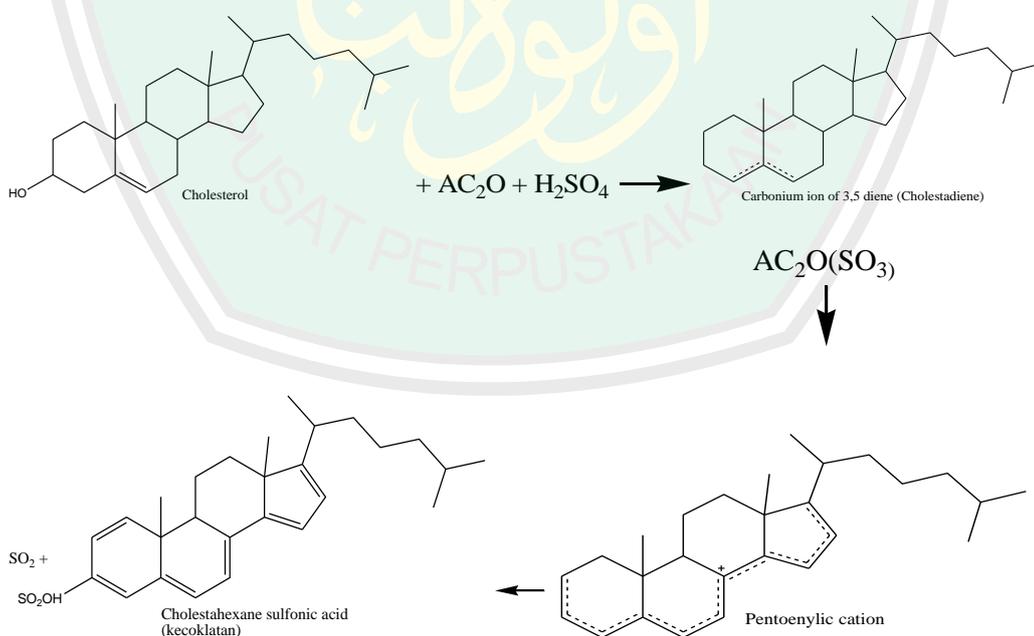
Uji saponin dilakukan dengan diambil 500 μ L ekstrak batang Widuri 10000 ppm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml aquades ke dalam tabung reaksi dan dikocok selama 1 menit, jika menimbulkan busa ditambahkan dengan 2 tetes HCl 1 N. Apabila terdapat busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya senyawa golongan saponin dalam sampel. Busa yang timbul disebabkan karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin non-polar dan rantai samping polar yang larut dalam air (Kristianingsih, 2002). Hasil pengujian saponin pada ekstrak batang Widuri menunjukkan bahwa tidak terdapat kandungan senyawa saponin pada ekstrak batang Widuri karena tidak menghasilkan busa.

5. Triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan dengan dimasukkan ekstrak batang Widuri sebanyak 500 μ L dengan konsentrasi 10000 ppm ke dalam tabung reaksi. Kemudian dilarutkan ke dalam 0,5 mL kloroform, penambahan kloroform dilakukan untuk melarutkan senyawa triterpenoid, karena triterpenoid larut dalam

kloroform dan tidak mengandung air. Langkah selanjutnya ditambahkan dengan asam asetat anhidrat, penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil setelah di dalam kloroform. Jika dalam larutan uji terdapat molekul air maka asam asetat anhidrat akan berubah menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan dan turunan asetil tidak akan terbentuk. Langkah selanjutnya ditetesi campuran dengan 1 – 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung reaksi.

Hasil dari pengujian ekstrak batang Widuri, menunjukkan bahwa terdapat kandungan triterpenoid dalam ekstrak batang Widuri, hal ini diketahui dari terbentuknya cincin coklat pada ekstrak batang Widuri setelah dilakukan pengujian. Indrayani dkk, (2006) mengatakan bahwa hasil positif kandungan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut.



Gambar 4.5 Reaksi dugaan antara senyawa triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard (Burkey, dkk. 1974).

4.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan senyawa aktif ekstrak etanol batang Widuri dilakukan dengan metode KLT (kromatografi lapis tipis). KLT merupakan teknik pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi di antara dua fasa, yaitu fasa diam dan fasa gerak. Pemisahan senyawa aktif dengan metode KLT ini dilakukan pada triterpenoid karena pada uji fitokimia yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang Widuri positif mengandung triterpenoid. KLT analitik ini bertujuan untuk mencari eluen/fasa gerak terbaik dari beberapa kombinasi eluen yang telah pernah digunakan untuk melakukan pemisahan triterpenoid dari penelitian-penelitian sebelumnya. Pemisahan yang dilakukan kali ini menggunakan fase diam yaitu plat silika gel F_{254} dan menggunakan beberapa eluen antara lain: n-heksan : etil asetat (2 : 8), benzena : kloroform (3 : 7), n-heksan : etil asetat (1 : 1), n-heksan : etil asetat (7 : 3).

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pemisahan senyawa aktif dengan metode KLT dilakukan dengan menotolkan larutan cuplikan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Setelah dilakukan penotolan, ditunggu hasil totolan hingga kering dan dilakukan dalam bejana yang telah diisi dengan masing-masing eluen yang telah ditetapkan sebelumnya secara vertikal dan dibiarkan sampai eluen naik hingga terjadi pemisahan (Sastrohamidjojo, 2007). Senyawa-senyawa yang terkandung dalam sampel akan terpisah dan bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan kepolaran tingkat kepolaran yang dimilikinya. Senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang mendekati tingkat

kepolaran eluen dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dengan fase diam akan lebih dahulu terpisahkan dan mempunyai nilai Rf yang lebih tinggi. Sedangkan, senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dengan tingkat kepolaran eluen akan lebih terikat pada fase diam sehingga mempunyai nilai Rf yang lebih rendah. Proses elusi dihentikan ketika eluen telah mencapai batas atas, yaitu jarak 1 cm dari ujung atas plat. Pada proses ini akan meninggalkan noda pada plat, kemudian noda-noda hasil pemisahan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Laras (2009) dalam Zamrodi (2011) mengatakan bahwa sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm digunakan untuk menampakkan solute sebagai bercak gelap. Sedangkan sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm digunakan untuk menampakkan bercak yang berfluoresensi sehingga pada pengamatan terlihat bercak yang memancarkan cahaya.

Hasil pemisahan senyawa triterpenoid menunjukkan bahwa eluen benzena : kloroform (3 : 7) mampu menghasilkan pemisahan terbaik dibandingkan dengan eluen yang lain, hal ini terlihat dari jumlah noda yang dihasilkan yang lebih banyak daripada eluen lainnya, yaitu 12 noda. Eluen yang baik merupakan eluen yang mampu memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda-noda yang tidak berekordan jarak antara noda satu dengan lainnya jelas (Harborne, 1987),

Tabel 4.4 Hasil pengujian KLT Ekstrak Etanol 80% Batang Widuri (*Calotropis gigantea* Eluen benzene : kloroform (3 : 7)

Rf Tiap Noda	Sebelum Disemprot Reagen	Sesudah Disemprot Reagen	Senyawa Dugaan
0,04	Jingga	Kuning	
0,06	Kuning	Kuning	
0,14	Merah Muda	Ungu	Triterpenoid
0,21	Merah Muda	Ungu	Triterpenoid
0,29	Merah Muda	Ungu	Triterpenoid
0,35	Tidak Terlihat	Hijau	
0,41	Merah Muda	Ungu	Triterpenoid
0,48	Hijau	Merah Muda	
0,80	Merah Muda	Hijau	
0,84	Merah	Merah	Triterpenoid
0,88	Tidak Terlihat	Hijau	
0,91	Hijau Kebiruan	Kuning	

Dari data di atas dapat diketahui eluen benzene : kloroform (3 : 7) menghasilkan noda yang cukup banyak yaitu 12 noda, dan dari 12 noda tersebut, hanya 5 noda yang diasumsikan sebagai noda triterpenoid. Menurut Rita (2010) golongan senyawa triterpenoid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna merah ungu dan ungu. Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa pada penggunaan eluen benzene : kloroform (3 : 7) noda 3, 4, 5, 7, berwarna ungu dengan nilai Rf 0,14; 0,21; 0,29; 0,41 dan noda 10 menunjukkan terbentuknya warna merah dengan nilai Rf 0,84. Berdasarkan warna noda yang didapat tersebut, diasumsikan pada ekstrak etanol terdapat senyawa triterpenoid. Eluen benzene : kloroform (3 : 7) merupakan eluen semi polar, sehingga dapat diasumsikan bahwa senyawa triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak etanol batang Widuri bersifat semi polar juga.

4.7 Pemanfaatan Tanaman Obat dalam Perspektif Islam

Allah SWT dalam ayat Al-Qur'an Surat Al-Luqman Ayat 10 yang berbunyi:

مَاءٍ مِنْ وَأَنْزَلْنَا دَابَّةً كُلِّ مِنْ فِيهَا وَنَتَّبِعُكُمْ تَمِيمًا أَنْ رَوَّاسِي الْأَرْضِ فِي وَالْقَى تَرَوْنَهَا عَمَدٍ بَغَيْرِ السَّمَوَاتِ خَلَقَ
 ﴿١٠﴾ كَرِيمٍ زَوْجٍ كُلِّ مِنْ فِيهَا فَأَنْبَتْنَا مَاءً السَّمِ

Artinya :

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”

Menurut Ghoffar, dkk (2004) ayat di atas menjelaskan tentang kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan langit dan bumi serta segala isinya. Ketika Allah telah menetapkan bahwa Dia adalah Maha Pencipta, maka Dia pun mengingatkan bahwa Dia adalah Maha Pemberi rizki, yaitu segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Semua tumbuhan memiliki banyak sekali manfaat bagi manusia. Ada sebagian tumbuhan yang telah diketahui manfaatnya, dan ada sebagian yang lain yang belum diketahui manfaatnya. Salah satu contoh manfaat tumbuhan bagi manusia adalah dalam bidang farmakologi. Mahran dan Mubasyir (2004) mengatakan bahwa bahkan tumbuhan liar pun memiliki potensi dalam bidang farmakologi. Maka manusia dengan kelebihan akal yang dimiliki harus berfikir dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang telah diciptakan oleh Allah SWT, contohnya memanfaatkan tanaman Widuri dalam hal penggunaan dalam bidang antimalaria.

Tanaman Widuri merupakan tanaman liar yang cukup banyak tumbuh di sekitar kita. Tanaman Widuri ini juga mempunyai potensi sebagai antimalaria. Hal ini ditunjukkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Fiisyatirodiyah (2014) yang menunjukkan bahwa daun Widuri mempunyai efektivitas sangat baik dalam penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit secara *in vivo* dengan nilai ED₅₀ sebesar 4,26 mg/kg BB, selain itu Widuri juga mempunyai manfaat sebagai peluruh kencing (diuretik), dan perangsang muntah (emetik). Dari hasil penelitian yang telah peneliti lakukan menunjukkan bahwa batang Widuri mempunyai efektivitas yang termasuk dalam kategori baik dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *in vivo* yaitu dengan nilai ED₅₀ 152,878 mg/k BB. Potensi tumbuh-tumbuhan ini dapat digunakan sebagai acuan bahwa Widuri mempunyai potensi sebagai antimalaria, meskipun dalam Al-Qur'an atau Hadits tidak disebutkan bahwa Widuri mempunyai potensi sebagai antimalaria. Pemanfaatan tanaman Widuri sebagai obat merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran bahwa di mana Allah menurunkan penyakit, pasti Allah menurunkan obatnya pula.

Nabi Muhammad SAW pernah bersabda:

إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالذَّوَاءَ وَجَعَلَ لَكُمْ دَاءً وَدَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَتَدَاوَوْا بِالْحَرَامِ (رواه ابو هريرة)

Artinya:

“Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obat. Dan menjadikan untuk kamu bahwa setiap penyakit ada obatnya. Oleh karena itu berobatlah. Akan tetapi jangan berobat dengan yang haram” (H.R. Abu Hurairah).

Hadits shahih tersebut memerintahkan umat islam untuk menggunakan obat dan upaya-upaya itu tidak bertentangan dengan kodrat ketergantungan manusia (tawakal) kepada Allah. Meninggalkan penggunaan obat-obatan bertentangan dengan sifat tawakal kita kepada Allah, serta bertentangan dengan perintah dan kebijakan-Nya. Hadits shahih tersebut menentang orang yang tidak berupaya mencari obat (Jauziyah, 2004). Farooqi (2005) mengatakan bahwa Hadits tersebut mengandung makna bahwa pada dasarnya setiap penyakit yang diturunkan oleh Allah SWT sudah tentu ada obatnya, baik itu penyakit fisik, atau penyakit non fisik, dan kita diperintahkan untuk berobat dengan segala sesuatu yang dapat menyembuhkan asalkan bukan berasal dari sesuatu yang haram. Rasulullah SAW menegaskan pentingnya penggunaan obat, sehingga suri tauladan Rasulullah ini perlu diteladani oleh umat-umatnya

BAB V

PENUTUP

1.1 Kesimpulan

- a. Hasil identifikasi ekstrak etanol 80% batang Widuri(*Calotropis gigantea*) menunjukkan adanya golongan senyawa triterpenoid.
- b. Pada uji efektivitas antimalaria ekstrak etanol 80% batang Widuri(*Calotropis gigantea*) didapatkan hasil ED₅₀ sebesar 152,878 mg/kg. Berdasarkan rentang nilai efektivitas antimalaria, potensi tersebut dikategorikan baik.
- c. Hasil uji KLT pada ekstrak batang Widuri diketahui bahwa penggunaan eluen benzena : kloroform dengan perbandingan 3 : 7 merupakan eluen terbaik untuk pemisahan triterpenoid dari ekstrak batang widuri yang menghasilkan 5 spot triterpenoid.

1.2 Saran

- a. Pemisahan senyawa triterpenoid dilakukan dengan menggunakan metode yang lain dan identifikasi lebih lanjut dengan menggunakan spektrofotometer yang lain pula
- b. Pengujian Ekstrak Etanol 80% dan hasil pemisahannya secara *in vitro* terhadap parasit *Plasmodium falciparum* sebagai data pembanding pengujian dengan metode *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abednego, H.M. dan Suroso. 1988. *Mosquito-Borne Disease Status and Control in Indonesia. National Seminar on Mosquito-Borne Disease by Molecular Approach*. Yogyakarta: Pusat Kedokteran Tropis
- Achmad, dkk., 2009. *Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*. Bandung: ITB Press
- Ahmed, M.K.K, Rana A.C, Dixit V.K. 2005. Calotropis species (Asclepiadaceae) – A Compherensif Review. *Pharmacognosy Magazine* vol 1, Issue 2.
- Anggonowati, K. 2008. *Efek Terapi Kombinasi Klorokuin dan Tromboles Terhadap Gambaran Histologi Limpa Mencit (Mus musculus) yang Diinfeksi Plasmodium berghei*. Skripsi tidak diterbitkan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Anwar, C. 1994. *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Jogjakarta: FMIPA UGM
- Arifin, A.S. 1986. *Materi Pokok Kimia Organik*. Jogjakarta: FMIPA UGM
- Aryanti, Eamaynti, T.M., Prinadi, K.I., dan Dewi, R.M.. 2006. *Uji Daya Antimalaria Artemisia spp. Terhadap Plasmodium falciparum*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(2), 81-84
- Arsyad, M. N. 2001. *Kamus Kimia, Penjelasan Ilmiah dan Arti*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Arulmozhi, S., Mazunder, P.M., Purnina, A., Nuriyaman, L. S. 2007. *Pharmacological Activities of Alstonia scholaris Linn (Apocynaceae) A Review*. *Pharmacological Review*, 1: 78-81
- Barus, T., Lenny, S., Sitopu, E.Y., 2010. *Isolasi Senyawa Alkaloid Daun Sidaguri (Sida rhombiia L)*. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Bogoriani, N. W., Santi, S.R., dan Asih, I.A.R.A., 2007. *Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Daun Andong (Cordyline terminalis Kunth.)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. *Jurnal Kimia* 1 (1). ISSN 1907-9805: 1-6
- Burkey, R.W., Diamondstone, R.A., Velapoidi and Menis, O. 1974. *Mechanisms of the Lieberman-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol*. *Clinical Chemistry*. Washington, D.C. Vol. 20 No. 7
- Chobchuenchum, W., Moungrnoi, S., Inthon, D. 2004. *Preliminary Screening of Some Thai Indigenous Plants for Extract Against Pomacea canaliculata*. *South Asian Journal of Microbial Biotech & Erci.Sc.* 2004; 6:1-6

- Cholis, I.N. 2009. *Aktivitas Antiplasmodium Fraksi Sempolar Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (Curucuma mangga val.) Terhadap Plasmodium berghei Secara In Vivo*. Skripsi Diterbitkan Surakarta: Fakultas Farmasi UNMUH
- Coutrier, F. 2009. *Propagasi Malaria In Vivo Penggunaan Hewan Coba dalam Penelitian Malaria*. Jakarta: Pelatihan Propagasi Malaria-Lembaga Biologi Molekul Eijkman
- Deni, 2007. *Pemanfaatan Tannin sebagai Perekat*. *Jurnal Penelitian*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor
- Dilla. 2010. *Menjual Mencit Putih*. <http://www.whitedifarimouse.blogspot.com/2010/04/menjual-mencit-putih.html>. diakses pada 25 November 2013
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang Kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta.
- Djoronga, M.I., Pandiangan, D., Kandou, F.E.B., Tangapo, A.M., 2014. *Penapisan Alkaloid pada Tumbuhan Paku dari Halmahera Utara*. *Jurnal MIPA Unsrat Online* 3 (2) 102-107
- Effendy. 2007. *Prespektif Baru Senyawa Koordinasi Jilid 1*. Malang: Bayumedia Publishing
- Ekasari, W., Widyawaruyanti, A dan Hafid.A.F. 2005. *Uji Antimalaria Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Daun Siamea pada Mencit Terinfeksi Plasmodium berghei*. *Laporan Penelitian*. Tidak diterbitkan. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airangga
- Ellizar, dan Ma'ruf, Y. 2009. *Isolasi Flavonoid dan Uji Bio Aktivitas dari Terung Pirus (Cyphomandra betacea (Cav.) Sendtn)*. *Jurnal SAINSTEK* vol. XII Nomor 1
- Farmakologi FKUI. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi Keempat (dengan Perbaikan)*. Sulistia G. Ganiswarna (Ed.). Jakarta: Gaya Baru
- Farooqi, M.I.H. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam; Manfaat Tumbuhan Menurut Al-Qur'an dan Sunnah Nabi*. Diterjemahkan oleh Ahmad, Y.S. Jakarta: Penerbit Hikmah (PT. Mizan Publika).
- Felicia. 2009. *Efek Neuroterapi Ekstrak Akar Acalypha indica L. terhadap Katak Bufo Dosis 20mg dan 25mg*. Skripsi Diterbitkan. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

- Fitrya., Lenny, A., dan Sari, F. 2009. *Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas. Jurnal Penelitian Sains Volume 12 Nomor 3 (C) 12305.* Sumatera Selatan:Jurusan FMIPA Universitas Sriwijaya.
- Gandjar, I.B., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Yogyakarta:Pustaka Pelajar
- Ghoffar, E.M., Mu'thi, A., Al-Atsari, A.L. 2004.*Terjemah Tafsir Ibnu Katsir.* Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Gritter, R.J. 1991.*Pengantar Kromatografi, Edisis Kedua.*Diterjemahkan oleh Koasasih Padmawinata. Bandung:ITB
- Guenther, E. 1987.*Minyak Atsiri. Jilid I.* Diterjemahkan oleh Ketaren, S. Jakarta:Universitas Jakarta
- Halimah, N. 2010.*Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn) Terhadap Larva Udang (Artemia salina Leach).*Skripsi Tidak Diterbitkan Malang:Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Harborne, J. B. 1987.*Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.*Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung:Penerbit ITB
- Hariana, A. 2006.*Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3.*Jakarta:Penerbit Swadaya
- Harijanto, P. N. 2007. *Malaria: Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganan.* Jakarta:EGC
- Hayati, E.K., Fasyah, A.G., dan Sa'adah L. 2010. *Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*Jurnal Kimia, 4 (2): 193-200
- Hayati, E.K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. *Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica L.)* Molekul, Vol. 7. No. 1.Mei, 2012:20 – 32.
- Hendayana, S.2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern.*Bandung:PT. Remaja Rosdakarya
- Hidayati, N., 2009. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun The (Camellia sinensis L, v. assamica) Tua Hasil Ekstraksi Menggunakan Pelarut Akuades dan Etanol.* Skripsi Diterbitkan:Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Husna, A.N., 2011. *Identifikasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) dan Uji Aktivitas Antimalaria In Vivo pada Hewan Uji.* Skripsi Diterbitkan: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang

- Inayah, F. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Tanaman Aning-Aning (Acalypha indica Linn.)*. Skripsi Diterbitkan:Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Indrayani. L., Soetjipto, H., Sihasale, L. 2006. *Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis L. vahl) terhadap Larva Udang Artemia Salina leach*. Salatiga: Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS) No. 568121. http://nis.gsmfc.org/-nis_factsheet.php?toc_id=154. Diakses pada 15 Juli 2013.
- Jaya, A.M. 2010. *Isolasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin dari Akar Putri Malu (Minosa pudica)*.Skripsi Diterbitkan. Malang:Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Jayashankar, M., Arumugasami, S., Saraswathy, H., Vijayalakshmi, K. 2002.*Plant In Pest Control*. Chemai:Centre for Indian Knowledge System
- Jerry, H., 2006. *Pengaruh Pemberian Minyak Pandanus conoideus terhadap Gambaran Histologi Hepar pada Mencit Swiss yang Diinfeksi Plasmodium berghei* ANKA.Thesis.Faculty of Medicine: UNDIP
- Jimmy, Miharty, dan Herdini. 2002. *Gallokatekin:Senyawa Flavonoid Lainnya dari Kulit Batang Remgas (Gluta renghas Linn.)*. *Jurnal Natur Indonesia 4 (1) Tahun 2002 ISSN 1410-9379*.Riau:Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Riau
- Kalaivani, R., Thangmani, P., dan Balakrishnan V., 2013. *Antibacterial and Phytochemical Analysis of Stem and Root Extract of Calotropis gigantea Against Selected Pathogens*.ISSN 2348-6236. Malaya Journal of Biosciences
- Karnizan, Irham, 2015. *Biduri (Calotropis gigantean Wild)*.<http://tengkutya.pun.bz/biduri-calotropis-gigantea-wild.xhtml>.di akses pada 16 Juli 2015
- Kartasapoetra, G. 2004. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta:Rineka Cipta
- Khairunnisak. 2013. *Efektifitas Antimalaria dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol 80% Daun Bunga Matahari (Heliantus annus)Pada Mencit Terinfeksi Plasmodium berghei*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang:Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Kholifah, Nur. 2008. *Pengaruh Ekstrak Kasar Senyawa Alkaloid dari Daun Dewa (Gynura pseudo-china (L.)DC.) Terhadap Aktivitas Enzim Lipase*. Skripsi Diterbitka. Malang:Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang

- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press
- Kristianingsih. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Akar Tanaman Kedondong Laut (Polyscias fruticosa)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya
- Kusrini, D., Titis, M., dan Fachriyah, E. 2013. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis)*. Chem Info Vol 1, No 1, 196 – 201
- Kusumawati, I., Widyawaruyanti, A., dan Kusumawardhani, D., 2008. *Uji Antimalaria In Vivo Ekstrak Sambiloto Tersandar (Parameter Kadar Andrografolida) pada Mencit*
- Lenny, S. 2006. *Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Bhrine Shrimp*. Medan: USU
- Lhinhatrakool, T. and Suthivaiyakit, S. 2006. *19-Nor-and18,20-Epoxy-cardenolides from the Leaves of Calotropis gigantean*. J. Natural Product, 69(8), 1249-1251
- Lutfillah, M. 2008. *Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (Spathoda campanulata Beauv) serta Uji Aktifitasnya sebagai Antibakteri secara In Vivo*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya
- Manjang, Y. 2004. *Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Pelestarian dan Perkembangan Melalui Tanah Agrowisata, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang Kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Biofarmasi 3 (1): 26 – 31
- Milhous, W.K. and Kyle, D.F. 1998. *Introduction The Modes of Action of and Mechanism of Resistance to Antimalarias*. In Irwin W. Sherman. *Malaria: Parasite Biology, Pathogenesis and protection*. Washington D.C.: ASM Press
- Milyasari, C. 2010. *Isolasi Senyawa Antibakteri Staphylococcus aureus dan E. Coli dari Ekstrak Buah Blimbing Wuluh (Averrhoa blimbi. L)*. Skripsi Diterbitkan: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang

- Mubasyir, A., 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Aeromonas hydrophilla*. Skripsi. Tidak diterbitkan. UIN Malang.
- Mudi, S.Y., and Bukar, A. 2011. *Anti-plasmodia Activity of Leaf Extract of Calotropis procera Linn.* Departement of Pure and Industrial Chemistry Bayero University and Departement of Biological Science Bayero University: Kano, Nigeria.
- Munoz, V., et al. 2000. *A Search for Natural Bioactive Compounds in Bolivia through a Multidisciplinary Approach Part III. Evaluation of the Antimalarial Activity of Plants Used by Alenos Indians.* Journal of Ethnopharmacology 71 (2000) 123-131
- Muti'ah, R. 2010. *Aktivitas Antimalaria Ekstrak Batang Talikuning (Anamirta cocculus) dan Kombinasinya dengan Artemisin pada Mencit yang diinfeksi Plasmodium berghei.* Tesis. Tidak diterbitkan. Malang: Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brwaijaya
- Nadia, 2010. *Aktivitas Antimalaria Secara In Vivo dari Senyawa Triterpenoid Ekstrak Diklorometan Tanaman Ating-Ating (Acalypha indica Linn) dan Identifikasinya Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan IR.* Skripsi. Tidak diterbitkan. Malang. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- NIH (National Institute of Health). 2000. *Plasmodium berghei.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/malaria/rodent/berghei.html>. diakses pada 15 Juli 2013
- Nugroho, A., 2000. *Siklus Hidup Plasmodium Malaria.* Jakarta: EGC Press
- Nuraini, F. 2002. *Isolasi dan Identifikasi Tanaman dari Daun Gamal (Gliricidia seium (jackquin) Kunth ex Walp.* Skripsi. Tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya
- Oswari, E., 2003. *Penyakit dan Penanggulangannya.* Cetakan V. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Pasya, A. F. 2004. *Dimensi Sains Al-Qur'an Menggali Ilmu Pengetahuan dari Al-Qur'an.* Solo: Tiga Serangkai
- Redaksi Agromedia. 2008. *Buku Pintar Tanamana Obat, 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit.* Jakarta: PT. Agromedia Pustaka
- Rita, W. S., 2010. *Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe).* Bukit Jimbaran: FMIPA Universitas Udayana
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi.* Bandung: ITB
- Rohyami, Y. 2008. *Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff Boerl).* Logika ISSN1410-2315 Volume 5, Nomor 1, 1 – 8

- Rosida, J. 2002. *Uji Saponin dalam Lidah Buaya, Limbah Buah Mengkudu dan Daun Mimba*. Ciawi: Balai Peneliti Ternak Ciawi
- Runadi, D. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Alkaloid dari Herba Konmfrey (Symphytum officinale L.)* Karya Ilmiah Diterbitkan. Bandung: Fakultas Farmasi UNPAD
- Sa'adah, L. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L.)*. Skripsi Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press
- Septyaningsih, D. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.)*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Shihab, Q.M. 2002. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati
- Smith F.J., and Braithwaite A. 1999. *Chromatographic Methods Fifth Edition*. London: Kluwer Academic Publisher
- Soetarno, S., Soediro, I. 1997. *Standarisasi Mutu Simplisia dan Ekstrak Bahan Obat Tradisional*. Presidium Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi
- Sriwahyuni. 2010. *Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Ating-Ating (Acalypha indica L.) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas dengan Menggunakan Bhrine Shrimp*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang
- Staf Pengajar Departemen Parasitologi FKUI Jakarta. 2008. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat*. Inge Sutanto, dkk. (Ed.). Jakarta: FKUI
- Sudjadi. 1998. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisus
- Suharto, M.A.P., Edy, H.J., dan Dumanauw, J.M. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (Musa paradisiacal var. sapientum L.)*. Manado: UNSRAT
- Sukadana, I. M. 2010. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavoooid dari Kulit Akar Awar-Awar (Ficus septic Burm F)*. Kelompok Studi Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. ISSN 1907-9850
- Sundari Y., Sulaksono E., Jekti R.P., dan Subahagio. 1997. *Inokulasi Plasmodium berghei pada Beberapa Strain Mencit*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran

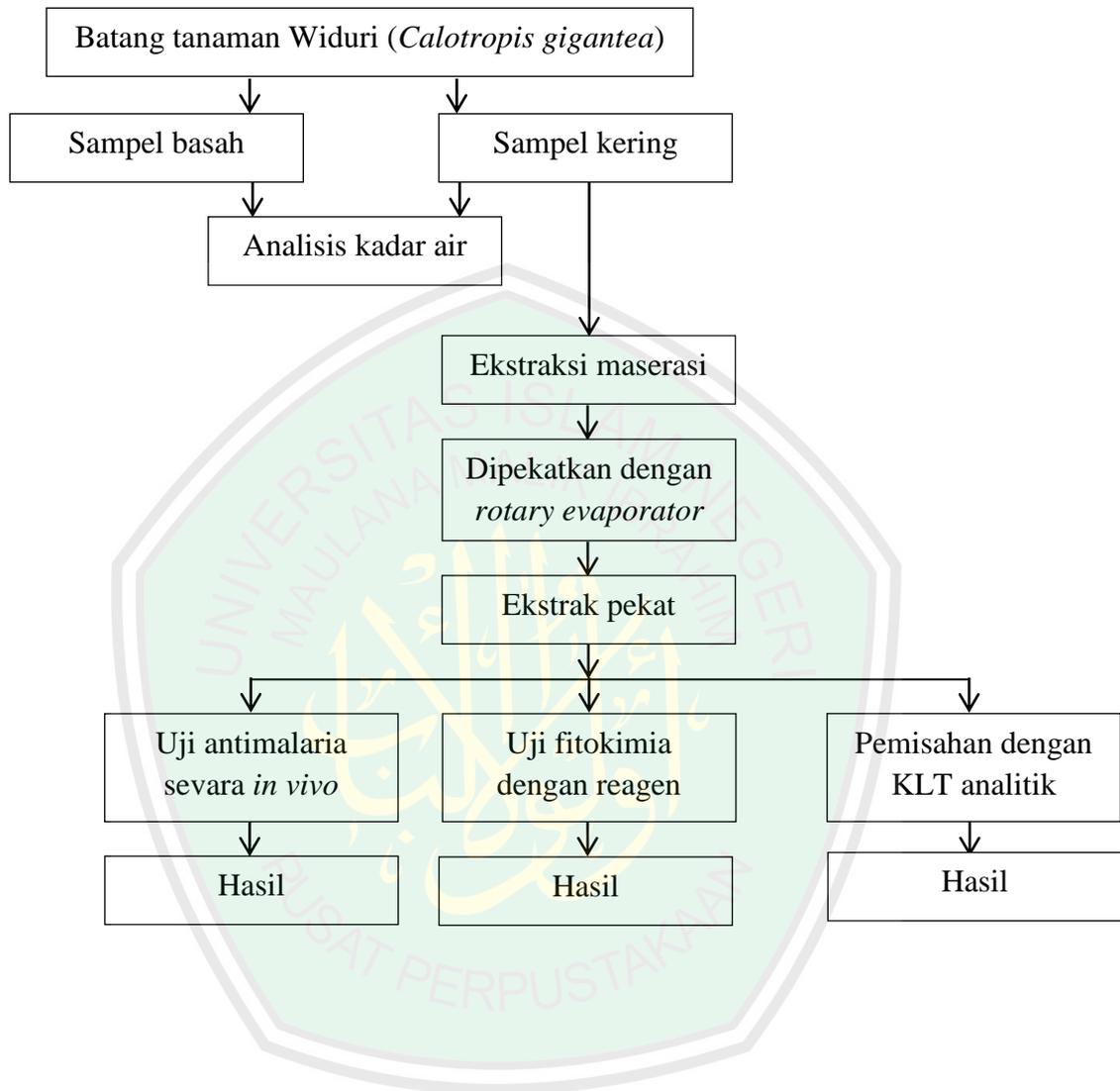
- Suryani, V., Dewi, M.S., Kristinawati, D., 2005. *Komponen Kimia Buah Pare Belut (Trichosanthes anguina L.)*. Jurnal Alchemy, 4 (2): 28-34
- Suryaningsih, A.E., Mulyani, S., dan Retnaningtyas, E. 2010. *Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Daun Senggani (Melastoma candidum D.Don) Terhadap Bacillus Licheniformis*. Surakarta: UNS
- Susilaningsih, 2007. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia galangal)*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro
- Syarif, R. dan Halid, H. 1993. *Teknologi Penyimpanan Pangan*. Jakarta: Arcan
- Tambayong, E.H. 2000. *Patobiologi Malaria dalam Harijanto P.N. (ed) Malaria : Epismologi, Patogenesis, Manifestasi Klinik dan Penanganannya*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Tjay, TH dan Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting*. Jakarta: P.T. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia
- Tuhu, P.F.S. 2008. *Efek Analgetika Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih (Melaleuca leucodendron L.) pada Mencit Jantan*. Jurnal Penelitian. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Umami, F. 2006. *Isolasi dan Penentuan Struktur Alkaloid Erythrinan dari Daun Cangkirng (erythrinofusca) serta Uji Aktivitas Antimalaria In Vitro*. Jurnal Skripsi diterbitkan. Surabaya: FMIPA UNAIR
- Utami, P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandhi, Apt. Yogyakarta: UGM Press
- Wardhani, Y.F. 2007. *Efek Serbuk Cacing Lumbricus Rubellus Terhadap Lama Hidup dan Derajat Parasitemia pada Mencit Swiss yang Diinfeksi oleh Plasmodium berghei*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Widodo, N., 2007. *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung dalam Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus)*. Skripsi. Diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang
- Wijayanti M.A., Soeripto N., Supargiyono, dan Fitri., L.E. 2008. *Pengaruh Imunisasi Mencit dengan Parasit Stadium Eritrosit Terhadap Infeksi Plasmodium berghei*. Bekala Ilmu Kedokteran, 29 (2): 53 - 59.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: P.T Gramedia Pustaka
- Windono, T., Susana, E>, Suastini, D.K.N., dan Kardono, L. 2001. *Isolasi Senyawa Alkaloid Piroлизidin dari Daun Dewa (Gynura Pseudo-china (L)DC)*. Surabaya: ARTOCARPUS Vol.1/Nomor 2/September 2001, hal 87

- Yulia, R. 2006. *Kandungan Tanin dan Potensi Anti Streptococcus mutans Daun The Var. Assamica pada Berbagai Tahap Pengolahan*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Zahro, I.M. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak n-Heksana Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR*. Skripsi Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Zamrodi, M. 2011. *Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica L.)*. Skripsi Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang



Lampiran 1. Diagram Alir

1.1 Tahapan Penelitian



Lampiran 2. Skema Kerja

2.1 Analisis Kadar Air

Cawan penguap

- dipanaskan cawan dahulu dalam oven pada suhu 100 – 105 °C sekitar 15 menit
- disimpan cawan dalam desikator sekitar 10 menit
- ditimbang
- diulangi sampai diperoleh berat cawan yang konstan
- dimasukkan sampel serbuk batang Widuri ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya
- ditimbang sekitar 5 g
- dikeringkan di dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama sekitar 1 jam
- didinginkan dalam desikator dan ditimbang
- dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit,
- didinginkan dalam desikator
- ditimbang kembali
- Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

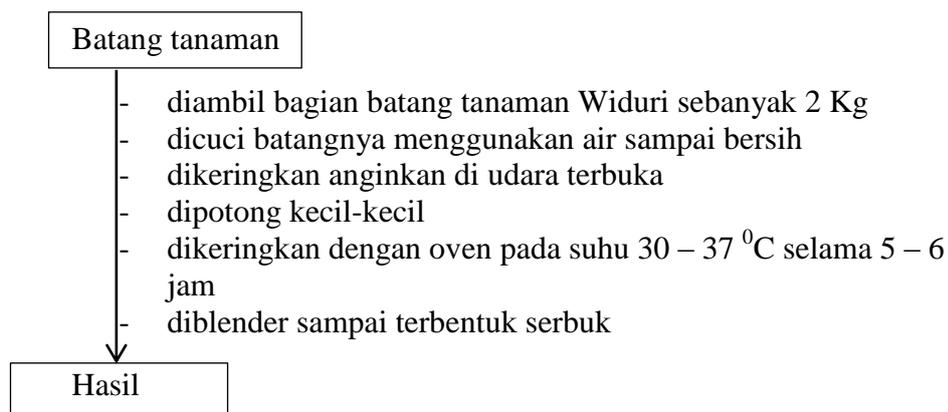
Keterangan: a = berat konstan cawan kosong
 b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
 c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

% Kadar air terkoreksi = kadar air – faktor koreksi

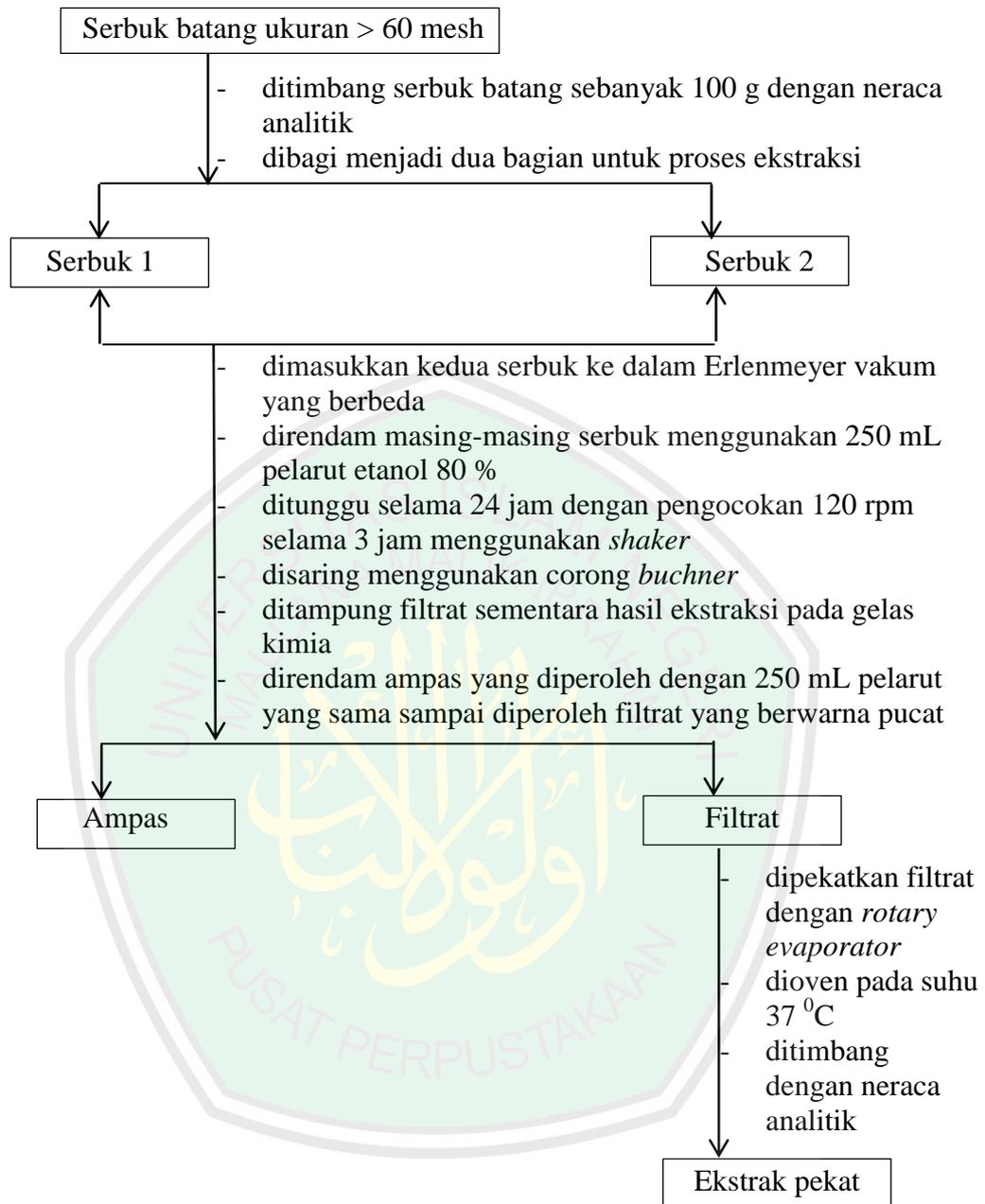
Hasil

2.2 Preparasi Sampel



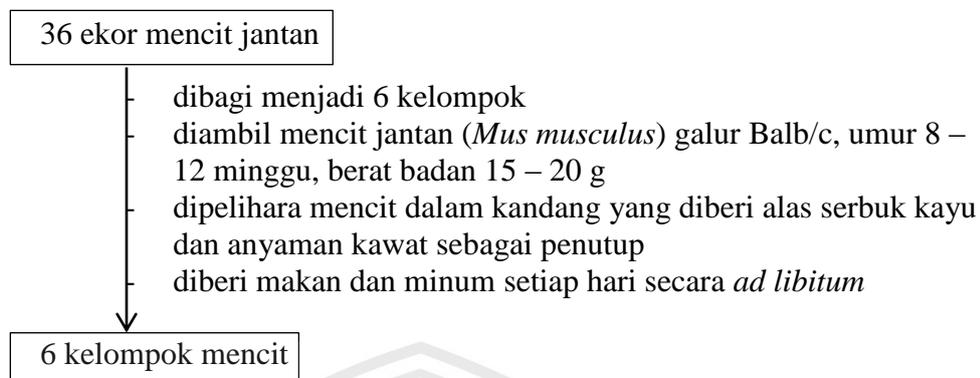
Dilakukan pemblanderan yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel dan untuk memperoleh serbuk halus dengan ukuran > 60 mesh (dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh) sehingga terbentuk serbuk yang homogen. Kemudian serbuk halus tersebut tersebut diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80%.

2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

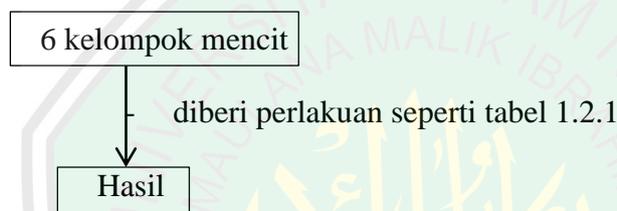


2.4 Uji Antimalaria

2.4.1 Persiapan Hewan Uji



2.4.2 Perlakuan Hewan Coba



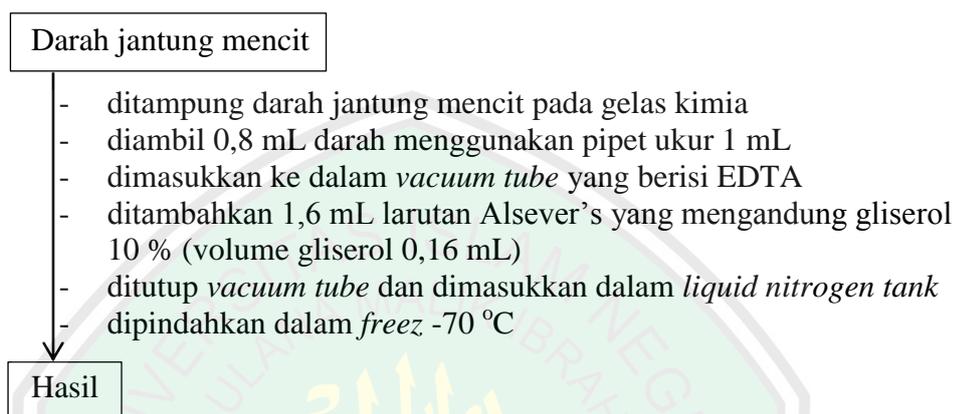
Tabel L.2.1. Perlakuan masing-masing Kelompok

Kelompok	Perlakuan
Kelompok kontrol negatif	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> dengan pemberian pelarut 0,5 mL CMC-Na 1% sekali sehari per oral.
Kelompok kontrol positif	Kelompok perlakuan klorokuin dosis 5,71 mg/Kg BB sekali sehari secara per-oral.
Kelompok non infeksi	Tanpa diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> dengan pemberian pelarut 0,5 mL CMC-Na 1% sekali sehari per oral.
Kelompok Widuri 1	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> dan terapi ekstrak etanol Widuri dosis 0,1 mg/Kg BB sekali sehari secara per oral.
Kelompok Widuri 2	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> dan terapi ekstrak etanol Widuri dosis 1 mg/Kg BB sekali sehari secara per oral.
Kelompok Widuri 3	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> dan terapi ekstrak etanol Widuri dosis 10 mg/Kg BB sekali sehari secara per oral.

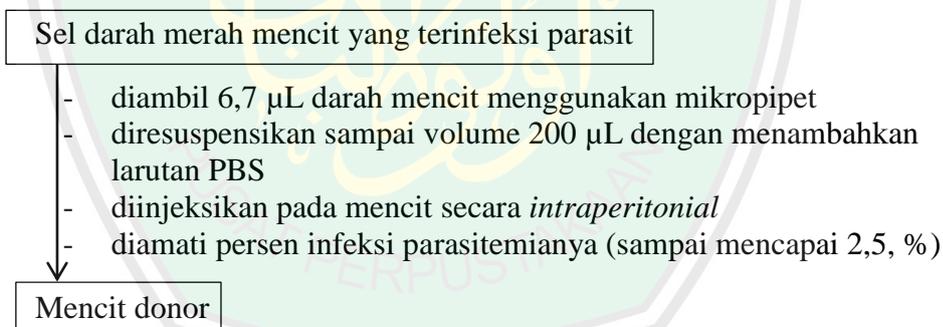
Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991 dalam Muti'ah, 2010). Terapi

dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 1 – 5 % yang dihitung sebagai hari ke-0. Terapi dilakukan setiap hari selama 4 hari. Pengamatan derajat parasitemia dilakukan setiap hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

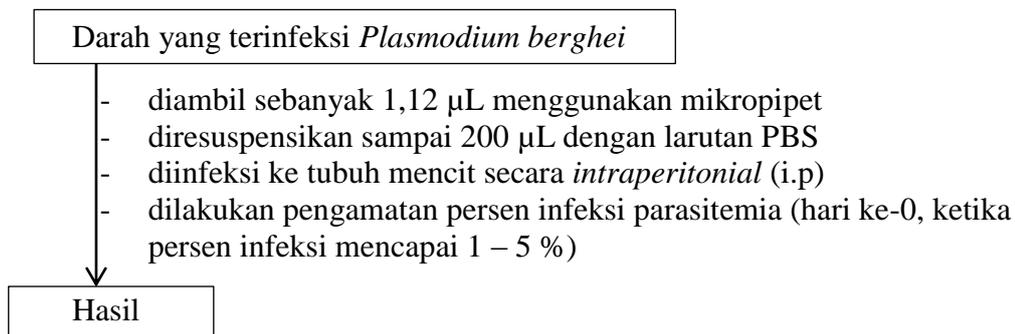
2.4.3 Freezing dan Thawing Isolat *Plasmodium berghei*



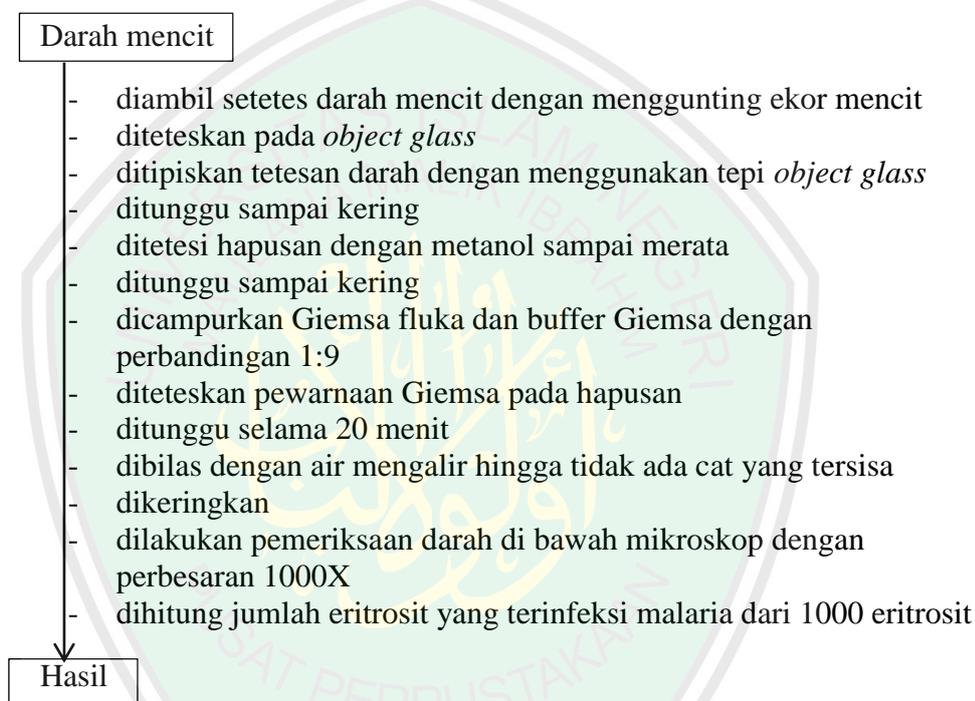
2.4.4 Pembuatan Donor



2.4.5 Inokulasi *Plasmodium berghei*



2.4.6 Pengukuran Derajat Parasitemia

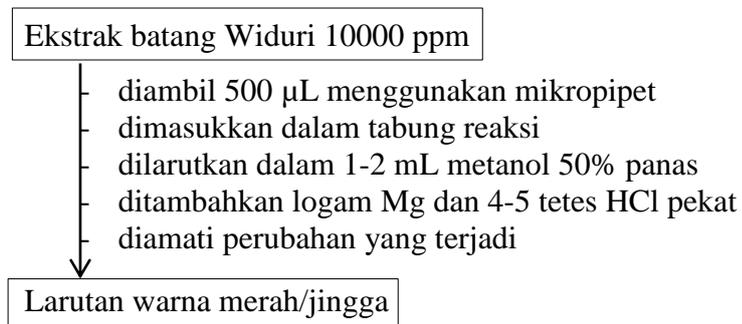


Persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus berikut:

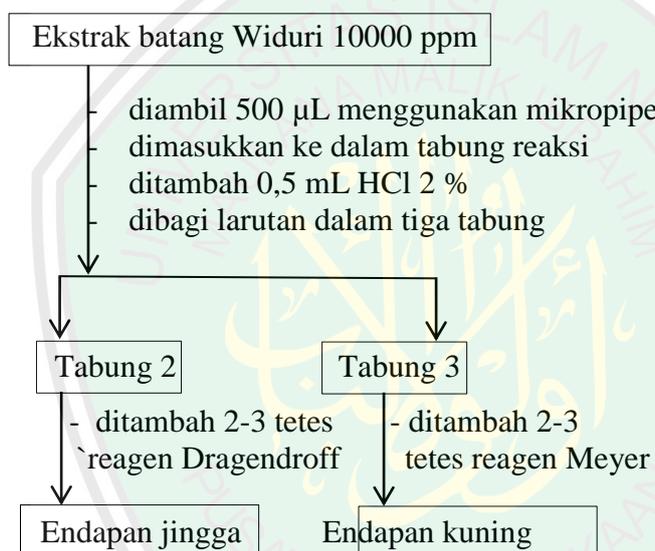
$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(\text{parasitemia kontrol negatif} - \text{parasitemia obat ekstrak})}{\text{parasitemia kontrol negatif}} \times 100\%$$

2.5 Uji Fitokimia

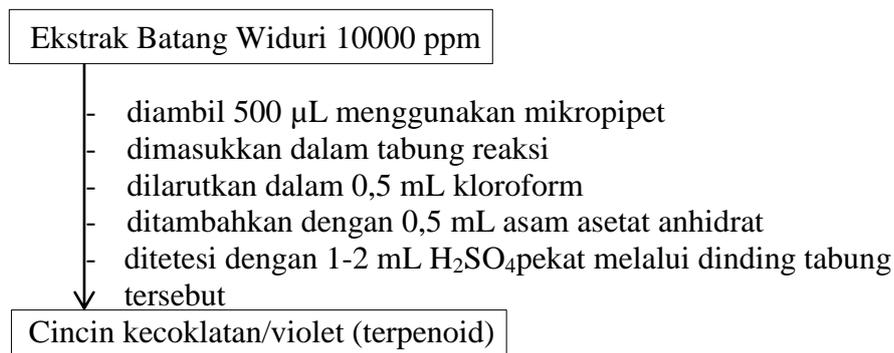
2.5.1 Flavonoid



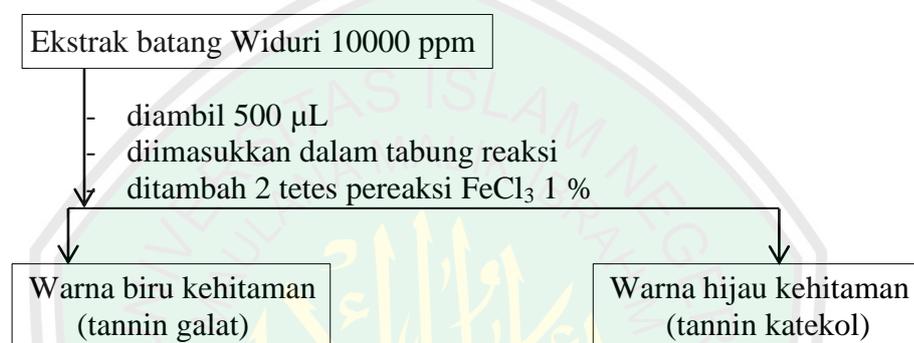
2.5.2 Alkaloid



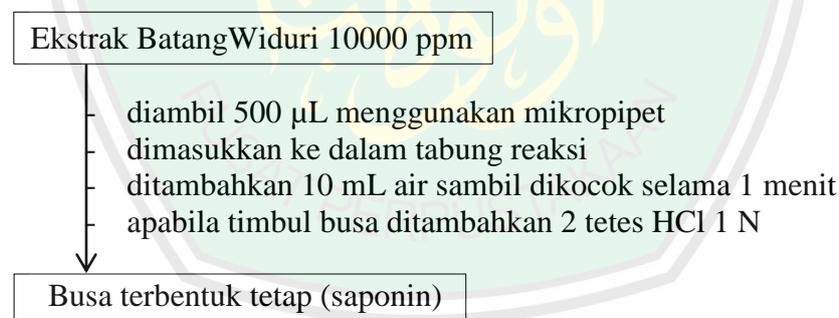
2.5.3 Uji Terpenoid



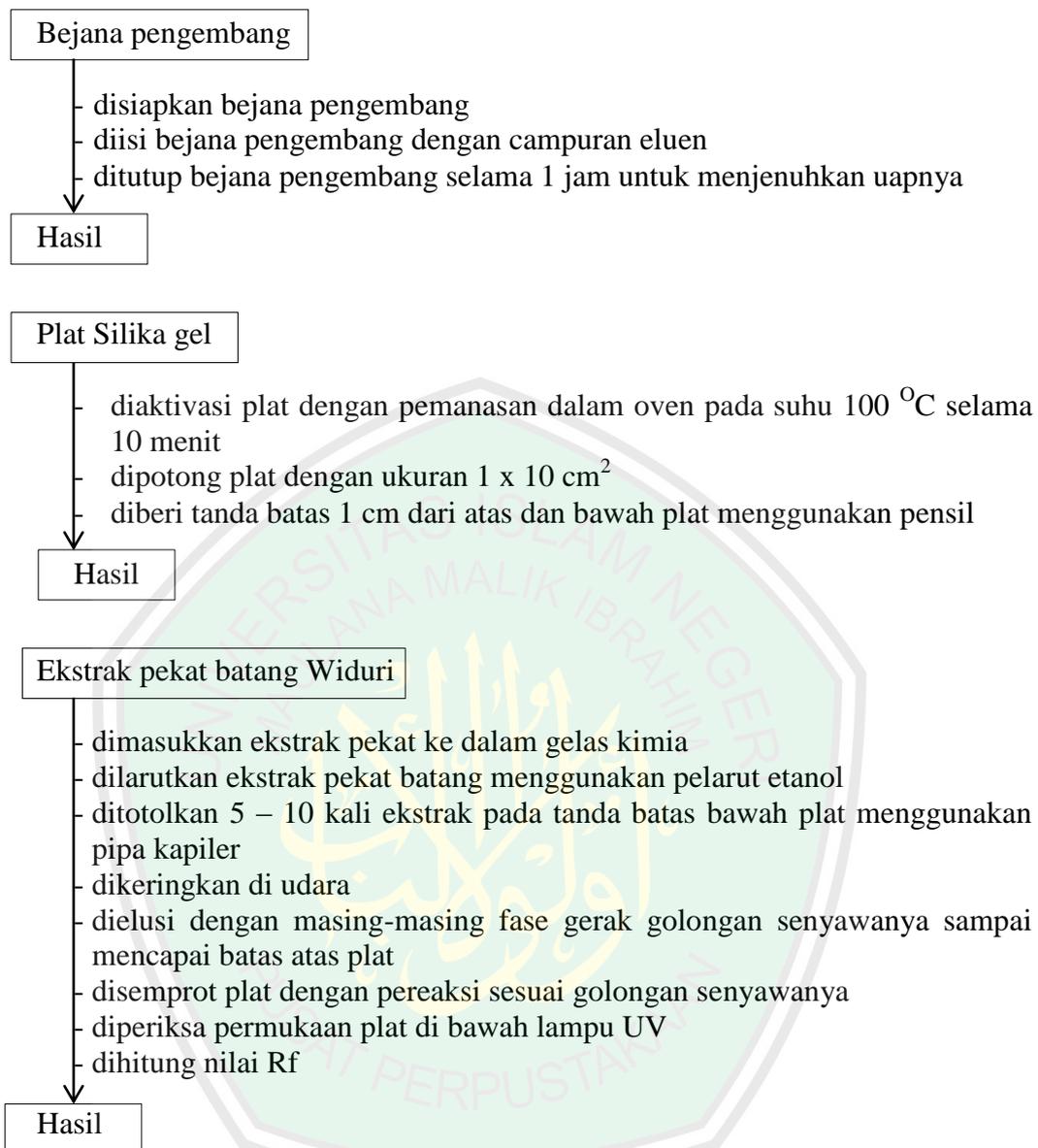
2.5.4 Uji Tanin



2.5.5 Uji Saponin



2.6 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



Tabel .2.2. Jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Flavonoid	metanol : kloroform (1 : 9)(Milyasari, 2010), butanol : asam asetat : air (3 : 1 : 1) (Marliana, 2005),butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) (Halimah, 2010), metanol : kloroform (1 : 39) (Inayah, 2011), dan asam asetat : air (9 : 2 : 6) (Rohyami, 2008).	Uap amoniak	Biru kehijauan
Alkaloid	kloroform : metanol (9,5 : 0,5) (Hayati, dkk., 2012), etil asetat : etanol : n-heksan (2 : 1 : 30) (Kusrini, 2013), kloroform : etanol (9 : 1) (Ekasari <i>et al</i> , 2005), etil asetat : metanol : air (100 : 16,5 : 13,5) (Marliana, 2007), dan diklorometan : metanol (1 : 9) (Kholifah, 2008)	Reagen Dragendrof	Jingga
Terpenoid	n-heksana : etil asetat (2 : 8), (Zamrodi, 2011),n-heksan : etil asetat (2 : 8) (Halimah, 2010), benzena : kloroform (3 : 7) (Sriwahyuni, 2010), n-heksana : etil asetat (1 : 1) (Sriwahyuni, 2010), dan n-heksan : etil asetat (7 : 3) (Zahro, 2011)	Reagen Lieberman-Burchard	Ungu dan merah keunguan
Tanin	asam asetat glasial : air : asam klorida (30 : 10 : 3) (Hayati, 2010), butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) (Sa'adah, 2010), n-heksan : kloroform : asam asetat (7 : 2 : 2) (Suryaningsih dkk., 2010), butanol : asam asetat : air (14 : 1 : 5) (Khasirunnisak, 2013), dan kloroform : metanol : air (7 : 3 : 0,4) (Khairunnisak, 2013).	Penyemprot FeCl ₃ 1 %	Lembayung
Saponin	heksana : aseton (4 : 1) (Marliana, 2005), kloroform : metanol : air (13 : 7 : 2) (Suharto, 2012), etanol : ammonia : butanol (2 : 5 : 7) (Rosida, 2002), kloforom : metanol : air (20 : 60 : 10) (Jaya, 2010), dan kloroform : metanol : aquades (20 : 60 : 4) (Jaya, 2010).	H ₂ SO ₄ 0,1 M	Ungu gelap

Lampiran 3. Preparasi Reagen

3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff

Pembuatan pereaksi Dragendorff untuk pereaksi penyemprot, dilakukan dalam 2 bagian larutan yang berbeda. Pada larutan A, ditimbang sebanyak 0,85 gr bismuth nitrat menggunakan neraca analitik. Kemudian, dilarutkan dalam campuran 40 mL aquades dengan 10 mL HCl dalam gelas kimia 100 mL (dilakukan dalam lemari asam). Pada larutan B, ditimbang sebanyak 8 gr kalium iodida menggunakan neraca analitik. Selanjutnya, dilarutkan dalam 20 mL aquades dalam gelas kimia 100 mL. Kemudian, dipipet masing-masing dari larutan A dan larutan B sebanyak 5 mL menggunakan pipet volume. Selanjutnya, dicampurkan dengan 20 mL HCl (dilakukan dalam lemari asam) dan di tanda bataskan dengan aquades hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL (Depkes, 1989).

3.2 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 gr dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 gr dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam gelas kimia 100 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 60 mL. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukan dalam gelas kimia 250 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 10 mL. Masing-masing dilakukan pengadukan dengan pengadul gelas sampai larut sempurna. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan pengadukan dengan menggunakan pengaduk gelas. Setelah kedua larutan

homogen, campuran larutan tersebut dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas (Manan, 2006).

3.3 Pembuatan Larutan Limberman-burchard

Asam sulfat pekat	5 mL
Anhidridat asetat	5 mL
Etanol absolut	50 mL

Cara pembuatannya adalah disiapkan 5 mL anhidrida asetat dan 5 mL asam sulfat pekat masing-masing dalam gelas kimia 50 mL (dilakukan dalam lemari asam). Kemudian ditambahkan secara hati-hati melalui dinding erlenmeyer yang berisi etanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, 2001).

3.4 Pembuatan Larutan CMC-Na 1%

Serbuk CMC-Na ditimbang sebanyak 1 gr dengan neraca analitik, dimasukkan dalam gelas kimia 100 mL dan dilarutkan dengan aquades hangat \pm 25 mL (dilakukan pengadukan dengan pengaduk gelas sampai larut sempurna). Setelah larut semua, dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan ditandabatkan dengan menambahkan pelarut aquades, sehingga diperoleh larutan CMC-Na 100 mL.

3.5 Pembuatan Larutan Buffer Giemsa

Pembuatan larutan buffer giemsa ini pertama-tama ditimbang bubuk giemsa sebanyak 1 g dengan menggunakan neraca analitik. Kemudian, 1 g bubuk giemsa ini dicampurkan dengan 66 mL gliserin dalam gelas kimia 250 mL yang

selanjutnya dimasukkan ke dalam oven selama 2 jam pada suhu 60 °C. Setelah inkubasi, campuran larutan tersebut kemudian ditambahkan dengan 66 mL metanol absolut dan diaduk (R.D Lilie dalam McLaughlin, 2004).

3.6 Pembuatan Larutan PBS (Phosphate Buffered Saline)

Pembuatan larutan PBS dilakukan dengan menimbang sebanyak 14,4 g natrium difosfat, 80 g natrium klorida, 2 g kalium klorida, 2,4 g kalium monofosfat dengan menggunakan neraca analitik. Kemudian, keseluruhan padatan tersebut dicampurkan yang selanjutnya dilarutkan dalam 800 mL aquades pada gelas kimia 1000 mL hingga tercampur dan larut secara keseluruhan sambil dilakukan pengadukan dengan batang pengaduk. Kemudian, campuran larutan tersebut ditambahkan asam klorida tetes per tetes untuk membuat pH 7,4 yang diukur menggunakan alat pH meter dan selanjutnya disterilkan (Harlow dan Lane, 2007).

3.7 Pembuatan Etanol 80 %

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$99 \% \times V_1 = 80\% \times 500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 404 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan etanol 99 % sebanyak 404 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 500 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.8 Pembuatan HCl 2 %

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl 37% sebanyak 0,5 mL dengan pipet ukur 1 mL (dilakukan dalam lemari asam), kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.9 Pembuatan Metanol 50%

$$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$$

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL dengan pipet volum 5 mL (dilakukan dalam lemari asam), kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.10 Pembuatan FeCl₃ 1 %

$$\text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\text{Massa FeCl}_3 = \frac{1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4}$$

$$= \frac{1\% \times 162,2 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,01 \text{ L}}{22,4}$$

$$= 0,072 \text{ gr} = 72 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan FeCl_3 1% adalah ditimbang sebanyak 72 mg serbuk FeCl_3 dengan neraca analitik, dimasukkan dalam gelas kimia 50 mL untuk dilarutkan dengan ± 3 mL aquades. Dilakukan pengadukan dengan pengaduk gelas sampai larut sempurna. Setelah larut, dipindahkan dalam labu takar 10 mL dan ditandabatkan dengan pelarut aquades.

3.11 Pembuatan H_2SO_4 0,1 M

$$\text{BJ H}_2\text{SO}_4 \text{ pekat} = 1,8 \text{ g/mL} = 1800 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 98\% (0,98)$$

$$\text{BM H}_2\text{SO}_4 = 98 \text{ g/mol}$$

Molaritas H_2SO_4 (M) :

$$\text{Massa H}_2\text{SO}_4 = \text{BJ H}_2\text{SO}_4 \text{ pekat} \times \%$$

$$= 1800 \text{ g/L} \times 0,98$$

$$= 1764 \text{ gr}$$

$$\text{Mol H}_2\text{SO}_4 = \frac{\text{Massa H}_2\text{SO}_4}{\text{BM H}_2\text{SO}_4} = \frac{1764 \text{ gr}}{98 \text{ gr/mol}} = 18 \text{ mol}$$

$$\text{Konsentrasi H}_2\text{SO}_4 \text{ (M)} = \frac{\text{Mol H}_2\text{SO}_4}{\text{Volume H}_2\text{SO}_4} = \frac{18 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 18 \text{ M}$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$18 \text{ M} \times V_1 = 0,1 \text{ M} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,27 \text{ mL} = 0,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan H_2SO_4 pekat 98% sebanyak 0,3 mL dengan pipet ukur 1 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 mL yang telah berisi ± 15 mL aquades melalui dinding labu ukur. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.12 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37\% (0,37)$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

Molaritas HCl (M) :

$$\text{Massa HCl} = \text{BJ HCl pekat} \times \%$$

$$= 1190 \text{ g/L} \times 0,37$$

$$= 440,3 \text{ gr}$$

$$\text{Mol HCl} = \frac{\text{Massa HCl}}{\text{BM HCl}} = \frac{440,3 \text{ gr}}{36,42 \text{ gr/mol}} = 12,09 \text{ mol}$$

$$\text{Konsentrasi HCl (M)} = \frac{\text{Mol HCl}}{\text{Volume HCl}} = \frac{12,09 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 12,09 \text{ L}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times 12,09 \text{ M}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi \pm 15 mL aquades melalui dinding labu ukur. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.13 Pembuatan Larutan Alsever's (dalam g/100 mL)

NaCl	0,42 gr
Asam Sitrat 3Na.2H ₂ O	0,80 gr
Asam Sitrat H ₂ O	0,06 gr
Glukosa	2,05 gr

Keempat bahan tersebut dicampur dalam beaker glass 50 mL dan dilarutkan dengan sedikit aquades melalui proses pengadukan menggunakan pengaduk gelas. Setelah larut dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan ditandabatkan dengan menambah aquades. Kemudian dihomogenkan sehingga diperoleh larutan alsever's 3,33 g/100 mL.

3.14 Penentuan 1,6 mL Alsever's yang Mengandung 10% Gliserol

$$\begin{aligned}
 10\% \text{ gliserol} \times 1,6 \text{ mL (alsever,s)} &= \frac{10}{100} \times 1,6 \text{ mL} \\
 &= 0,16 \text{ mL gliserol}
 \end{aligned}$$

Larutan gliserol sediaan, dipipet sebanyak 0,16 mL (160 µL) dengan menggunakan pipet mikro (100 – 500 µL). Kemudian dimasukkan dalam beaker glass 50 mL dan ditambahkan 1,44 mL larutan alsever's. Selanjutnya, kedua larutan dihomogenkan dan diperoleh larutan alsever's sebanyak 1,6 mL dan mengandung 10% gliserol.

3.15 Penentuan dan Perhitungan Dosis Ekstrak/Obat

3.15.1 Dosis Ekstrak Etanol BatangWiduri

Penentuan dosis ekstrak etanol batangWiduri untuk mencit adalah sebagai berikut: Misalnya berat badan manusia 70 kg, maka dosis mencit adalah:

$$\text{Dosis 1} = 0,1 \text{ mg/Kg BB} \times 70 \text{ Kg} = 7 \text{ mg}$$

$$= 7 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0182 \text{ mg/20 g BB}$$

$$= 0,00091 \text{ mg/g BB} = 0,001 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis 2} = 1 \text{ mg/Kg BB} \times 70 \text{ Kg} = 70 \text{ mg}$$

$$= 70 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,182 \text{ mg/20 g BB}$$

$$= 0,0091 \text{ mg/g BB} = 0,01 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis 3} = 10 \text{ mg/Kg BB} \times 70 \text{ Kg} = 700 \text{ mg}$$

$$= 700 \text{ mg} \times 0,0026 = 1,82 \text{ mg/20 g BB}$$

$$= 0,091 \text{ mg/g BB} = 0,1 \text{ mg/g BB}$$

3.15.2 Dosis Klorokuin

Penentuan dosis klorokuin adalah sebagai berikut:

Dosis klorokuin untuk manusia adalah 400 mg. Penentuan dosis klorokuin dari sediaan obat *Resochin*, dimana tiap tablet mengandung 250 mg klorokuin fosfat sebagai berikut:

$$\text{Berat seluruh tablet klorokuin} = 303 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk manusia} = 400 \text{ mg/70Kg} = 5,71 \text{ mg/kg BB}$$

$$\text{Dosis untuk mencit dari sediaan obat} = \frac{250}{303} \times 5,71 \text{ mg/Kg BB} \times 0,0026$$

$$= 0,013 \text{ mg/20 g BB}$$

$$= 0,0006 \text{ mg/g BB}$$

Keterangan:

0,0026 diperoleh dari tabel perbandingan luas permukaan antara manusia dengan berat badan 70 kg dan mencit dengan berat badan 20 g.

Lampiran 4. Perhitungan Pengambilan Parasit

4.1 Pengambilan Parasit Dalam Darah Donor

Parasit yang akan diambil untuk diinjeksikan pada mencit yang lainnya adalah dengan mengasumsikan hematokrit pada mencit sebesar 60 % yang memiliki 6×10^9 sel darah merah/mL pada darahnya.

Ketika derajat parasitemia telah mencapai 2,5 %, maka darah mencit tersebut dapat diinjeksikan kepada mencit-mencit yang lain. Artinya, dalam 100 sel darah merah mengandung 2,5 parasit, sehingga 1×10^6 parasit terdapat 40×10^6 sel darah merah.

$$\frac{1 \times 10^6}{2,5} \times 100 = \frac{100 \times 10^6}{2,5} = 40 \times 10^6 \text{ sel darah merah}$$

Darah pada donor diketahui memiliki 6×10^9 sel darah merah/mL pada darahnya, maka untuk mengambil 1×10^6 parasit pada setiap mencit dengan cara mengambil darahnya adalah:

$$\begin{aligned} \frac{40 \times 10^6 \text{ RBC}}{6 \times 10^9 \text{ RBC/mL}} \times 1 \text{ mL darah} &= 6,7 \times 10^{-6} \text{ L} \\ &= 6,7 \mu\text{L (untuk setiap mencit)} \end{aligned}$$

Sehingga untuk mengambil 1×10^6 parasit, dapat dilakukan dengan mengambil darah sebanyak $6,7 \mu\text{L}$ (untuk setiap mencit) dengan menggunakan mikropipet.

4.2 Penginjeksian Darah yang Terinfeksi Pada Setiap Mencit

$$\% \text{ infeksi} = \frac{150}{1000} \times 100 \% = 15 \%$$

Ketika derajat parasitemia mencit donor telah mencapai 2,5 % maka harus mengandung 1×10^6 parasit dalam $6,7 \mu\text{L}$ darah. Pada penelitian ini diperoleh derajat parasitemia sebesar 15 %, maka setiap mencit diinjeksikan darah sebanyak:

$$\frac{2,5 \%}{15 \%} \times 6,7 \mu\text{L} = 1,12 \mu\text{L untuk satu mencit}$$

Jumlah mencit yang akan diinfeksi parasit sebanyak 30 ekor, sehingga $1,12\mu L \times 30 = 30,6\mu L$.

Darah mencit yang digunakan untuk menginfeksi mencit yang lainnya diperoleh dari darah jantung yang diresuspensikan dalam $200\mu L$ larutan PBS (untuk $6,7\mu L$ darah), sehingga larutan PBS yang dibutuhkan untuk meresuspensikan $30,6\mu L$ darah adalah:

$$\frac{30,6\mu L}{6,7\mu L} \times 200\mu L = 913,43\mu L = 0,9\text{ mL}$$

Dengan demikian, $30,6\mu L$ darah mencit donor yang terinfeksi parasit dilarutkan dalam $0,9\text{ mL}$ larutan PBS. Untuk mempermudah skala pengambilan maka dinaikkan 10x lipat, sehingga darah yang diambil dari mencit donor sebanyak $306\mu L$ ($0,306\text{ mL}$) yang kemudian dilarutkan dalam 9 mL larutan PBS.

$$\frac{9\text{ mL}}{30} = 0,3\text{ mL}$$

Maka setiap mencit diinjeksikan darah yang telah dilarutkan dengan PBS sebanyak $0,3\text{ mL}$.

Lampiran 5. Pembuatan Ekstrak Uji

5.1 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Larutan Uji

Rumus: Dosis x berat badan mencit

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x dosis x 4 hari

Keterangan: rata-rata berat badan mencit = 17 gram

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 6

Dosis Klorokuin: = 0,0006 mg/g BB

$$= 0,0006 \text{ mg/g BB} \times 17 \text{ gr} = 0,011 \text{ mg}$$

$$= 6 \times 0,011 \text{ mg} \times 4 = 0,25 \text{ mg}$$

Maka, klorokuin ditimbang sebanyak 0,25 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL

CMC-Na 1%.

Dosis 1 = 0,001 mg/g BB

$$= 0,001 \text{ mg/g BB} \times 17 \text{ gr} = 0,017 \text{ mg}$$

$$= 6 \times 0,017 \text{ mg} \times 4 = 0,408 \text{ mg}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,408 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL

CMC-Na 1%.

Dosis 2 = 0,01 mg/g BB

$$= 0,01 \text{ mg/g BB} \times 17 \text{ gr} = 0,17 \text{ mg}$$

$$= 6 \times 0,2 \text{ mg} \times 4 = 4,08 \text{ mg}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 4,08 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL

CMC-Na 1%.

Dosis 3 = 0,1 mg/g BB

$$= 0,1 \text{ mg/g BB} \times 17 \text{ gr} = 1,7 \text{ mg}$$

$$= 6 \times 2 \text{ mg} \times 4 = 40,8 \text{ mg}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 40,8 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL CMC-Na 1%.

Keterangan:

Angka 6 : Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 4 : Jumlah hari terapi

Angka 12 : Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x jumlah hari terapi x 0,5 mL

Proses pembuatan dosis ekstrak dengan penimbangan ekstrak pekat dalam satuan mg dan dengan angka relatif yang kecil (seperti pada dosis 0,001 mg/g BB), menimbulkan banyak error. Karena neraca analitik yang ada, minimal penimbangannya adalah 1 mg. Sehingga digunakan proses pengenceran dari dosis 10 mg/kg BB dengan pengenceran 1/10x dari dosis sebelumnya.

1. Dosis 10 mg/Kg BB

Ekstrak pekat 40,8 mg dilarutkan dalam 12 mL CMC-Na 1%. Akan tetapi untuk memperbanyak stok (karena akan berkurang untuk pengenceran) maka dilakukan 2x dosis, yaitu 81,6 mg (40,8 mg x 2) ekstrak pekat dilarutkan dalam 24 mL (12 mL x 2) CMC-Na 1%. Sehingga diperoleh ekstrak dosis 10 mg/kg BB sebanyak 24 mL.

2. Dosis 1 mg/Kg BB

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$\frac{40,8 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} \times V_1 = \frac{4,08 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{120 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} \times \frac{12 \text{ mL}}{48 \text{ mg}} = 2,5 \text{ mL}$$

3. Dosis 0,1 mg/Kg BB

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$\frac{4,08 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} \times V_1 = \frac{0,408 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{12 \text{ mg}}{12 \text{ mL}} \times \frac{12 \text{ mL}}{4,8 \text{ mg}} = 2,5 \text{ mL}$$

5.2 Pembuatan Ekstrak Tanaman Widuri 10.000 ppm pada Uji Fitokimia

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 100 mg menggunakan neraca analitik. Kemudian diencerkan dengan 10 mL pelarut etanol 80%. Kemudian dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm (ekstrak yang lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu). Perbandingan (100 mg : 10 mL) digunakan apabila menggunakan (10 mg : 1) mL banyak terdapat error dalam proses penimbangan dengan neraca analitik dimana menggunakan satuan mg yang merupakan nilai yang sangat kecil.

1. Uji Alkaloid = 0,5 mL
2. Uji Flavonoid = 0,5 mL
3. Uji Tanin = 0,5 mL
4. Uji Saponin = 0,5 mL
5. Uji Triterpenoid = 0,5 mL

5.3 Pembuatan Ekstrak Tanaman Widuri 1.000.000 ppm pada Uji KLT

$$1.000.000 \text{ ppm} = \frac{1.000.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{1.000.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 1000 mg dengan neraca analitik. Kemudian diencerkan dengan 1 mL pelarut etanol 80%. Kemudian dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1.000.000 ppm (ekstrak yang lebih encer sehingga lebih mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan

penotolan).Kemudian ekstrak diletakkan diatas plat tetes untuk mempermudah pengambilan dengan pipa kapiler ketika akan ditotolkan.



Lampiran 6. Data dan Perhitungan

6.1 Perhitungan Randemen Ekstrak Etanol 80 % Batang Widuri

- a. Berat sampel yang di maserasi : 100 gr
 b. Berat gelas vial kosong : 89,2295 gr
 Berat konstan gelas vial+ekstrak : 93,7818 gr
 Berat ekstrak : 4,5523 gr

$$\begin{aligned}\text{Randemen ekstrak} &= \frac{\text{berat total ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{4,5523 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 4,5523 \%\end{aligned}$$

6.2 Analisis Kadar Air

6.2.1 Analisis Kadar Air Sampel Basah

Cawan ke-	Berat konstan cawan kosong (a)	Berat cawan+sampel sebelum dikeringkan (b)	Berat konstan cawan+sampel setelah dikeringkan (c)	Kadar air sampel basah (%)
1	54,3058	59,4906	55,3446	74,97684
2	62,7222	67,7650	63,6170	76,62022

Perhitungan kadar air sampel basah:

a. Cawan ke-1

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% = \frac{59,4906-55,3446}{59,4906-54,3058} \times 100 \% = 79,96914 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100-\% \text{ kadar air}} = \frac{100}{100-79,96914} = 4,9922906 \%$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{kadar air} - \text{faktor koreksi}$$

$$= 79,96914\% - 4,9922966 \% = 74,97684 \%$$

b. Cawan ke-2

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% = \frac{67,7650-63,6170}{67,7650-62,7222} \times 100 \% = 82,25589\%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100-\% \text{ kadar air}} = \frac{100}{100-82,25589} = 5,6356728 \%$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{kadar air} - \text{faktor koreksi}$$

$$= 82,25589 \% - 5,6356728 \% = 76,62022 \%$$

6.2.2 Analisis Kadar Air Sampel Kering

Cawan ke-	Berat konstan cawan kosong (a)	Berat cawan+sampel sebelum dikeringkan (b)	Berat konstan cawan+sampel setelah dikeringkan (c)	Kadar air sampel kering (%)
1	54,5320	59,5318	59,3007	3,573723

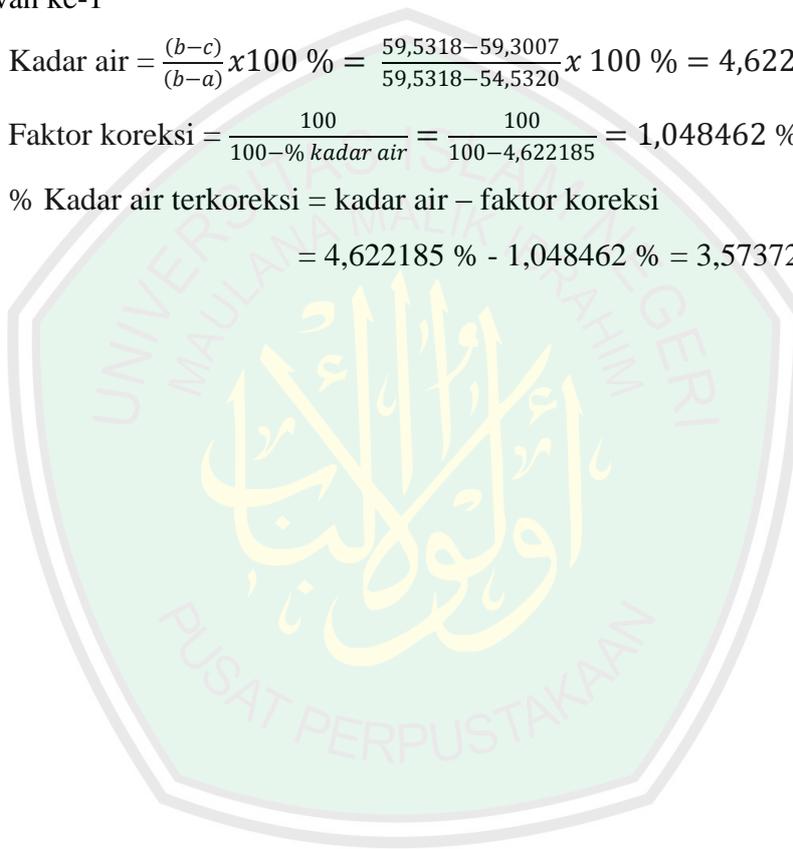
Perhitungan kadar air sampel kering:

a. Cawan ke-1

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% = \frac{59,5318 - 59,3007}{59,5318 - 54,5320} \times 100 \% = 4,622185 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} = \frac{100}{100 - 4,622185} = 1,048462 \%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{kadar air} - \text{faktor koreksi} \\ &= 4,622185 \% - 1,048462 \% = 3,573723 \% \end{aligned}$$



Widuri 1	1	1000	144	14,4	105	10,5	139	13,9	65	6,5
	2	1000	70	7,0	67	6,7	56	5,6	40	4,0
	3	1000	125	12,5	70	7,0	68	6,8	45	4,5
	4	1000	59	5,9	64	6,4	37	3,7	32	3,2
	5	1000	43	4,3	51	5,1	36	3,6	31	3,1
	6	1000	68	6,8	67	6,7	49	4,9	36	3,6
Widuri 2	1	1000	147	14,7	98	9,8	88	8,8	108	10,8
	2	1000	65	6,5	59	5,9	38	3,8	41	4,1
	3	1000	91	9,1	74	7,4	74	7,4	64	6,4
	4	1000	47	4,7	57	5,7	23	2,3	22	2,2
	5	1000	73	7,3	68	6,8	59	5,9	42	4,2
	6	1000	106	10,6	97	9,7	81	8,1	92	9,2
Widuri 3	1	1000	76	7,6	76	7,6	76	7,6	47	4,7
	2	1000	111	11,1	92	9,2	100	10,0	85	8,5
	3	1000	108	10,8	88	8,8	85	8,5	62	6,2
	4	1000	87	8,7	83	8,3	76	7,6	48	4,8
	5	1000	58	5,8	68	6,8	43	4,3	42	4,2
	6	1000	131	13,1	114	11,4	107	10,7	88	8,8

Keterangan:

Non infeksi: kelompok perlakuan tanpa infeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian 0,5 mL larutan CMC-Na 1 %.

Kontrol negatif: kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian pelarut CMC-Na 1%.

Kontrol positif: kelompok perlakuan klorokuin dosis 5,71 mg/Kg BB.

Dosis 1: kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dan terapi ekstrak etanol batang Widuri dosis 0,1 mg/Kg.

Dosis 2: kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dan terapi ekstrak etanol batang Widuri dosis 1 mg/Kg BB.

Dosis 3: kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dan terapi ekstrak etanol batang Widuri dosis 10 mg/Kg BB.

6.3.2 Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria

No.	Perlakuan	Ulangan ke-	% Infeksi			
			Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1.	Kontrol Negatif	1	4,3	10,5	18,6	19,8
		2	3,9	8,4	12,9	14,9
		3	3,1	6,7	12,8	13,5
		4	2,0	6,1	8,7	12,1
		5	6,2	17,3	21,8	26,4
		6	0,5	4,7	5,9	7,4
	Rata-rata	3,3	9,0	13,5	15,7	
2.	Kontrol Positif	1	15,2	9,1	8,3	5,6
		2	13,8	9,9	9,8	4,8
		3	11,6	7,1	5,2	4,2
		4	5,8	4,1	2,8	2,4
		5	11,7	8,2	5,7	5
	Rata-rata	11,6	7,7	6,4	4,4	
3.	Widuri 1	1	14,4	10,5	13,9	6,5
		2	7,0	6,7	5,6	4,0
		3	12,5	7,0	6,8	4,5
		4	5,9	6,4	3,7	3,2
		5	4,3	5,1	3,6	3,1
		6	6,8	6,7	4,9	3,6
	Rata-rata	8,5	7,1	6,4	4,2	
4.	Widuri 2	1	14,7	9,8	8,8	10,8
		2	6,5	5,9	3,8	4,1
		3	9,1	7,4	7,4	6,4
		4	4,7	5,7	2,3	2,2
		5	7,3	6,8	5,9	4,2
		6	10,6	9,7	8,1	9,2
	Rata-rata	8,8	7,6	6,1	6,2	
5.	Widuri 3	1	7,6	7,6	7,6	4,7
		2	11,1	9,2	10,0	8,5
		3	10,8	8,8	8,5	6,2
		4	8,7	8,3	7,6	4,8
		5	5,8	6,8	4,3	4,2
		6	13,1	11,4	10,7	8,8
	Rata-rata	9,5	8,7	8,1	6,2	

6.3.3 Perhitungan Penghambatan Parasit

Parasitemia (%) adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dalam 1000 eritrosit. Persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\text{parasitemia kontrol negatif} - \text{parasitemia obat/ekstrak}}{\text{parasitemia kontrol negatif}} \times 100 \%$$

No.	Perlakuan	Ulangan ke-	Pengamatan Parasitemia (%)		
			Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
1.	Kontrol Negatif	1	10,5	18,6	19,8
		2	8,4	12,9	14,9
		3	6,7	12,8	13,5
		4	6,1	8,7	12,1
		5	17,3	21,8	26,4
		6	4,7	5,9	7,4
	Rata-rata	9,0	13,5	15,7	
2.	Kontrol Positif	1	9,1	8,3	5,6
		2	9,9	9,8	4,8
		3	7,1	5,2	4,2
		4	4,1	2,8	2,4
		5	8,2	5,7	5
	Rata-rata	7,7	6,4	4,4	
	Penghambatan	1	-1,7	38,3	64,3
		2	-10,6	27,1	69,4
		3	20,7	61,3	73,2
		4	54,2	79,2	84,7
		5	8,4	57,6	68,1
Rata-rata	14,2	52,7	71,9		
3.	Widuri 1	1	10,5	13,9	6,5
		2	6,7	5,6	4,0
		3	7,0	6,8	4,5
		4	6,4	3,7	3,2
		5	5,1	3,6	3,1
		6	6,7	4,9	3,6
	Rata-rata	7,1	6,4	4,2	
	Penghambatan	1	-17,3	-3,3	58,6
		2	25,1	58,4	74,5
		3	21,8	49,4	71,3
		4	28,5	72,5	79,6
		5	43	73,2	80,2
		6	25,1	63,6	77
Rata-rata	21	52,3	73,5		
4.	Widuri 2	1	9,8	8,8	10,8
		2	5,9	3,8	4,1

		3	7,4	7,4	6,4	
		4	5,7	2,3	2,2	
		5	6,8	5,9	4,2	
		6	9,7	8,1	9,2	
	Rata-rata			7,6	6,1	6,2
	Penghambatan	1	-9,5	34,6	31,1	
		2	34,1	71,7	73,9	
		3	17,3	45	59,2	
		4	36,3	82,9	86	
		5	24	56,1	73,2	
		6	-8,4	39,8	41,3	
	Rata-rata			15,6	55	60,8
	5.	Widuri 3	1	7,6	7,6	4,7
2			9,2	10,0	8,5	
3			8,8	8,5	6,2	
4			8,3	7,6	4,8	
5			6,8	4,3	4,2	
6			11,4	10,7	8,8	
Rata-rata			8,7	8,1	6,2	
Penghambatan		1	15,1	43,5	70	
		2	-2,8	25,7	45,8	
		3	1,7	36,8	60,5	
		4	7,3	43,5	69,4	
		5	24	68	73,2	
		6	-27,4	20,4	31,8	
Rata-rata			3,0	39,7	60,5	

Keterangan:

Kontrol negatif : pemberian pelarut CMC-Na 1% yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

Kontrol positif : kelompok perlakuan klorokuin dosis 5,71 mg/Kg BB.

Widuri 1 : terapi ekstrak etanol batang Widuri dosis 0,1 mg/Kg.

Widuri 2 : terapi ekstrak etanol batang Widuri dosis 1 mg/Kg BB.

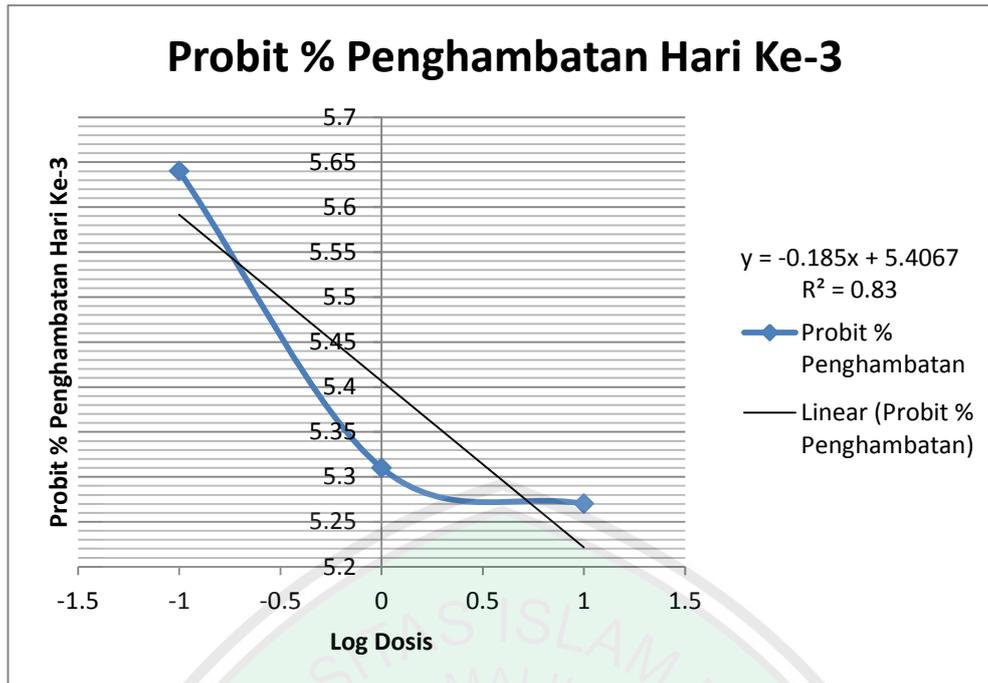
Widuri 3 : terapi ekstrak etanol batang Widuri dosis 10 mg/Kg BB.

6.3.4 Probit Penghambatan Pertumbuhan Parasit Hari ke-4

No.	Perlakuan	Ulangan ke-	% Penghambatan	Probit Penghambatan
1.	Widuri 1	1	58,6	5,22
		2	74,5	5,66
		3	71,3	5,56
		4	79,6	5,83
		5	80,2	5,85
		6	77	5,74
	Rata-rata			73,5
2.	Widuri 2	1	31,1	4,5
		2	73,9	5,64
		3	59,2	5,23
		4	86	6,08
		5	73,2	5,62
		6	41,3	4,78
	Rata-rata			60,8
3.	Widuri 3	1	70	5,52
		2	45,8	4,89
		3	60,5	5,27
		4	69,4	5,51
		5	73,2	5,62
		6	31,8	4,84
	Rata-rata			60,5

6.3.5 Perhitungan ED₅₀

Dosis	Log dosis	probit % penghambatan
0.1	-1	5,64
1	0	5,31
10	1	5,27



Diketahui : $y = -0,185 x + 5,406$

Ditanya : nilai dosis x

Jawab :

$$y = -0,185 x + 5,406$$

$$5 = -0,185 x + 5,406$$

$$-0,406 = -0,185 x$$

$$X = \frac{-0,406}{-0,185} = 2,19$$

Jika x adalah log dosis, maka antilog $x = \text{antilog } 2,19 = 154,88$. Dengan demikian, nilai ED_{50} adalah $154,88 \text{ mg/kg BB}$

6.3.6 Analisis Statistika *Twoway* ANOVA

Two-way ANOVA: Hasil versus Dosis, Hari

Source	DF	SS	MS	F	P
Dosis	3	2167.1	722.4	1.57	0.206
Hari	2	32409.9	16204.9	35.23	0.000
Interaction	6	572.7	95.4	0.21	0.973
Error	60	27594.7	459.9		
Total	71	62744.3			

S = 21.45 R-Sq = 56.02% R-Sq(adj) = 47.96%

General Linear Model: Hasil versus Dosis, Hari

Factor	Type	Levels	Values
Dosis	fixed	4	1, 2, 3, 4
Hari	fixed	3	1, 2, 3

Analysis of Variance for Hasil, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Dosis	3	2167.1	2167.1	722.4	1.57	0.206
Hari	2	32409.9	32409.9	16204.9	35.23	0.000
Dosis*Hari	6	572.7	572.7	95.4	0.21	0.973
Error	60	27594.7	27594.7	459.9		
Total	71	62744.3				

S = 21.4455 R-Sq = 56.02% R-Sq(adj) = 47.96%

Unusual Observations for Hasil

Obs	Hasil	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	54.2000	11.8333	8.7551	42.3667	2.16 R
30	0.0000	43.9167	8.7551	-43.9167	-2.24 R
31	-3.3000	52.3000	8.7551	-55.6000	-2.84 R
54	0.0000	59.9500	8.7551	-59.9500	-3.06 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Dosis	N	Mean	Grouping
2	18	49.0	A
3	18	43.8	A
1	18	38.6	A
4	18	34.4	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Hari	N	Mean	Grouping
3	24	63.7	A
2	24	47.7	B
1	24	12.9	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Dosis	Hari	N	Mean	Grouping
2	3	6	73.5	A
3	3	6	60.8	A B
4	3	6	60.5	A B
1	3	6	59.9	A B
3	2	6	55.0	A B C
2	2	6	52.3	A B C D
1	2	6	43.9	A B C D E
4	2	6	39.6	A B C D E
2	1	6	21.0	B C D E
3	1	6	15.6	C D E
1	1	6	11.8	D E
4	1	6	3.0	E

Means that do not share a letter are significantly different.

6.3.7 Analisis Statistikan Regresi Probit

PROBIT PersenHambat OF Max WITH Dosis

/LOG 10

/MODEL PROBIT

/PRINT FREQ CI

/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).



Probit Analysis

Notes

Output Created		04-Jun-2015 09:55:26
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	3
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.
Syntax		<pre> PROBIT PersenHambat OF Max WITH Dosis /LOG 10 /MODEL PROBIT /PRINT FREQ CI /CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1). </pre>
Resources	Processor Time	00:00:00.921
	Elapsed Time	00:00:00.935

[DataSet0]

Warnings

Relative Median Potency Estimates are not displayed because there is no grouping variable in the model.

Data Information

		N of Cases
Valid		3
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	7	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a Dosis	-.177	.092	-1.931	.054	-.358	.003
Intercept	.388	.075	5.190	.000	.313	.462

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.219	1	.270 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

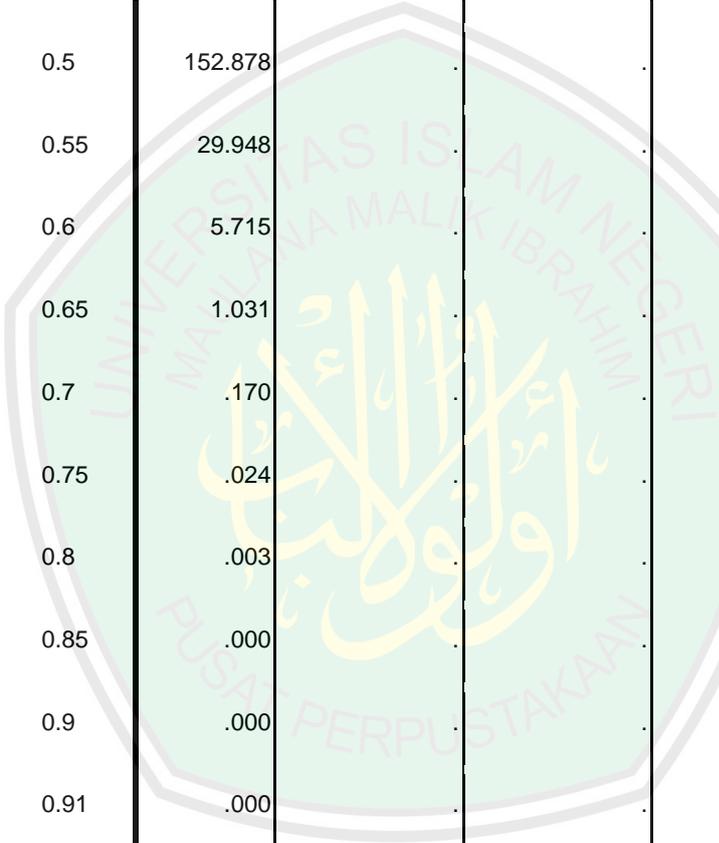
b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

	Number	Dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	-1.000	100	74	71.403	2.097	.714
	2	.000	100	61	65.088	-4.288	.651
	3	1.000	100	60	58.325	2.175	.583

Confidence Limits

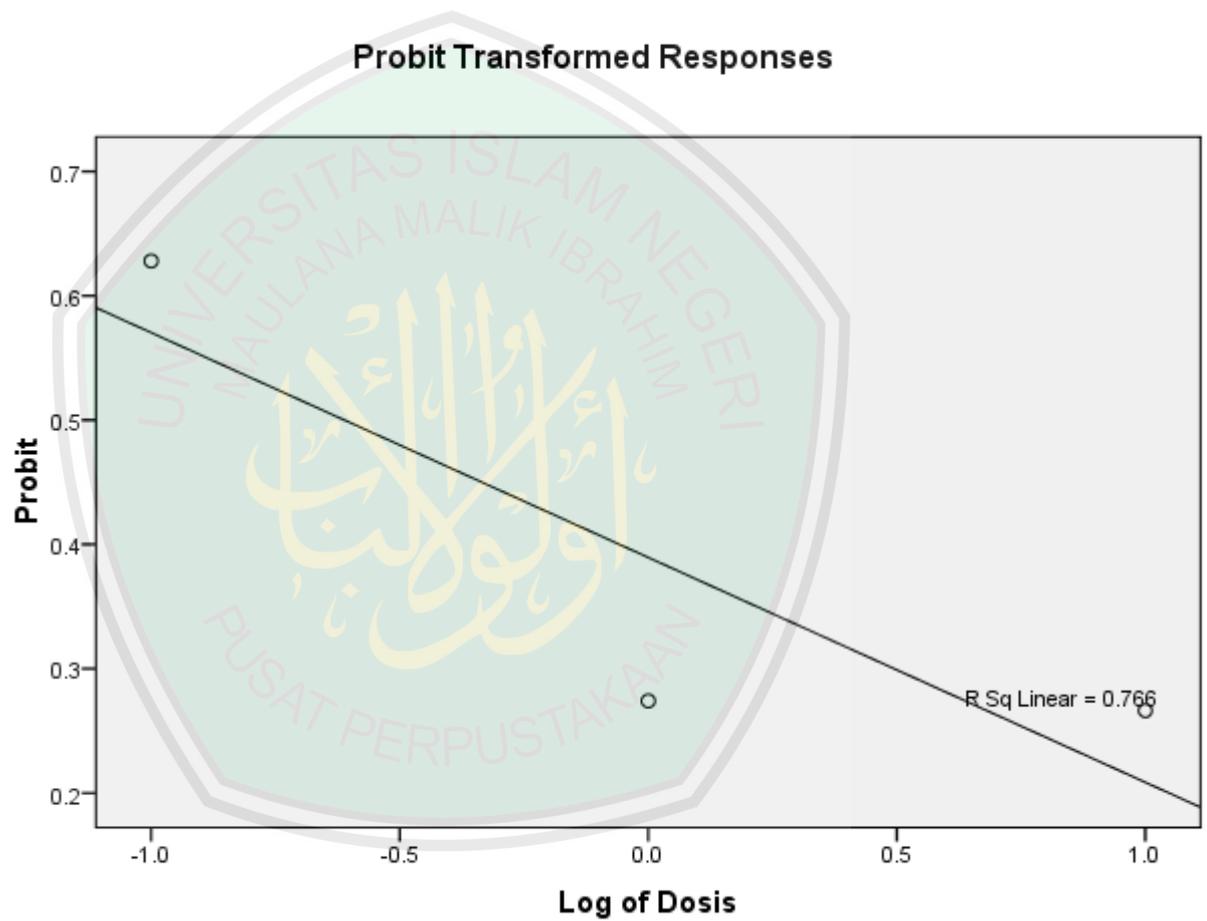
	Probability	95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	1.954E15	.	.	15.291	.	.
	0.02	5.690E13	.	.	13.755	.	.
	0.03	6.035E12	.	.	12.781	.	.
	0.04	1.116E12	.	.	12.048	.	.
	0.05	2.828E11	.	.	11.451	.	.
	0.06	8.789E10	.	.	10.944	.	.
	0.07	3.155E10	.	.	10.499	.	.
	0.08	1.260E10	.	.	10.101	.	.
	0.09	5.472E9	.	.	9.738	.	.
	0.1	2.539E9	.	.	9.405	.	.
	0.15	1.056E8	.	.	8.024	.	.



0.2	8.434E6	6.926
0.25	9.647E5	5.984
0.3	1.377E5	5.139
0.35	2.266E4	4.355
0.4	4.090E3	3.612
0.45	780.403	2.892
0.5	152.878	2.184
0.55	29.948	1.476
0.6	5.715	.757
0.65	1.031	.013
0.7	.170	-.770
0.75	.024	-1.616
0.8	.003	-2.557
0.85	.000	-3.655
0.9	.000	-5.036
0.91	.000	-5.369
0.92	.000	-5.732
0.93	.000	-6.130
0.94	.000	-6.575
0.95	.000	-7.083
0.96	.000	-7.679

0.97	.000	.	.	-8.412	.	.
0.98	.000	.	.	-9.386	.	.
0.99	.000	.	.	-10.922	.	.

a. Logarithm base = 10.



6.3.8 Perhitungan Nilai Rf

No.	Golongan Senyawa Aktif	Campuran Eluen	Jarak Tempuh Eluen (cm)	Jarak Tempuh Senyawa (cm)	Rf
1.	Terpenoid	n-Heksan : Etil Asetat (7 : 3)	8	0,5	0,06
				4	0,50
				4,6	0,58
				5,8	0,73
				6,3	0,79
				6,7	0,84
				7,2	0,90
				7,6	0,95
				7,9	0,99
		Benzena : Kloroform (3 : 7)	8	0,3	0,04
				0,5	0,06
				1,1	0,14
				1,7	0,21
				2,3	0,29
				2,8	0,35
				3,3	0,41
				3,8	0,48
				6,4	0,80
		n-Heksana : etil asetat (2 : 8)	8	6,7	0,84
				7	0,88
				7,3	0,91
				1,1	0,14
				2,1	0,26
				5,1	0,64
				6,8	0,85
		n-Heksan : Etil Asetat (1 : 1)	8	7,2	0,90
				7,7	0,96
				7,7	0,96
				7,7	0,96
				2	0,25
				4,4	0,55
		6,4	0,80		
		6,9	0,86		
		7,3	0,91		
		7,6	0,95		

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh eluen}}$$

1. Terpenoid

- a. Eluen n-Heksana : Etil Asetat (7 : 3)

$$R_f = \frac{0,5}{8} = 0,06$$

$$R_f = \frac{4}{8} = 0,5$$

$$R_f = \frac{4,6}{8} = 0,58$$

$$R_f = \frac{5,8}{8} = 0,73$$

$$R_f = \frac{6,3}{8} = 0,79$$

$$R_f = \frac{6,7}{8} = 0,84$$

$$R_f = \frac{7,2}{8} = 0,9$$

$$R_f = \frac{7,6}{8} = 0,95$$

$$R_f = \frac{7,9}{8} = 0,99$$

- b. Eluen n-heksana : etil asetat (1 : 4)

$$R_f = \frac{1,5}{8} = 0,19$$

$$R_f = \frac{5,4}{8} = 0,68$$

$$R_f = \frac{6,1}{8} = 0,76$$

$$R_f = \frac{7,2}{8} = 0,9$$

$$R_f = \frac{7,9}{8} = 0,99$$

- c. Eluen n-heksana : etil asetat (4 : 1)

$$R_f = \frac{1,5}{8} = 0,19$$

$$R_f = \frac{3,6}{8} = 0,45$$

- d. Eluen Kloroform : asam asetat(4 : 1)

$$R_f = \frac{1}{8} = 0,12$$

$$R_f = \frac{4,2}{8} = 0,52$$

$$R_f = \frac{7,9}{8} = 0,99$$

Lampiran 7 Nilai Transformasi Probit

%	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0	-	1.0098	2.1218	2.2522	2.3479	2.4242	2.4879	2.5427	2.5911	2.6344
1	2.6737	2.7096	2.7429	2.7736	2.8027	2.8299	2.8556	2.8799	2.9031	2.9251
2	2.9463	2.9965	2.3859	3.0046	3.02266	3.04	3.0569	3.0732	3.089	3.1043
3	3.1192	3.1337	3.1478	3.1616	3.175	3.1681	3.2009	3.2134	3.2256	3.2376
4	3.2493	3.2008	3.2721	3.2831	3.294	3.3046	3.3151	3.3253	3.3354	3.3454
5	3.3551	3.3648	3.3742	3.3836	3.3928	3.4018	3.4107	3.4195	3.4282	3.4368
6	3.4452	3.4536	3.4618	3.4699	3.478	3.4859	3.4937	3.5051	3.5001	3.5167
7	3.5242	3.5316	3.5389	3.5462	3.5534	3.5605	3.5675	3.5745	3.5813	3.55882
8	3.5949	3.6016	3.6083	3.6148	3.6213	3.6278	3.6342	3.6405	3.6468	3.6531
9	3.6502	3.6654	3.6715	3.6775	3.6835	3.6894	3.6953	3.7012	3.707	3.7127
10	3.7184	3.7241	3.7296	3.7354	3.7409	3.7464	3.7519	3.7574	3.7628	3.7281
11	3.7735	3.7788	3.764	3.7893	3.7945	3.7996	3.0048	3.6099	3.815	3.82
12	3.825	3.83	3.835	3.8395	3.8448	3.8497	3.8545	3.8593	3.8641	3.8689
13	3.8736	3.8783	3.883	3.6817	3.8923	3.8969	3.9015	3.9061	3.9107	3.9152
14	3.9197	3.9242	3.9266	3.9331	3.9375	3.9419	3.9463	3.95	3.955	3.9593
15	3.9636	3.9678	3.9721	3.9763	3.9806	3.9848	3.969	3.9931	3.9973	4.0014
16	4.0055	4.0096	4.0137	4.0178	4.0218	4.0259	4.0299	4.0039	4.0379	4.0419
17	4.0458	4.0498	4.0537	4.0576	4.0615	4.0654	4.0093	4.0731	4.077	4.0808
18	4.0846	4.0084	4.0922	4.096	4.0998	4.1035	4.1073	4.111	4.1147	4.1184
19	4.1221	4.1258	4.1295	4.1331	4.1367	4.1404	4.144	4.1476	4.1512	4.1546
20	4.1584	4.1619	4.1655	4.169	4.1726	4.1761	4.1796	4.1831	4.1866	4.1901
21	4.1936	4.197	4.2005	4.2039	4.2074	4.2108	4.2142	4.2176	4.221	4.2244
22	4.2278	4.2312	4.2345	4.2379	4.2412	4.2446	4.2479	4.2512	4.2546	4.2579
23	4.2612	4.2644	4.2677	4.271	4.2743	4.2775	4.2808	4.284	4.2872	4.29
24	4.2937	4.2969	4.3001	4.3033	4.3065	4.3097	4.3129	4.316	4.3192	4.3224
25	4.3255	4.3287	4.3318	4.3349	4.338	4.3412	4.3443	4.3474	4.3505	4.3536
26	4.3567	4.3597	4.3628	4.3659	4.3689	4.372	4.375	4.3781	4.3811	4.3842
27	4.3872	4.3902	4.3932	4.3962	4.3992	4.01022	4.4052	4.4082	4.4112	4.4142
28	4.4172	4.4201	4.4231	4.426	4.429	4.4319	4.4349	4.4378	4.44	4.4437
29	4.4466	4.4495	4.4524	4.4554	4.4583	4.4612	4.4641	4.467	44,696	4.4727
30	4.04756	4.4785	4.4813	4.4842	4.4871	4.4899	4.4928	4.4956	44,985	4.5013
31	4.5041	4.507	4.5098	4.5126	4.5155	4.5183	4.5211	4.5239	4.5267	4.5295
32	4.5323	4.5354	4.5379	4.5407	4.5436	4.5467	4.549	4.5518	4.5546	4.5573
33	4.5601	4.5628	4.5656	4.5684	4.5711	4.5738	4.5766	4.5793	4.5821	4.5848
34	4.5875	4.5903	4.593	4.5957	4.5984	4.6011	4.6039	4.6006	4.6093	4.612
35	4.6147	4.6174	4.6201	4.6288	4.6255	4.6281	4.6308	4.6335	4.8362	4.6389
36	4.6415	4.6442	4.6469	4.6495	4.6522	4.6549	4.6575	4.6602	4.6628	4.6865
37	4.6681	4.6708	4.6734	4.6761	4.6787	4.6814	4.684	4.6866	4.6893	4.6919
38	0.6945	4.6971	4.6998	4.7024	4.705	4.7076	4.7102	4.1129	4.1155	4.7181
39	4.7207	4.7233	4.7259	4.7285	4.7311	4.7337	4.7363	4.7389	4.7415	4.7441
40	4.7467	4.7492	4.7518	4.7544	4.757	4.7596	4.7622	4.7647	4.7673	4.1009
41	4.7725	4.775	4.7776	4.7802	4.7827	4.7853	4.7879	4.7904	4.193	4.7955
42	4.7981	4.8007	4.8032	4.8058	4.8083	4.8109	4.8134	4.816	4.8185	4.8211
43	4.8236	4.6262	4.8287	4.8313	4.8338	4.8363	4.8389	4.8414	4.844	4.8465
44	4.849	4.8516	4.8541	4.8566	4.8592	4.8617	4.8642	4.8568	4.8693	4.8718
45	4.8743	4.8769	4.8794	4.8819	4.8844	4.687	4.8895	4.692	4.8945	4.897
46	4.8996	4.9021	4.9046	4.9071	4.9096	4.9122	4.9147	4.9172	4.9197	4.9222
47	4.9247	4.09272	4.9298	4.9323	4.9348	4.9373	4.9398	4.9423	4.9448	4.9473
48	4.9498	4.9524	4.9549	4.9574	4.9599	4.9624	4.9649	4.9674	4.9699	4.9724

49	4.9749	4.9774	4.9799	4.9825	4.985	4.9875	4.99	4.9925	4.995	4.9975
50	5	5.0025	5.005	5.0075	5.01	5.0125	5.015	5.0175	5.0201	5.0226
51	5.0251	5.0276	5.0301	5.0326	5.0351	5.0376	5.0401	5.0426	5.0451	5.0476
52	5.0502	5.0527	5.0552	5.0577	5.0602	5.0627	5.0652	5.0077	5.0702	5.0728
53	5.0753	5.0778	5.0803	5.0828	5.0853	5.0878	5.0904	5.0929	5.0954	5.0979
54	5.1004	5.103	5.1055	5.108	5.1105	5.113	5.1156	5.1181	5.1206	5.1231
55	5.1257	5.1282	5.1301	5.1331	5.1358	5.1383	5.10108	5.1434	5.1459	5.1484
56	5.151	5.1535	5.156	5.1586	5.1611	5.1637	5.1662	5.1689	5.1713	5.1738
57	5.1764	5.1789	5.1815	5.184	5.1866	5.1891	5.1917	5.1942	5.1968	5.1993
58	5.2019	5.2045	5.207	5.2096	5.2121	5.2147	5.2173	5.2198	5.2224	5.225
59	5.2275	5.2301	5.2327	5.2353	5.2378	5.2404	5.243	5.2456	5.2482	5.2508
60	5.2533	5.2559	5.2585	5.2611	5.2637	5.2666	5.2689	5.2715	5.2741	5.2767
61	5.2793	5.2819	5.2845	5.2871	5.2898	5.2924	5.295	5.2976	5.3002	5.3029
62	5.3055	5.3081	5.3107	5.3134	5.316	5.3186	5.3213	5.3239	5.3266	5.3292
63	5.3319	5.3345	5.3372	5.3398	5.3425	5.3451	5.3478	5.3505	5.3531	5.3558
64	5.3565	5.3611	5.363&	5.3665	5.3692	5.3719	5.3745	5.3772	5.3799	5.3826
65	5.3853	5.388	5.3007	5.3934	5.3961	5.3989	5.4016	5.4043	5.407	5.4097
66	5.4125	5.4152	5.4179	5.4207	5.4234	5.4261	5.4289	5.4316	5.4344	5.4372
67	5.4399	5.4427	5.4454	5.4482	5.451	5.4538	5.4565	5.4693	5.4621	5.4649
68	5.4677	5.4705	5.4733	5.4761	5.4789	5.4817	5.4845	5.4874	5.4002	5.493
69	5.4959	5.4987	5.5015	5.5044	5.5072	5.5101	5.5129	5.5158	5.5187	5.5215
70	5.5244	5.5273	5.5302	5.533	5.5359	5.5388	5.5417	5.5446	5.5476	5.5505
71	5.5534	5.5563	5.5592	5.5622	5.5651	5.5681	5.571	5.574	5.5769	5.5799
72	5.5828	5.5858	5.5888	5.5918	5.5948	5.5978	5.0008	5.6038	5.6068	5.6096
73	5.6128	5.6158	5.6189	5.6219	5.625	5.628	5.6311	5.6341	5.6372	5.6403
74	5.6433	5.6464	5.6495	5.6526	5.6557	5.6568	5.662	5.6651	5.6682	5.6713
75	5.6745	5.6776	5.6808	5.684	5.6871	5.6903	5.6935	5.6967	5.6999	5.7031
76	5.7063	5.7095	5.7128	5.716	5.7192	5.7225	5.7257	5.729	5.7323	5.7356
77	5.7388	5.7421	5.7454	5.7488	5.7521	5.7554	5.7588	5.7621	5.7655	5.7688
78	5.7722	5.7756	5.779	5.7824	5.7858	5.7892	5.7926	5.7961	5.7995	5.803
79	5.8064	5.8099	5.8134	5.8169	5.8204	5.8239	5.8274	5.831	5.8345	5.8381
80	5.8416	5.8452	5.8488	5.8524	5.856	5.8596	5.8633	5.8669	5.8705	5.8742
81	5.8779	5.8816	5.8853	5.889	5.8927	5.8965	5.9002	5.904	5.9078	5.9116
82	5.9154	5.9192	5.923	5.9269	5.9307	5.9346	5.9385	5.9424	5.9463	5.9502
83	5.9542	5.9581	5.9621	5.9661	5.9701	5.9741	5.9782	5.9822	5.9863	5.9904
84	5.9945	5.9986	6.0027	6.0069	6.011	6.0152	6.0194	6.0237	6.0279	6.0312
85	6.0364	6.0407	6.045	6.0494	6.0537	6.0581	6.0625	6.0669	6.0714	6.0758
86	6.0803	6.0848	6.0893	6.0939	6.0985	6.1031	6.1077	6.1123	6.117	6.1217
87	6.1264	6.1311	6.1359	6.1407	6.1455	6.1503	6.1552	6.1601	6.165	6.17
88	6.175	6.18	6.185	6.1901	6.1952	6.2004	6.2055	6.2107	6.216	6.2212
89	6.2265	6.2319	6.2372	6.2428	6.2481	6.2536	6.2591	6.2646	6.2702	6.2759
90	6.2816	6.2873	6.293	6.2988	6.3047	6.3106	6.3165	6.3225	6.3285	6.3346
91	6.3408	6.3469	6.3532	6.3595	6.3658	6.3722	6.3787	6.3852	6.3917	6.3984
92	6.4001	6.4118	6.4187	6.4255	6.4325	6.4395	6.4466	6.4538	6.4611	6.4684
93	6.4758	6.4833	6.49	6.4985	6.5063	6.5141	6.522	6.5301	6.5382	6.5464
94	6.5648	6.5632	6.5718	6.5005	6.5893	6.5982	6.6072	6.6164	6.6256	6.6352
95	6.6449	6.6546	6.6646	6.6747	6.6849	6.6954	6.706	6.7169	6.7279	6.7392
96	6.7507	6.7624	6.7744	6.7866	6.7991	6.8119	6.825	6.8384	6.8522	6.8663
97	6.8808	6.8957	6.911	6.9268	6.9431	6.96	6.9774	6.9954	7.0741	7.0335
98	7.2537	7.0749	7.096S	7.1201	7.1444	7.1707	7.1973	7.2262	7.2571	7.2904
99	7.3263	7.3656	7.4087	7.4571	7.512	7.5758	7.652	7.7478	7.8782	8.0902

Lampiran 8 Dokumentasi

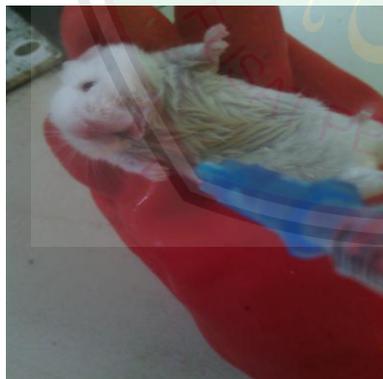
Analisis Kadar Air Sampel Basah

Proses Saat Akan di *Shaker*

Proses Penyaringan Maserasi



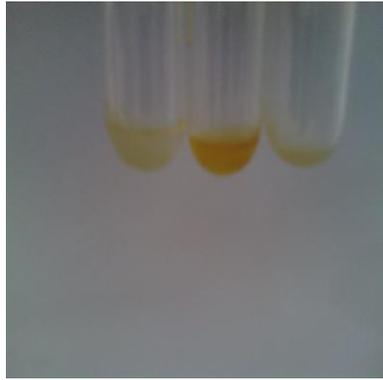
Rotav Hasil Maserasi



Pemberian Dosis Perlakuan



Pembedahan Mencit Donor



Hasil Fitokimia Alkaloid



Hasil Fitokimia Flavonoid



Hasil Fitokimia Tanin



Hasil Fitokimia Triterpenoid



Proses KLT