

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ETANOL DAN FRAKSI
N-HEKSANA TANAMAN RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.)
SEBAGAI ANTIMALARIA PADA PARASIT *Plasmodium falcifarum*
STRAIN 3D7**

SKRIPSI

Oleh:
ELLA WULANDARI
NIM. 12630073



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ETANOL DAN FRAKSI
N-HEKSANA TANAMAN RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B.)
SEBAGAI ANTIMALARIA PADA PARASIT *Plasmodium falcifarum*
STRAIN 3D7**

SKRIPSI

Oleh:
ELLA WULANDARI
NIM. 12630073

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
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ETANOL DAN FRAKSI
N-HEKSANA TANAMAN RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B)
sebagai ANTIMALARIA PADA PARASIT *Plasmodium Falciparum*
STRAIN 3D7**

SKRIPSI

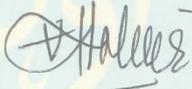
Oleh:
ELLA WULANDARI
NIM. 12630073

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 24 Januari 2017

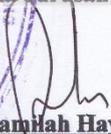
Pembimbing I


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

Pembimbing II


Nur Aini, M.Si
NIP. 19840608 20160801 2 070

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia


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

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ETANOL DAN FRAKSI
N-HEKSANA TANAMAN RUMPUT BAMBU (*Lophaterum gracile* B)
sebagai ANTIMALARIA PADA PARASIT *Plasmodium Falciparum*
STRAIN 3D7**

SKRIPSI

Oleh:
ELLA WULANDARI
NIM. 12630073

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 27 Desember 2017

Penguji Utama	: Akyunul Jannah, S.Si.,M.P NIP. 19750410200501 2 009	(.....)
Ketua Penguji	: Roihatul Muti'ah, M. Kes.,Apt NIP. 19800203200912 2 003	(.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Anggota Penguji	: Nur Aini, M.Si NIP. 19840608 20160801 2 070	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



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

LEMBAR PERSEMBAHAN

الحمد لله على كل حال و نعمة

**Rasa syukur atas rahmad dan karunia
tehadap Allah SWT. sehingga dapat penyelesaian
skripsi ini**

Skripsi ini kupersembahkan kepada

**Orang tua tercinta Ayah dan Ibu, sebagai baktiku atas
limpahan kasih sayang, motivasi dan doa selama ini**

Kedua adikku dan seluruh keluarga besar tercinta

**Dosen pembimbing/konsultan dan semua dosen yang
mendidik selama berada belajar di kampus UIN
Malang**

**Calon suami tercinta yang masih dalam do'a
untuk teman-teman tercinta (angkatan Kimia 2012) dan
untuk semua teman**

saya ucapakan

شكر جزا كم الله خيرا كثير

MOTTO

HASIL TIDAK AKAN MENGHLANATI

USAHA

(siapa pun yang berusaha akan menemukan jalan)

من جد و جد

“Barang siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil”



SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ella Wulandari
NIM : 13630073
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol Dan Fraksi N-Heksana
Tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum Gracile* B.) Sebagai
Antimalaria Pada Parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7

Menyatakan dengan sebenar-benarnya 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 pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 Januari 2017
Yang Membuat Pernyataan,



Ella Wulandari
NIM.12630073

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Puji syukur bagi Alla SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Karunia, serta Taufik dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir (skripsi) yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol Dan Fraksi N-Heksana Tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum Gracile* B.) Sebagai Antimalaria Pada parasit *Plasmodium Falciparum* Strain 3D7” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Penulis menyadari bahwa dalam laporan hasil penelitian ini masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak terlepas dari segala pilik yang telah membantu. Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir (skripsi). Penulis sadar bahwa tidaklah mudah menyelesaikan tugas akhir (skripsi) ini tanpa bantuan, pengarahan, bimbingan dan motivasi khususnya kepada :

1. Kedua orang tua, serta saudara-saudaraku telah memberi kasih sayang, nasihat, do'a dan dukungan moril maupun material hingga selama ini, sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul M. drh, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing yang telah meluangkan banyak waktu untuk

membimbing, memberikan saran, serta motivasi yang membangun dan sangat bermanfaat bagi penulis.

5. Ibu Roihatil selaku konsultan yang telah membrtikan banyak saran dan informasi yang dapat membangun dan bermanfaat.
6. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang atas segala ilmu dan bimbingannya.
7. Seluruh staf administrasi dan laboran atas bantuan dan layanan dalam melaksanakan.
8. Teman-teman Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang khususnya kelas Kimia C yang telah memberi dukungan.
9. Kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir (skripsi) secara langsung maupun tidak langsung.

Penyusun menyadari dalam penulisan tugas akhir masih terdapat banyak kekurangan. Degan segalam keterbatasan dan kemampuan, penyusun memengharapkan semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat oleh semua pihak.

Malang, 24 Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
LEMBAR PENYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam	8
2.2 Tanaman Rumpun Bambu	10
2.2.1 Manfaat Tanaman Rumpun Bambu.....	11
2.2.2 Kandungan Senyawa Kimia.....	11
2.3 Penyakit Malaria	12
2.3.1 Siklus Hidup Parasit Malaria	12
2.3.2 Siklus Aseksual	13
2.3.3 Siklus Seksual	13
2.3.4 <i>Plasmodium falcifarum</i>	14
2.4 Metode Pemisahan Senyawa Aktif	15
2.4.1 Ekstraksi Maserasi	17
2.4.2 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)	19
2.4.3 Pemekatan Ekstrak Menggunakan <i>Rotary Evaporator</i> <i>Vacuum</i>	19
2.5 Senyawa Aktif Malaria	20
2.5.1 Alkaloid	20
2.5.2 Triterpenoid/ Steroid	23
2.5.3 Flavonoid	25
2.5.4 Santon	27
2.5.5 Tanin.....	28
2.5.6 Saponin	30
2.6 Instrumentasi LC-MS (<i>Liquid Chromatography- Mass Spectra</i>).....	31
BAB III METODOLOGI	34
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	34
3.2 Alat dan Bahan	34
3.2.1 Alat	34

3.2.2 Bahan	34
3.3 Rancangan Penelitian	35
3.4 Tahapan Penelitian	36
3.5 Pelaksanaan Penelitian	37
3.5.1 Uji Taksonomi Rumput Bambu	37
3.5.2 Preparasi Sampel	37
3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	37
3.5.4 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen	38
3.5.4.1 Uji Flavonoid	38
3.5.4.2 Uji Alkaloid	39
3.5.4.3 Uji Saponin	39
3.5.4.4 Uji Tanin	40
3.5.4.5 Uji Triterpenoid dan Steroid	40
3.5.5 Prosedur Uji Aktivitas Antimalaria <i>in vitro</i>	40
3.5.5.1 Thawing Parasit	40
3.5.5.2 Monitoring Kultur	41
3.5.5.3 sinkronisasi Parasit	42
3.5.5.4 Persiapan Suspensi Parasit	42
3.5.5.5 Persiapan Bahan Uji	42
3.5.5.6 Uji Aktivitas Antimalaria	43
3.5.6 Identifikasi Senyawa dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS	44
3.5.6.1 Preparasi Eluen pada UPLC/DAD	44
3.5.6.2 Penyuntikan Sampel pada HPLC/DAD	44
3.5.6.3 Identifikasi Senyawa dengan HPLC/ DAD/ ESI/ ToF/MS	45
3.6 Analisi Data	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Uji Taksonomi	46
4.2 Preparasi Sampel	47
4.3 Ekstraksi dengan Metode Maserasi dan Partisi	47
4.4 Uji Fitokimia Senyawa dengan Reagen	49
4.4.1 Tanin	50
4.4.2 Triterpenoid	51
4.4.3 Steroid	52
4.5 Hasil Uji Aktivitas Antimalaria In Vitro	53
4.6 Identifikasi Senyawa dengan UPLC/QToF/MS/MS System (<i>Water</i>)	59
4.7 Pemanfaatan Tanaman Rumput Bambu Sebagai Obat dalam Perspektif Islam	66
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	71
5.2 Saran	71
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat Fisika	16
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen	50
Tabel 4.2 Hasil Uji Antimalaria	56
Tabel 4.3 Nilai IC ₅₀ Uji Aktivitas Antimalaria Tanaman Rumput Bambu	58
Tabel 4.4 Senyawa Dugaan	61



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Rumput Bambu	10
Gambar 2.2 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	14
Gambar 2.3 <i>Rotary Evaporator Vacuum</i>	19
Gambar 2.4 Struktur Senyawa Alkaloid	21
Gambar 2.5 Struktur Turunan senyawa Alkaloid	22
Gambar 2.6 Reaksi Alkalod dengan penambahan Reagen	23
Gambar 2.7 Struktur Senyawa Triterpenoid	23
Gambar 2.8 Struktur Turunan Senyawa Triterpenoid	23
Gambar 2.9 Struktur Senyawa Steroid	24
Gambar 2.10 Reaksi fruktosa dan Reagen Lieberman-Burchard	25
Gambar 2.11 Struktur Senyawa Flavonoid	25
Gambar 2.12 Reaksi Flavonoid dan Logam Mg dan HCl	27
Gambar 2.13 Struktur Turunan Senyawa Steroid	28
Gambar 2.14 Struktur Senyawa Tanin	29
Gambar 2.15 Koordinasi Tanin	30
Gambar 2.16 Struktur Senyawa Saponin	30
Gambar 2.17 Reaksi Dugaan Uji Saponin	31
Gambar 4.1 Tanaman Rumput Bambu	46
Gambar 4.2 Koordinasi Tanin.....	51
Gambar 4.3 Reaksi Senyawa Triterpenoid.....	52
Gambar 4.4 Reaksi Senyawa Steroid	55
Gambar 4.5 Uji Antimalaria.....	55
Gambar 4.6 Grafik Persen Penghambatan	58
Gambar 4.7 Kromatogram UPLC	57
Gambar 4.8 Spektra Massa Puncak 1.....	61
Gambar 4.9 Struktur Puncak 1	62
Gambar 4.10 Spektra Masaa Puncak 2	64
Gambar 4.11 Struktur Puncak 2	64
Gambar 4.12 Spektra Masaa Puncak 3	65
Gambar 4.13 Struktur Puncak 3	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	78
Lampiran 2. Skema Kerja	79
Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen	88
Lampiran 4. Perhitungan Hasil Penelitian	93
Lampiran 5. Dokumentasi.....	106



ABSTRAK

Wulandari, E. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol Dan Fraksi N-Heksana Tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum Gracile* B.) Sebagai Antimalaria Pada parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si.

Kata Kunci : Tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum Gracile* B.), *Plasmodium falcifarum*, Antimalaria, *Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy* (LC-MS)

Malaria merupakan penyakit inveksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium falcifarum* yang ditularkan pada manusia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak kasar etanol dan fraksi n-heksana tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum Gracile* B.) sebagai antimalaria pada parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7. Parasit yang digunakan mempunyai sifat sensitif terhadap klorokuin.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan etanol 80 %, fraksinasi n-heksana. Ekstrak etanol dan fraksi n-heksana diuji fitokimia dan dilakukan uji aktivitas antimalaria terhadap parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7. Selanjutnya, Identifikasi pada fraksi n-heksana menggunakan instrument *Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy* (LC-MS).

Berdasarkan uji fitokimia ekstrak kasar etanol dan fraksi rumput bambu mengandung senyawa triterpenoid, steroid dan tanin. Uji aktivitas antimalaria ekstrak kasar etanol pada konsentrasi 1-10 $\mu\text{g/mL}$ mampu menghambat pertumbuhan parasit sebesar 23,90-39,49 %, dan fraksi n-heksana pada konsentrasi 1-10 $\mu\text{g/mL}$ mampu menghambat pertumbuhan parasit sebesar 15,69-25,95%. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} ekstrak kasar etanol dan fraksi n-heksana tanaman Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* B) sebesar 12,49 $\mu\text{g/mL}$ dan 61,49 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji fraksi n-heksana menggunakan LC-MS diduga senyawa mengandung Steroid dan Tanin.

ABSTRACT

Wulandari, E. 2017. Activity Test Ethanol Crude Extract And N-Hexane fraction Bamboo Grass (*Lophatherum gracile* B.) As antimalarial in parasite *Plasmodium falciparum* Strain 3D7. Essay. Chemistry Department, Faculty of Science and Technology University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor of Religion: Nur Aini M. Si; Consultant: Roihatul Mut'tiah, M.Kes.,Apt.

Key Word : Bamboo grass (*Lophatherum gracile* B.), *Plasmodium falciparum*, Antimalarial Test, *Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy* (LC-MS).

Malaria is an infectious disease by parasite *Plasmodium falciparum*, which is transmitted to humans. This study was conducted to identification potential of ethanol crude extract and n-hexane fraction bamboo grass (*Lophatherum gracile* B.) as an antimalarial parasite *Plasmodium falciparum* Strain 3D7. Fraction of n-hexana which instrument *Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy* (LC-MS).

Extration metod is maxeration. Result of extraction maseration 80% ethanol and partitioned with n-hexana tested phytochemical and test antimalarial activity in *Plasmodium falciparum* strain 3D7. Next, identification n-hexane fraction used instruments *Liquid Chromatography - Mass Spectroscopy* (LC-MS).

Based on the results of a test of phytochemical extract and faction of grass bamboo the compound containing Triterpenoid, Steroid and tannin. Test antimalarial activity of extract ethanol at a concentration of 1-10 mg / mL could inhibit parasite growth of 23.90 to 39.49%, and the fraction of n-hexane at a concentration of 1-10 mg / mL could inhibit parasite growth of 15.69 to 25.95%. IC50 values of extract ethanol and fraction n-hexane bamboo grass (*Lopatherum gracile* B) of 12.49 mg / mL and 61.49 mg / mL. The results identification fraction n-hexana which instrument *Liquid Chromatography – Mass Spectroscopy* (LC-MS) there are compound Steroid and Tannin.

ملخص

ولانداری، إ. 2017. اختبار الانشطة من الاستخراج الخام الإيثانول وجزء ن-الهكسان النباتات العشب الخيزران (*Lophaterum Gracile B.*) كالمضادة للملاريا في الطفيلي فلاموديوم فالجيفاريوم *Plasmodium falcifarum* 73د. بحث جامعي. شعبة الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: إيلوك كاملة حياتي، الماجستير. المشرفة الثانية: نور العيني، الماجستير

كلمات الرئيسية: النباتات العشب الخيزران (*Lophaterum Gracile B.*) ، فلاموديوم فالجيفاريوم، واختبار الأدوية المضادة للملاريا، السائل كروموتوكرافي (*Mass Spectroscopy*(Chromatograpy) (Lc-ms)

الملاريا هو مرض معد يسببه طفيل فلاموديوم فالجيفاريوم الذي ينتقل إلى البشر. وقد أجريت هذه الدراسة لتحديد إمكانية استخراج النفط الخام الإيثانول وكسور ن الهكسان نبات العشب الخيزران *Lophaterum Gracile B.* كالمضادة للملاريا في الطفيلي فلاموديوم فالجيفاريوم *Plasmodium falcifarum* 73د. تم تحليل جزء ن-الهكسان بواسطة أداة السائل *Chromatograpy* السائل كروموتوكرافي - *Mass Spectroscopy* (Lc-ms).

طريقة استخراج المستخدم هو استخراج النقع المذيبات مع الإيثانول يعني 80٪، تجزئة ن الهكسان. استخراج الإيثانول وجزء ن الهكسان تختبر النبات الكيميائي وتختبر النشاط المضادة للملاريا النباتي واختبار ضد فلاموديوم فالجيفاريوم *Plasmodium falcifarum* 73د وعلاوة على ذلك، وتحديد جزء ن الهكسان باستخدام أداة السائل كروموتوكرافي (*Lc-ms Mass Spectroscopy*(Chromatograpy) القائم على الاختبار النباتي الكيميائي الاستخراج الخام الإيثانول والجزء العشب الخيزران تحتوي على مركب تريترينويد triterpenoid ، والستيريد والتانين. واختبار النشاط المضادة للملاريا استخراج النفط الخام الإيثانول في تركيز 1-10 ملغ / مل يمكن أن يمنع نمو الطفيليات من 23،49،90،39٪، وجزء من ن الهكسان بتركيز 1-10 ملغ / مل يمكن أن يمنع نمو الطفيل بنسبة 15،69-95،25٪، بحيث قيم IC50 التي تم الحصول عليها القيمة IC50 استخراج النفط الخام الإيثانول وجزء ن-الهكسان من نبات العشب الخيزران (*Lopatherum gracile B*) على التوالي 12.49 ملغ / مل و 61.49 ملغ / مل. نتائج الاختبار باستخدام LC-MS يزعم مركبات تحتوي على الستيريد وتانين

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium falciparum* yang ditularkan pada manusia (WHO, 2008). Malaria adalah salah satu masalah kesehatan di Indonesia yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok anak-anak bayi, balita, dan ibu hamil, gigitan nyamuk *anopheles* malaria juga dapat mengakibatkan anemia dan menurunkan produktivitas kerja (Direktorat PPBB, 2011). Pada tahun 2010 diperkirakan terdapat 216 juta kasus akibat malaria diseluruh dunia, diantaranya dengan tingkat kematian 655.000 orang. 91% kematian diwilayah Afrika, diikuti oleh Asia Tenggara, Indonesia merupakan tingkat ketiga tertinggi kasus akibat malaria, sebesar 229.819 kasus. Jumlah kematian sebesar 432 jiwa (WHO, 2012).

Salah satu kendala dalam penanganan malaria adalah adanya resisten terhadap obat antimalaria yang digunakan (Tjitra, 1994). Klorokuin merupakan obat antimalaria Timbulnya resistensi terhadap *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap obat tersebut. Dapat mendorong para peneliti untuk mencari obat antimalaria baru yang dapat menggantikan obat antimalaria yang tidak efektif lagi. Salah satu usaha yang dilakukan adalah dengan melakukan penelitian terhadap obat-obat tradisional yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang dipercayai masyarakat dapat menyembuhkan penyakit (Depkes RI dalam Jefry).

Allah SWT. telah menciptakan alam semesta, semua yang diciptakan di muka bumi ini merupakan tanda-tanda kebesaran dan keagungan Allah SWT, agar makhluk ciptakaan-Nya senantiasa tunduk dan patuh kepada-Nya. Sesungguhnya

Allah tidak akan menciptakan sesuatu tanpa makna dan arti. Akan tetapi, Allah menciptakan setiap sesuai dengan hikmah-hikmah tertentu. Sebagaimana yang terkandung dalam hadits berikut . (HR. Al-Bukhari dan Muslim).

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Tidaklah Allah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya.” (HR. Al-Bukhari dan Muslim).

Hadist di atas menunjukkan bahwa Allah Maha Adil yang menciptakan suatu penyakit beserta obatnya, Allah menciptakan berbagai tumbuhan yang baik di bumi untuk kemaslahatan umat manusia, salah satunya adalah tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat berbagai penyakit merupakan anugerah dari Allah SWT yang harus dipelajari seperti halnya sabda Nabi Muhammad SAW, dapat dibuktikan dengan ilmu pengetahuan. Pembuktiaan dalam ilmu pengetahuan yang telah dilakukan penelitian tentang kegunaan tanaman terhadap berbagai jenis penyakit.

Rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan. Tanaman yang tumbuh liar di berbagai tempat seperti di tempat yang agak rindang, terbuka, pada tanah yang agak lembab dan lereng bukit. Tumbuh pada ketinggian tempat dari 200-1.500 m. Tumbuhan ini merupakan gulma pada tanaman perkebunan (Rahmi, 2012). Nilai ekonomi dari tanaman ini dapat ditingkatkan dengan memanfaatkannya sebagai bahan pengobatan.

Tanaman rumput bambu dipilih sebagai sebagai sampel yang diteliti, karena bagian keseluruhan bagian rumput bambu sudah didapatkan dan pertumbuhannya terhindar dari penyakit yang menyebabkan virus maupun penyakit. Identifikasi yang dilakukan Jing (2009) menemukan adanya 14 kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun rumput bambu selain flavonoid dan triterpenoid. Hasil penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Kusumawati (2003) menyatakan bahwa rumput bambu mengandung beberapa metabolit sekunder dari uji fitokimia yaitu flavonoid di daun dan steroid atau triterpenoid pada akar. Penelitian selina menyatakan uji fitokomia ekstrak daun rumput bambu dengan etanol 80% terdapat senyawa tanin, alkaloid dan triterpenoid sedangkan ekstrak n-heksana mengandung senyawa steroid. Hilda (2014) menyebutkan metabolit sekunder yang terkandung dalam akar rumput bambu adalah alkaloid dan steroid.

Hilda (2014) meneliti tentang toksisitas akar rumput bambu yang dinyatakan dengan LC_{50} yang artinya dengan konsentrasi tertentu dapat menyebabkan kematian 50% pada hewan uji. Nilai LC_{50} pada masing-masing pelarut etanol 80%, dan n-heksana sebesar 88,42 ppm, dan 81,61 ppm. Rendahnya nilai LC_{50} pada ekstrak n-heksana akar rumput bambu menunjukkan toksisitas tinggi.

Penelitian Selina menyatakan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol dan n-heksana, dan etanol 80% daun rumput bambu secara berturut-turut adalah 25,2189 dan 90,7896 ppm. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% merupakan ekstrak yang bersifat sangat toksik dan ekstrak n-heksana bersifat toksik, sehingga ketiga ekstrak tersebut sangat berpotensi digunakan sebagai bahan aktif antimalaria. Penelihan Rohmaniyah (2016) menyatakan bagian rumput bambu secara keseluruhan mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel adalah

ekstrak etanol 80 % sebesar 54,904 % (400 ppm), fraksi n-heksana 38,18 % (200 ppm) dan ekstrak etanol hasil hidrolisis 29,228% (400 ppm). Ekstrak etanol 80 % memiliki kemampuan sebagai antioksidan paling besar bila dibandingkan dengan n-heksana, diduga karena kandungan senyawa tanin dan steroid pada ekstrak tersebut.

Banyak senyawa-senyawa alam yang berhasil diisolasi dan dibuktikan aktivitas antiplasmodium baik secara *in-vitro* maupun secara *in-vivo*. Senyawa-senyawa yang terdapat didalam metabolit sekunder golongan alkaloid, tepen, flavonoid, lomonoid, kalkon, peptide, xanton, kuinon, kumarin, dan beberapa obat antimalaria bahan alam lainnya.(Kaur et al- dalam mustofa, 2009). Berbagai senyawa flavonoid dan terpenoid telah dilaporkan aktif sebagai antimalaria (saxena, al, 2003). Pada penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa senyawa aktif terpenoid dan flavonoid merupakan senyawa aktif pada daun *T. deversifolia* yang dapat berperan sebagai aktivitas antimalaria.

Beberapa senyawa metabolit sekunder telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria, beberapa diantaranya adalah alkaloid, sesquiterpen, triterpenoid, dan flavonoid. Senyawa aktif tannin, alkaloid, dan steroid menunjukkan bahwa pada ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting (*Acalypha indica L.*) dapat memperlambat pertumbuhan *Plasmodium berghie* pada dosis 0,01 mg/g BB sebesar 87,19 %, pada dosis 0.1 mg/g BB sebesar 84,9 % dan pada dosis 1 mg/g BB sebesar 90,94 % (Hayati,dkk.2012). Penelitian Ariantari *et al.*(2012), menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun murbei memiliki kandungan flavonoid, glikosida dan triterpenoid serta aktif sebagai antimalaria pada uji *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7, dengan nilai IC_{50} sebesar 0,02 $\mu\text{g/mL}$. Beberapa tanaman dari Moraceae juga

telah dilaporkan aktif sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa flavonoid terpenilasi dari ekstrak tanaman *Artocarpus champeden* Spreng (Moraceae) menunjukkan aktivitas antimalaria yang potensi secara *in vitro* (Widyawaruyanti et al., 2007 dalam Aurora 2012).

Senyawa-senyawa yang terdapat di dalam tumbuhan rumput bambu (*L. Gracia B.*) yang salah satu senyawa aktif dalam tumbuhan tersebut merupakan metabolit sekunder yang dapat berpotensi sebagai antimalaria, salah satunya flavonoid, steroid, tannin, alkaloid dst. Potensi metabolit sekunder tersebut telah dilaporkan mempunyai akitivitas sebagai antimalaria. Sehingga perlu dilakukan percobaan pada tumbuhan rumput bambu untuk mengetahui aktivitas sebagai antimalaria.

Penelitian akan dilakukan pemisahan senyawa aktif rumput bambu dengan metode ekstraksi menggunakan etanol 80%. Ekstrak yang didapatkan akan dilalukan ekstraksi lagi dengan metode fraksinasi. Tujuan fraksinasi untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Djarwis, 2004). Pengujian dengan menggunakan parasit *Plasmodium falciparum* karena merupakan parasit yang sering ditemukan dan adanya infeksi terhadap klorokuin. Metode yang dilakukan oleh Treger dan Jensen (Trager W & Jansen J. 1976). Identifikasi senyawa dilakukan menggunakan Instrumentasi LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy*).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antimalaria dari ekstrak kasar etanol dan fraksi n-heksana rumput bambu pada parasit *Plasmodium falciparum*?

2. Jenis senyawa apa yang terdapat fraksi n-heksana tanaman rumput bambu (*Lophatorium Gracia B.*) secara keseluruhan berdasarkan identifikasi dengan LC-MS?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antimalaria dari ekstrak kasar etanol dan fraksi n-heksana rumput bambu pada parasit *Plasmodium falciparum*?
2. Untuk mengetahui jenis senyawa apa yang terdapat pada fraksi n-heksana tanaman rumput bambu (*Lophatorium Gracia B.*) secara keseluruhan berdasarkan identifikasi dengan LC- MS?

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel rumput bambu diambil dari daerah Batu.
2. Bagian rumput bambu yang diekstrak adalah keseluruhan.
3. Parasit yang digunakan adalah *Plasmodium falciparum*.
4. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol.
5. Hasil ekstrak kasar etanol dipartisi dengan n-heksana

1.5 Manfaat Penelitian

1. Dapat memberikan informasi pada lembaga akademis tentang pelarut terbaik yang digunakan dalam mengekstrak golongan senyawa antimalaria yang mempunyai aktivitas tertinggi pada ekstrak kasar keseluruhan rumput bambu.
2. Dapat memberikan informasi akademik kepada masyarakat tentang manfaat daun rumput bambu bagi kesehatan yaitu sebagai antimalaria.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Tuhan yang memiliki banyak sekali manfaat. Tumbuh-tumbuhan menghasilkan beberapa zat yang bisa dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya, misalnya, vitamin, minyak, obat dan masih banyak lainnya. Al-Quran menyebutkan tentang tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS.Thaha : 53 yaitu :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

“Bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS.Thaha : 53).”

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah bahwa aneka tumbuhan dengan bermacam jenis penciptaan yang luar biasa merupakan bentuk pembuktian keagungan atas kekuasaan-Nya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber kebutuhan manusia yang memberikan manfaat salah satunya digunakan sebagai tanaman obat.

Tumbuhan herbal merupakan tumbuhan obat yang sangat berguna untuk membuang lemak dan racun-racun dalam tubuh manusia. Produk tumbuhan herbal banyak digunakan oleh kedokteran untuk mengurangi lemak berlebih penyebab

obesitas dan menyembuhkan berbagai penyakit. Banyak tumbuhan yang dimanfaatkan pada zaman Rasulullah SAW. Beberapa tumbuhan herbal yang sering digunakan oleh Rasulullah SAW, yang bermanfaat untuk menyembuhkan beberapa penyakit antara lain jintan hitam, kurma, delima, bawang putih dan berbagai jenis tanaman lainnya (Barazing, 2007).

Sesungguhnya Allah tidak akan menciptakan sesuatu tanpa makna dan arti. Akan tetapi, Allah menciptakan setiap sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Sebagaimana yang terkandung dalam hadits berikut (diriwayatkan oleh An-nasai, Ibnu Majah dan Rijalnya tisqat):

أَنَّ اللَّهَ لَمْ يُنَزِّلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً عَمِلَهُ مَنْ عِلِمَهُ جَهْلَهُ مَنْ جَهْلَهُ

“Sesungguhnya Allah tidak menurunkan satu penyakit, kecuali Dia menurunkan obat penyembuhannya; obat penyakit diketahui bagi yang mengetahui, dan tidak diketahui bagi orang yang jahil”.

Tanaman obat sebenarnya bukanlah merupakan hal yang baru. Sejak terciptanya manusia di permukaan bumi, telah diciptakan pula alam sekitarnya mulai dari itu manusia mencoba memanfaatkan alam sekitarnya untuk memenuhi keperluan hidupnya, termasuk keperluan akan obat-obatan dalam rangka mengatasi masalah-masalah kesehatan yang dihadapinya. Kenyataan menunjukkan bahwa dengan bantuan obat-obatan asal bahan alam tersebut, masyarakat dapat mengatasi masalah-masalah kesehatan yang dihadapinya. Hal ini menunjukkan bahwa obat yang berasal dari bahan alam khususnya tanaman telah memperlihatkan perannya dalam upaya mensejahterakan kesehatan masyarakat. Salah satu tumbuhan yang

dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brong).

2.2 Tanaman Rumput Bambu

Tanaman rumput bambu (*L. gracile* B.) merupakan tumbuhan gulma yang tumbuh liar di tempat yang rindang, terbuka, berada di pinggir jalan dan lereng bukit. Tanaman rumput bambu memiliki ketinggian antara 0,5-1,2 m, bertangkai banyak, rimpang pendek bercabang-cabang, berakar serabut yang tumbuh menjadi umbi, dan tumbuh diketinggian 1500 m di atas permukaan laut. Rumput ini memiliki bentuk batang yang tegak, tidak berbulu, dan daun bertangkai jelas, hijau dengan panjang 10-30 cm dan lebarnya 10-55 mm. Bunga majemuknya bertangkai panjang dan terdiri atas bulir-bulir yang panjangnya 1-15 cm (Kusumawati, 2003).



Gambar 2.1 Tanaman Rumput Bambu (Wijayakusuma, 2008).

Klasifikasi tanaman rumput bambu adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981):

Kingdom : *Plantae*
 Subkingdom : *Tracheobionta*
 Super Devisi : *Spermatophyta*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Ordo : *Poales*
 Famili : *Poaceae*
 Genus : *Lophatherum*
 Spesies : *Lophatherum gracile* Brogn.

2.2.1 Manfaat Tanaman Rumput Bambu

Tanaman rumput bambu (*L.gracile* B.) memiliki manfaat untuk menurunkan panas, antiradang, mimisan, sakit tenggorokan, sariawan, gusi bengkak, dan infeksi saluran kemih (Wijayakusuma, 2008). Menurut Jing (2009) riset farmakologi ekstrak daun rumput bambu (*L.gracile* B.) dapat digunakan sebagai antipiretik, antideuritik, antibakteri, antitumor, dan efek hiperglesimik.

2.2.2 Kandungan Senyawa Kimia

Rumput bambu mempunyai beberapa kandungan zat kimia diantaranya adalah triterpenoid, steroid asam amino, dan asam lemak (Wijayakusuma, 2008). Ekstrak etanol dari daun rumput bambu mengandung 15 senyawa diantaranya flavonoid, triterpenoid, luteolin, afzelin, *tricin 7-O-β-D-glucopyranoside*, *swertiajaponin*, dan isoorientin. Hasil penelitian lainnya menyebutkan tumbuhan ini juga mengandung flavonoid pada bagian daun dan steroid atau triterpenoid pada bagian akar (Kusumawati, 2003).

Hasil penelitian Hilda (2014) menyebutkan metabolit sekunder yang terkandung dalam akar rumput bambu adalah alkaloid dan steroid. Sedangkan penelitian yang dilakukan Selina menyatakan uji fitokomia ekstrak daun rumput bambu dengan etanol 80% terdapat senyawa tanin, alkaloid dan triterpenoid sedangkan ekstrak kloroform dan n-heksana mengandung senyawa steroid.

2.3 Penyakit Malaria

Malaria berasal dari Bahasa Itali (mal=buruk, area=udara), jadi secara Bahasa penyakit malaria diartikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh udara

yang buruk akibat lingkungan yang buruk. Namun, secara istilah penyakit malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* (Termasuk protozoa) yang ditularkan oleh Vektor nyamuk *Anopheles* betina (Zulkoni, 2010). Malaria sudah dikenal sejak 3000 tahun yang lalu. Hippocrates (400-377) SM) telah membedakan jenis-jenis malaria, sedangkan *Alphonse Laveran* (1880) menentukan *Plasmodium* sebagai penyebab malaria dan Ross (1897) menentukan nyamuk *Anopheles* sebagai perantaranya (Widoyono, 2001).

Penyakit malaria banyak berkembang di daerah beriklim tropis seperti Indonesia karena erat kaitannya dengan berkembangnya jentik-jentik nyamuk *Anopheles*. Malaria berkembang dengan adanya interkasi seseorang yang sehat dengan penderita, sedangkan infeksi *Plasmodium* pada seseorang dapat diakibatkan oleh adanya gigitan nyamuk *Anopheles*, transfusi darah dari donor penderita dan penggunaan jarum suntik bekas yang terkontaminasi (Zulkoni, 2010).

2.3.1 Siklus Hidup Parasit Malaria

Siklus hidup *Plasmodium* mengalami dua siklus. Siklus yang seksual yang berlangsung pada manusia disebut skizogoni dan siklus seksual yang membentuk sporozoit di dalam nyamuk disebut sporogoni (Widoyono, 2010).

2.3.3 Siklus Seksual

Siklus seksual terjadi dalam tubuh nyamuk. Siklus sporogoni dimulai dengan bersatunya gamet jantan dan betina untuk membentuk ookinet dalam perut nyamuk. Ookinet menembus dinding lambung untuk membentuk ribuan sporozoit yang terlepas dan akan tersebar ke seluruh organ nyamuk termasuk kelenjar ludahnya.

Ada kelenjar ludah, sporozoit menjadi matang dan akan ditularkan pada manusia yang terkena gigitan (Nuriyati, 2013).

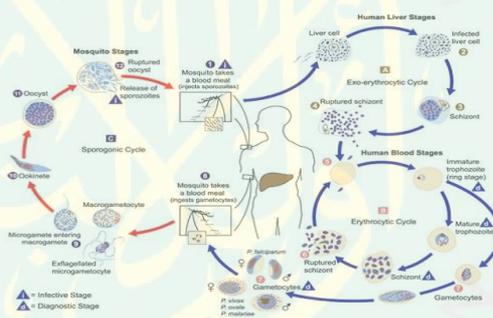
2.3.4 Siklus Aseksual

Sporozoit infeksi dari kelenjar ludah nyamuk *Anopheles* betina masuk dalam darah manusia melalui tusukan nyamuk tersebut. Sporozoit akan memasuki sel-sel perenkim hati dan dimulainya stadium eksoeritrosit. Di dalam sel hati, sporozoit matang tumbuh menjadi skizon yang akan pecah dan berkembang menjadi merozoit. Sel hati yang mengandung parasit pecah dan merozoit memasuki aliran darah dan menginfeksi eritrosit untuk memulai eritrosit maka disebut stadium pe-eritrosik (Widoyono,2010).

Siklus eritrositik dimulai ketika merozoit menerobos masuk sel-sel darah merah. Merozoit akan mengalami perubahan morfologi, yaitu merozoit → bentuk cincin → trofopozoit → merozoit. Merozoit-merozoit tersebut ada yang berubah menjadi gametosit untuk melalui kembali siklus seksual menjadi mikrogamet (jantan) dan makrogamet (betina). Eritrosit yang pecah akan menimbulkan gejala penyakit pada tubuh manusia. Jika ada nyamuk yang mengigit manusia yang telah terinfeksi, maka gametosit yang ada pada darah manusia akan terhisap oleh nyamuk. Dengan demikian, siklus seksual pada nyamuk akan dimulai kembali, dan begitulah seterusnya penularan malaria (Widoyono, 2010). Siklus hidup *Plasmodium falciparum*.

2.3.5 Plasmodium falciparum

Parasit *Plasmodium falciparum* ditemukan di daerah tropik, terutama di Afrika dan Asia Tenggara. Di Indonesia parasit ini tersebar di seluruh kepulauan. Parasit ini merupakan spesies yang paling berbahaya karena penyakit yang ditimbulkannya dapat menjadi berat. Bentuk parasit yang dapat dilihat dalam hati ialah skizon yang mempunyai ukuran kira-kira 30 mikron pada hari keempat setelah infeksi. Merozoit pada skizonhati yang sudah matang kira-kira berjumlah 40.000 buah (Gandahusada et al.1998). Siklus hidup *Plasmodium falciparum* ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 2.2 Siklus hidup *Plasmodium falciparum*

Darah berbetuk cincin stadium trozoit muda *Plasmodium falciparum* sangat kecil dan halus kira-kira sama dengan diameter eritrosit. Bentuk skizon muda *Plasmodium falciparum* dapat dikenal dengan mudah. Skizon matang *Plasmodium falciparum* mempunyai ukuran lebih kecil dari pada skizon yang sudah matang. Skizon mempunyai derajat infeksi dari pada malaria lainnya, kadang-kadang melebihi $500.000/\text{mm}^3$ darah (Gandahusada et al. 1998).

2.4 Metode Pemisahan Senyawa Aktif Akar Rumput Bambu

2.4.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Penekanan utama dalam maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guether, 1987). Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (*like dissolve like*). Faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (meliputi lama ekstraksi, suhu, lama pengadukan, proses penyaringan dan pemekatan). Hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut adalah daya melarutkan, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara perendaman sampel dan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan dengan konsentrasi rendah, peristiwa tersebut dilakukan secara berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Voight, 1995).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. 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 (Voight, 1995).

Pemilihan pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Tabel 2.1 menunjukkan sifat fisik beberapa jenis pelarut organik yang dapat digunakan untuk ekstraksi. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji, *et al.*, 2007).

Tabel 2.1 Sifat fisik Pelarut

Pelarut	Titik didih (°C)	Titik beku (°C)	Konstanta dielektrik (Debye)
n-Heksana	69	-94	1,89
Etanol	78	-117	24,3

Sumber: Nur dan Adijuwana (1989) Sudarmadji, *et al* (2007)

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol dan n-heksana, didasarkan pada pemilihan variasi pelarut yang sesuai. Pelarut-pelarut tersebut memiliki titik didih yang cukup rendah, pelarut dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006).

Pelarut yang digunakan dalam mengekstrak senyawa aktif dalam rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) adalah etanol 80%. Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol yang mudah melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat karena sifat kepolarannya yang tinggi, memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Selain

itu, ketoksikannya rendah dari pada pelarut alkohol lainnya yakni memiliki nilai LC_{50} 7060 mg/kg, dan merujuk pada penelitian sebelumnya yang mana dilakukan ekstraksi maserasi serbuk tanaman rumput bambu dengan pelarut etanol, didapatkan nilai rendemen yang dihasilkan untuk pelarut etanol sebesar 8,33% (Rohmaniyah, 2011).

2.4.2 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada sifat kelarutan komponen target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, yakni sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Syarat pelarut untuk ekstraksi cair-cair adalah memiliki kepolaran yang sesuai dengan bahan yang diekstraksi dan harus terpisah secara pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur (Khopkar 2008). Kelebihan dari metode partisi adalah dapat memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik dan waktunya ujinya cepat (waktu total ekstraksi pendek) (Dewi, 2010).

Pelarut organik yang dipilih untuk ekstraksi pelarut yang mempunyai kelarutan rendah dalam air (< 10 %), dapat menguap sehingga memudahkan penghilangan pelarut organik setelah dilakukan ekstraksi, dan mempunyai kemurnian yang tinggi untuk meminimalkan adanya kontaminasi sampel (Rohman dan Gandjar, 2007). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah n-heksana yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda dengan etanol sehingga dapat memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya dan memiliki nilai kelarutan rendah pada air yaitu 3,9 dalam air sehingga memungkinkan mendapatkan senyawa

murni. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Bawa (2009) tentang melakukan ekstraksi maserasi daging buah pare dengan pelarut metanol lalu di partisi dengan pelarut n-heksana mendapatkan nilai rendemen 1,031 %. Dan seperti yang dilakukan oleh Kartini dkk. (2015) sebanyak 20,15 g ekstrak kental etanol dilarutkan terlebih dahulu dengan 100 mL campuran etanol-air (3:7), kemudian dievaporasi sampai semua etanolnya menguap. Pada tahap partisi dihasilkan fraksi n-heksana berwarna hijau kecoklatan sebanyak 13,34 g.

2.4.3 Pemekatan Ekstrak Lipid Menggunakan *Rotary Evaporator Vacuum*

Larutan yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan ekstraktor *Soxhlet* dirotary evaporasi dengan tekanan dan temperatur sesuai titik didih pelarut sampai diperoleh ekstrak kering. Pada akhir ekstraksi, yaitu kira-kira 4-6 jam, labu alas bulat diambil dan ekstrak dituang ke dalam labu alas bulat lalu pelarut diuapkan sampai pekat (Bintang, 2010: 127).



Gambar 2.3 *Rotary Evaporator Vacuum* (Azam, 2012)

Rotary evaporator vacuum menggunakan prinsip destilasi. Prinsip utama dalam instrumen ini terletak pada penurunan tekanan uap pada labu alas bulat sehingga pelarut lebih cepat menguap di bawah titik didihnya. Karena itulah suatu

pelarut akan menguap dan senyawa yang larut dalam pelarut tidak ikut menguap dan tidak rusak oleh suhu tinggi. Penguapan pelarut dapat terjadi karena adanya pemanasan yang dibantu dengan penurunan tekanan pada labu alas bulat yang dipercepat dengan pemutaran. Ketika uap pelarut mengenai dinding kondensor maka pelarut akan mengembun (Azam, 2012).

2.5 Senyawa Aktif Antimalaria

Senyawa antimalaria tertua (tahun 1820) untuk mengobati dengan malaria adalah kulit pohon kina (*Cinchona succiribra*) dan alkaloid yang dikandungnya, senyawa lain yang berkhasiat antimalaria dari tanaman adalah artemisin dari tumbuhan *Artrmisia annua* yang berasal dari China yang dikenal sebagai qinghaosu (Tjay dan Rahardja, 2000 dalam Cholís, 2009).

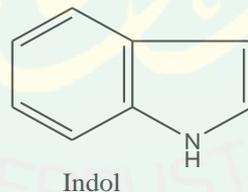
Beberapa senyawa metabolit sekunder telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa ini dapat digolongkan dalam tujuh golongan besar yaitu alkaloid, quassinoid, sesquiterpen, triterpenoid, flavonoid, quinon dan senyawa *miscellaneous* (Saxena et al, 2003 dalam Cholís, 2009).

Penelitian Ariantari et al. (2012) menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun murbei memiliki kandungan flavonoid, glikosida dan triterpenoid serta aktif sebagai antimalaria pada uji *in vitro* terhadap parasit *Plasmodium falciparum* 3D7, dengan nilai IC_{50} sebesar 0,02 ug/mL. moracea juga telah dilaporkan aktif sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa flavonoid terprenilasi dari ekstrak tanaman *Artocapus champeden* Spreng (Moracene) menunjukkan aktif sebagai antimalaria yang poten sebagai *in vitro* dengan nilai IC_{50} berkisar 1,9-4,3 ug/mL. Suatu ekstrak dianggap sangat toksik apabila memiliki nilai LC_{50} di bawah 50 ppm, dianggap

toksik bila memiliki LC_{50} 50-1000 ppm, dan dianggap memiliki toksisitas sedang bila memiliki nilai LC_{50} 100-250 ppm, dan lemah apabila memiliki nilai IC_{50} 250-500 ppm (Aprilia, 2015).

2.5.1 Alkaloid

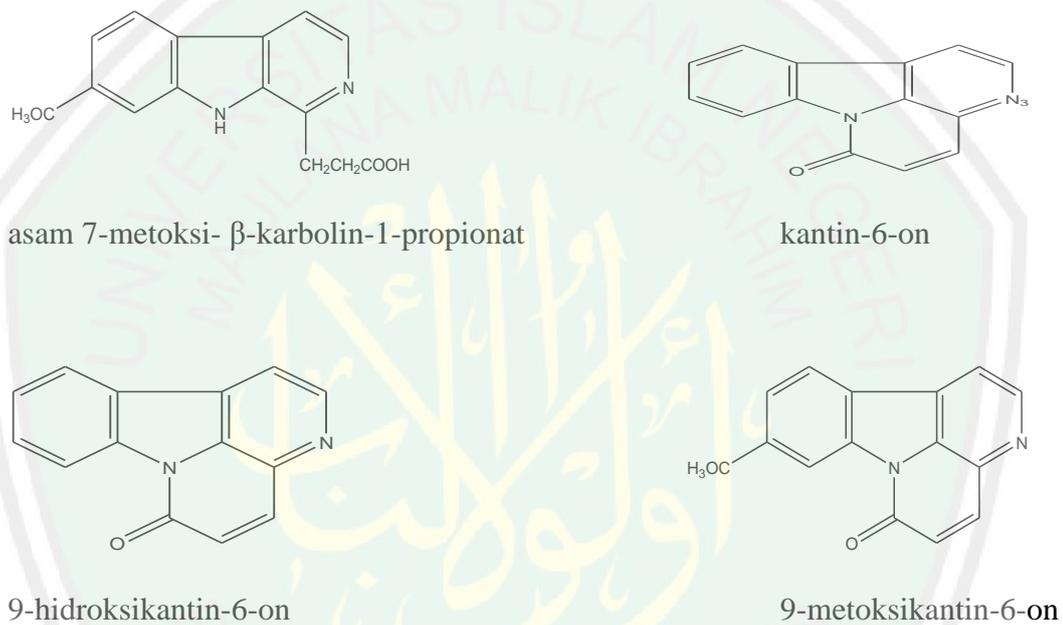
Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya dari cincin heterosiklik (Ahmad, 1986).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



Gambar 2.4 Struktur senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

Lebih dari 100 jenis alkaloid dari berbagai macam tumbuhan telah diketahui memiliki aktivitas antimalaria. *Alstonine*, *villalstonine* dan *makrocarpamine* merupakan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan 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 cangkeng (*erythrinofusca*) dapat menghambat pertumbuhan

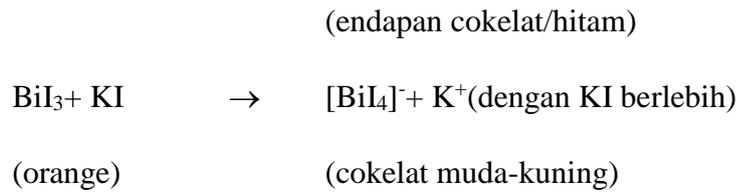
Plasmodium falciparum secara *in-vitro* dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,07 microg/mL. Kardono *et al.* (1991) menyebutkan bahwa beberapa senyawa alkaloid dari tumbuhan pasak bumi (*E.longifolia*) asam 7-metoksi- β-karbolin-1-propionat, kantin-6-on, 9-hidroksikantin-6-on, dan 9-metoksikantin-6-on juga memperlihatkan aktivitas antimalaria.



Gambar 2.5 Struktur beberapa senyawa turunan alkaloid (Ahmad dkk., 2009).

Identifikasi alkaloid dapat menggunakan pereaksi mayer dan Dragendroff. Uji positif senyawa alkaloid dengan menggunakan pelarut Dragendroff akan membentuk endapan berwarna coklat muda-kuning. Uji alkaloid menggunakan reagen Mayer ditunjukkan dengan endapan putih/kekuningan. Adapun dugaan reaksinya adalah sebagai berikut:

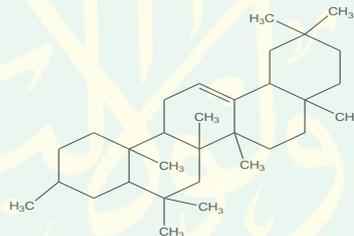




Gambar 2.6 Reaksi alkaloid dengan penambahan reagen (Robinson, 1995).

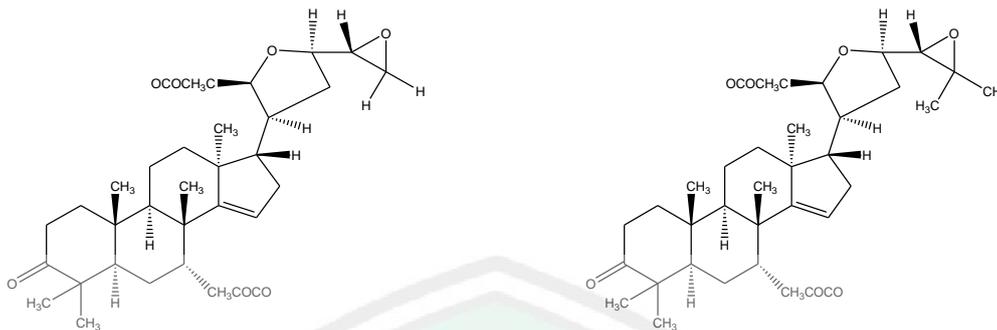
2.5.2 Triterpenoid/ Steroid

Triterpenoid ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006).



Gambar 2.7 Senyawa triterpenoid (Harbone, 1987)

Kitagawa (1994) dalam Achmad dkk (2009) menyebutkan senyawa triterpene dari *B. javanica* yaitu bruccajavanin A dan dihidrobruccajavanin A memperlihatkan aktivitas penghambatan pada pertumbuhan kultur *Plasmodium falcifarum* yang resisten terhadap klorokuin.

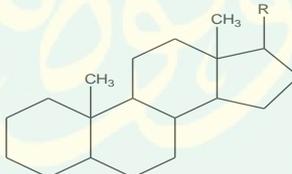


Bruccajavanin A

Dihydrobruccajavanin A

Gambar 2.8 Struktur beberapa struktur turunan triterpene (Kitaga, 1994).

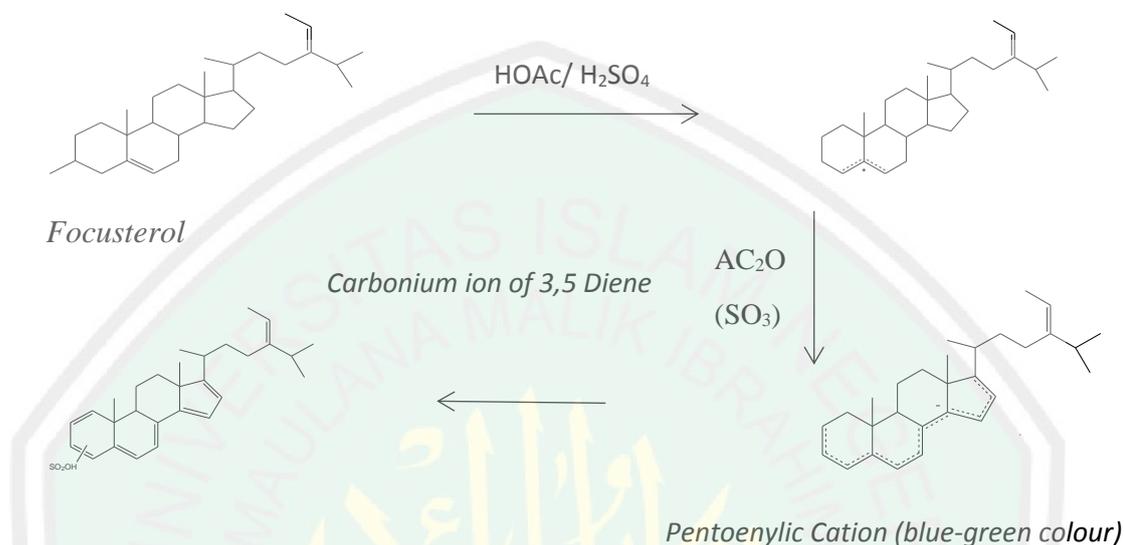
Steroid adalah senyawa golongan lipida yang mengalami penyatuan cincin karbon. Steroid tidak mengandung asam lemak ataupun gliserol sehingga tidak mengalami penyabunan (Hart,1990). Senyawa steroid mengandung gugus $-OH$ sering disebut dengan sterol dengan sifat yang cenderung lebih polar.



Gambar 2.9 Senyawa steroid (Harbone, 1987)

Reagen yang digunakan untuk mendeteksi senyawa triterpenoid dan steroid adalah reagen Lieberman-Burchard. Hasil positif adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan adanya warna violet setelah ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard (Harbone, 1987). Adanya perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua pada isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard (Bawa, 2009). Hasil positif adanya senyawa steroid dengan adanya warna hijau biru setelah ditambahkan

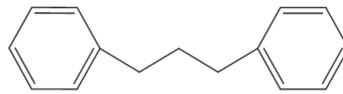
pereaksi atau reagen Lieberman–Buchard (Robinson, 1995). Berikut adalah reaksi dugaan senyawa triterpenoid/steroid.



Gambar 2.10 Contoh reaksi fukosterol dengan reagen Lieberman-Burcahrd (Mengacu pada Burke, dkk., 1987).

2.5.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C_3 , sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).



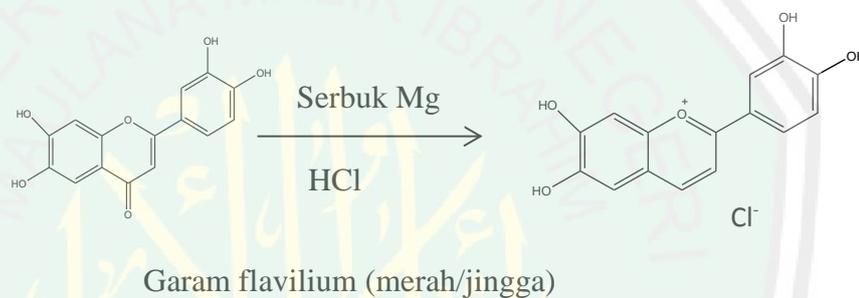
Gambar 2.11 Struktur inti senyawa Flavonoid (Robinson, 1995)

Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang ditemukan sebagai zat tunggal. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang manapun mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1987).

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, dimetilformaldehida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanone, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut eter dan kloroform (Markham, 1988).

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

Identifikasi flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater yakni melarutkan sejumlah ekstrak dengan senyawa alkaloid panas, ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hijau jingga (flavon), merah tua (flavonol/flavonon). Jika terbentuk dengan terbentuknya warna orange, merah, kuning, hijau sampai biru menandakan adanya aglikon/glikosida (Dermawan, 2012). Berikut adalah reaksi dugaan senyawa flavonoid. Berikut adalah reaksi dugaan senyawa flavonoid.

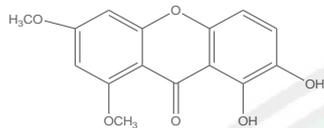


Gambar 2.12 Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl (Hidayat, 2005).

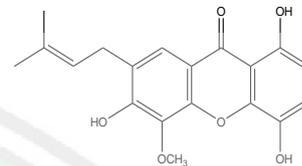
2.5.4 Santon

Santon ialah pigmen fenol kuning yang reaksi warnanya serta gerakan kromatografinya serupa dengan alkaloid. Penelitian Dua *et al.* (2004) menyebutkan aktivitas yang kuat terhadap *Plasmodium falciparum*. Indarti (2009) menyebutkan senyawa santon terprenilasi yaitu 1,4,6,-trihidroksi-5-metoksi-7-preneilsanton dan biflavonois 5,7,4',5'',7'',3'',4''-heptahidroksi-2''-metoksi-flavonon (3,8'') flavon dari ekstrak metanol kulit kayu batang *G. Xanthochymus* juga memperlihatkan aktivitas antimalaria *in vitro* menggunakan *Plasmodium falciparum* dengan nilai IC_{50} 0,03 μ g/mL berturut-turut untuk senyawa 1,4,6-

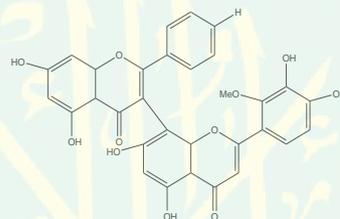
trihidroksi-5-metoksi-7-prenilsanto dan senyawa bifavonoid 5,7,4',5'',7'',3'',4''-heptahidroksi-2''-metoksi-flavonon(3,8'') flavon.



1,2-dihidroksi-6,8-dimetoksisantonin
prenilsanto



1,4,6-trihidroksi-5-metoksi-7-

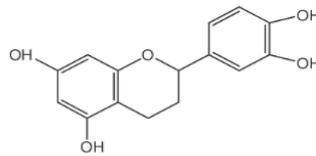


bifavonoid 5,7,4',5'',7'',3'',4''-heptahidroksi-2''-metoksi-flavonon(3,8'') flavon.

Gambar 2.13 Struktur beberapa senyawa turunan santon (Dua, *et al.*, 2004; Indarti, 2009).

2.5.5 Tanin

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



Gambar 2.14 Contoh struktur senyawa Tanin (Robinson, 1995).

Sebagaimana besar tumbuhan yang banyak mengandung tanin dihindari hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Salah satu fungsi tannin dalam tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harbone, 1987). Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas sebagai antimalaria. Penelitian yang telah dilakukan oleh Yun Astuti (2011) menunjukkan bahwa golongan senyawa tanin dapat menghambat perkembangan parasit malaria pada spesies primate *Microcebus murinus* (Lacocelli *et al.* 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Nihaya (2015) menyatakan bahwa senyawa tanin golongan *Ellagic-acid-glucoside* 2-ethyl-3,4,5-trimethyl-tetrahydrofuran dan *Ellagic Acid-Gallic Acid Galloyl* dapat menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium bergie*.

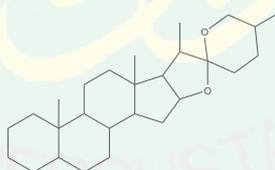
Identifikasi senyawa tanin dapat menggunakan reagen FeCl_3 1 % dan glatin. Reagen FeCl_3 1 % ditunjukkan dengan timbulnya warna biru tua atau hijau kehitaman, sedangkan larutan gelatin ditunjukkan dengan adanya endapan putih. Hal tersebut menunjukkan adanya senyawa tanin (Harborne, 1987).



Gambar 2.15 Koordinasi geometri oktahedral pada kompleks besi-tanin (Dermawan, 2012).

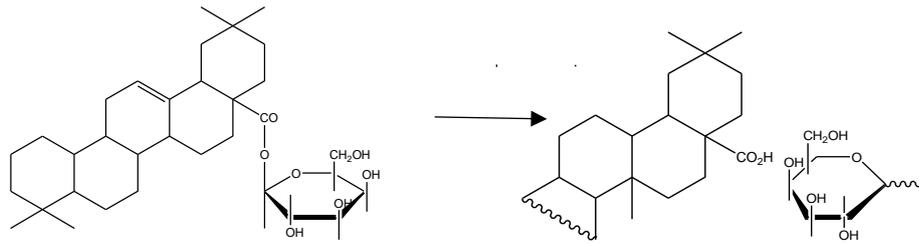
2.5.6 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah glikosida triterpenoid dan sterol (Robinson, 1995). Saponin merupakan senyawa yang berasa pahit, berbusa dalam air dan larut dalam air dan alkohol dan tidak larut dalam eter. Saponin paling cocok diekstraksi dengan menggunakan metanol dan etanol (Robinson, 1995).



Gambar 2.16 Struktur senyawa saponin (Robinson, 1995)

Identifikasi senyawa saponin dapat dilakukan dengan cara menambahkan air panas (1:1) pada sampel sambil dikocok selama ± 30 menit. Ditambahkan HCl 1 N jika menimbulkan busa dan busa stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, menunjukkan positif senyawa saponin (Soebagio, 2007). Berikut adalah reaksinya:



Gambar 2.17 Reaksi dugaan uji saponin (Dermawan,2012).

2.6 Instrumentasi LC-MS (*Liquid Chromatography- Mass Spectra*)

Kromatografi merupakan teknik pemisahan suatu zat terlarut berdasarkan perbedaan kepolaran. Pemisahan solut diatur oleh distribusi solut dalam fasa gerak dan fasa diam. Keberhasilan dalam menggunakan kromatografi cair dipengaruhi oleh jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fasa gerak suhu kolom dan ukuran sampel (Gandjar dan Rohman, 2008). Larutan yang interaksinya kurang kuat dengan fasa diam akan keluar dulu dari kolom, sedangkan larutan dengan interaksi kuat dengan fasa diam akan keluar lebih lama dari kolom (Hendayana, 2006).

Setiap komponen campuran yang keluar kolom dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah peak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran. Komputer digunakan untuk mengontrol kerja sistem kromatografi cair, mengumpulkan dan mengolah data hasil pengukuran kromatografi cair (Hendayana, 2006).

Fasa gerak atau eluen terdiri atas campuran pelarut yang berperan dalam daya elusi dan resolusi. Fase normal terdiri dari fasa diam yang lebih polar dari pada fasa gerak sehingga kemampuan untuk mengelusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Fase terbalik terdiri dari fasa diam yang kurang polar dari pada

fase gerak sehingga kemampuan untuk melulusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut (Gandjar dan Rohman, 2006).

Fasa gerak yang sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril. Untuk pemisahan fase normal, fase gerak yang paling sering digunakan adalah campuran pelarut-pelarut hidrokarbon dengan pelarut yang terklorinasi atau menggunakan pelarut-pelarut jenis alkohol (Gandjar dan Rohman, 2006). Pada penelitian ini menggunakan fase terbalik karena menggunakan fase gerak campuran H₂O, asetonitril dan Asam format.

Elusi dapat dilakukan dengan cara gradien (komposisi fase gerak tetap selama elusi) atau dengan cara bergradien (komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi). Elusi bergradien digunakan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang kuat (Gandjar dan Rohman 2006) .

Detektor pada HPLC dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu detektor universal seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa dan golongan detektor spesifik seperti detektor UV-Vis, detektor floresensi, dan elektrokimia. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah HPLC Alliance 2695 (waters) yang dilengkapi dengan detektor *photodiode-array* (PDA). Detektor PDA memberikan lebih banyak informasi mengenai komposisi sampel dan memberikan kumpulan kromatogram secara simultan pada panjang gelombang yang berbeda dalam sekali proses (Gandjar dan Rohman, 2008).

Detektor pada alat yang digunakan ini langsung dihubungkan dengan alat spektroskopi massa. Spektroskopi massa dapat menyeleksi molekul-molekul gas

yang bermuatan berdasarkan massa atau beratnya. Sampel yang ditembaki dengan berkas elektron menghasilkan suatu ion molekul atau fragmen ionik. Fragmen tersebut dapat dipisahkan berdasarkan massanya (Khopkar, 2010).

Instrumen LC-MS digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat termolabil, non volatil dan senyawa yang memiliki berat molekul yang tinggi. Keuntungan identifikasi menggunakan LC-MS diantaranya dapat digunakan untuk senyawa-senyawa dengan titik lebur tinggi, berat molekul besar, termolabil, dan non volatil (Williams and Fleming, 1997).

Identifikasi senyawa aktif menggunakan instrumen LC-MS pada ekstrak etil asetat anting-anting didapat 5 puncak tertinggi yang merupakan senyawa tanin dan alkaloid. Nilai m/z tanin adalah 529,2 ;625,2; dan 593,2. Senyawa alkaloid memiliki m/z 279,2 dan 321,2 (Husna, 2011). Senyawa flavonoid ekstrak metanol daun jambo-jambo memiliki m/z 478,55 (Novianti, 2012). Identifikasi senyawa triterpenoid pada ekstrak daun binahong memiliki m/z 562,85 dan 585,11. Senyawa saponin terdeteksi pada *Rhizoma Anemarrhenae* dengan m/z 739,3 (Ma, dkk., 2008).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2016 sampai dengan November 2016 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Universitas Airlangga Surabaya.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pompa vakum, corong *Bucher*, kertas saring, corong gelas, rotary evaporator, erlenmeyer tutup 500 ml, beker gelas 500 ml, *hot plate*, batang pengaduk, gelas ukur 100 ml, tabung sentrifuse bertutup (*Falcon*), pipet mikro, pinset, lampu spiritus, *Laminar Air Flow* (*LAF/clean bench*), mikroskop (*Olympus CH-20*), gelas obyek, lemari pendingin, inkubator, *candle jar*, microplate, lilin, bola hisap, *stirer*, dan, spektrofotomer LC-MS.

3.2.2 Bahan

Bahan yang menjadi objek penelitian adalah keseluruhan Rumput bambu kering, etanol 80% , aquades, n-heksana, suspensi parasit *Plasmodium falciparum strain 3D7*, parasitemia suspensi sel 1%, NaCl 3,5%, RPMI 1640, HEPES buffer, serum dan sel darah manusia golongan O, larutan pewarna *Giemsa* (Merck), serbuk logam Mg, HCl 37%, HCl 95%, HCl 2N, larutan FeCl₃ 1, Asam Sulfat Pekat, kloroform, anhidrida asetat, reagen mayer, reagen dragendroof.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang diambil bagian keseluruhan dari tanaman Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* Brongn). Tahapan penelitian yang pertama adalah uji taksonomi untuk mengidentifikasi klasifikasi dari tanaman Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* Brongn) secara benar. Selanjutnya preparasi sampel, kemudian sampel diserbukkan. Rumput bambu yang telah diserbukkan diambil sebanyak 200 gram untuk diekstraksi secara maserasi. Maserasi dengan menggunakan pelarut etanol, pada ekstraksi yang pertama 200 g sampel direndam dalam 3000 mL etanol selama 24 jam dan *dishaker* selama 3 jam. Kemudian hasil perendaman disaring untuk memisahkan antara ekstrak dengan ampas. Ampasnya diekstraksi kembali dengan pelarut yang sama sampai diperoleh filtratnya bening. Ampas dikering anginkan agar pelarut etanolnya hilang. Kemudian dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator vakum* sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol. Hasil yang diperoleh dibagi menjadi 2 bagian, bagian pertama untuk ekstrak kasar etanol yang akan langsung diujikan pada parasit, dan kira-kira 20 gram ekstrak etanol dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksana (5x50 mL). Hasil yang didapatkan fraksi n-heksana dilakukan pengujian untuk mengetahui aktifitas terhadap antimalaria.

Kemudian dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Pengujian antimalaria dilakukan secara *in vitro* dengan metode Trager dan Jansen (1976). Langkah pertama parasit dilakukan biakan pada parasit *Plasmodium falciparum* pada cawan petri yang dikerjakan secara aseptik. Media yang digunakan untuk inkubasi *Plasmodium falciparum*

adalah RPMI 1640. RPMI mengandung garam-garam, asam amino, vitamin yang digunakan untuk pertumbuhan parasit. Eritrosit yang digunakan untuk pertumbuhan *Plasmodium falciparum* adalah golongan darah O yang diambil dari vena. Uji aktifitas antimalaria menggunakan *microplate* 96 sumuran yang mempunyai 8 baris. Hasil dilakukan analisis menggunakan program SPSS untuk menyatakan antimalaria dinyatakan dalam IC_{50} . Fraksi n-heksana dilakukan identifikasi dengan *Spektrofotometer LC-MS*.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1. Uji taksonomi sampel
2. Preparasi sampel
3. Ekstraksi senyawa aktif
4. Uji fitokimia senyawa aktif dengan reagen
5. Prosedur Uji Aktivitas Antimalaria *in vitro*
 - 5.1 Thawing parasit
 - 5.2 Monitoring kultur
 - 5.3 Singkronisasi parasit
 - 5.4 Persiapan suspensi
 - 5.5 Persiapan bahan uji
 - 5.6 Uji aktivitas antimalaria
6. Identifikasi *Spektrofotometer LC-MS*.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Taksonomi Rumput Bambu

Uji taksonomi rumput bambu (*Lophatherum gracile* B.) dilakukan di Dinas Kesehatan Material Medika Kota Batu Propinsi Jawa Timur.

3.5.2 Preparasi Sampel

Sampel sebanyak 200 gram dipotong kecil-kecil, dicuci bersih, diangin-anginkan pada suhu kamar sampai kering. Kemudian sampel yang sudah kering diserbukkan. Hasil yang diperoleh berupa serbuk yang digunakan sebagai sampel penelitian

3.5.3 Ekstraksi Komponen Aktif Akar Rumput Bambu dengan Maserasi

Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 80 % ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan pelarut n-heksana. Sebanyak 200 gr serbuk rumput bambu diekstraksi maserasi dengan 800 mL etanol 80% selama 24 jam. Kemudian sampel tersebut di *shaker* dengan kecepatan 130 rpm selama 3 jam. Selanjutnya sampel disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sampai filtrat yang diperoleh berwarna lebih bening. Filtrat yang diperoleh disaring menggunakan *vakum buchner* dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak yang pekat dan dialiri gas N₂.

Ekstrak kasar pekat etanol 80% sekitar 20 gram dilarutkan dalam 100 mL campuran etanol (3:7), kemudian etanolnya dievaporator vakum sampai etanolnya menguap. Selanjutnya dipartisi dengan n-heksana (5x50 mL). fraksi n-heksana

(FH) dikumpulkan dan residunya (fraksi air). Hasil fraksi air yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dan dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.4 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol, n-heksana. Rumput bambu dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, dan tanin.

3.5.4.1 Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu diambil sebanyak 2,5 mg dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas 1 – 2 mL dan sedikit serbuk logam Mg. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes 37% HCl dan 95% etanol dengan volume yang sama lalu dikocok. Jika terbentuk larutan berwarna merah, kuning atau jingga, maka ekstrak kasar positif mengandung flavonoid.

3.5.4.2 Uji Alkaloid (Harborne, 1987)

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 1 mL kloroform dan 1 ml amonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 2-4 tetes H₂SO₄ pekat untuk menetralkan, lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan.

Lapisan asam yang tak berwarna diuji dengan menambahkan 2-3 tetes reagen mayer dan dragendorff. Jika hasil pengujian dengan reagen mayer dan dragendorff menghasilkan warna berturut-turut, putih keruh dan jingga, maka ekstrak kasar tersebut mengandung alkaloid.

3.5.4.3 Uji Saponin

Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 10 menit, apabila busa yang terbentuk selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2 N dan busa yang terbentuk bisa tetap stabil, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.4.4 Uji Tanin (Halimah, 2010)

Masing-masing ekstrak rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka ekstrak tersebut mengandung tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.5.4.5 Uji Triterpenoid dan Steroid (Lestari, 2012)

Masing-masing ekstrak rumput bambu yang telah dilarutkan dalam pelarutnya diambil sebanyak 0,5 mL) dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL kloroform lalu ditambah 0,5 mL anhidrida asetat dan 1,5 mL asam sulfat

pekat (1:3) (pereaksi *Lieberman Burchard*) melalui dinding tabung tersebut. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, jingga, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut. Sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan atau biru.

3.5.5 Prosedur Uji Aktivitas Antimalaria *in vitro*

3.5.5.1 Thawing Parasit

1. Parasit beku *Plasmodium* dicairkan pada suhu 37° C. Parasit beku yang telah mencair, dipindahkan ke dalam tabung *falcon* 15 ml dan disuspensikan dengan NaCl 3,5 % (dengan volume yang sama) secara perlahan (*drop by drop*) sambil dicampur. Diamkan 5-10 menit.
2. *Sentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang.
3. Endapan (pelet) disuspensikan dengan medium tidak lengkap (3-4 kali volume endapan), dicampur perlahan dan *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang.
4. Endapan (pelet) disuspensikan dengan medium lengkap (3-4 kali volume endapan), dicampur perlahan dan *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang.
5. Sebanyak 4,5 ml medium lengkap dan 0,5 mL RBC 50 % ditambahkan (kadar hematokrit 5 %) setelah endapan dicuci, kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri, dimasukkan ke dalam *candle jar* dan diinkubasi dalam inkubator yang bersuhu 37° C.

3.5.5.2 Monitoring Kultur

Medium kultur diganti setiap hari. *Petridish* berisi darah terinfeksi parasit diletakkan dengan posisi miring kemudian media diambil secara hati-hati dengan mikropipet. Medium baru ditambahkan sesuai dengan volume medium yang dibuang. Untuk melihat pertumbuhan kultur (parasitemia) maka dibuat hapusan darah tipis (*thin smear*). Jika parasitemia lebih dari 4 % maka dilakukan subkultur, namun jika masih rendah medium diganti setiap hari dan setiap 2 hari dilakukan penambahan RBC 50 %.

3.5.5.3 Sinkronisasi Parasit

1. Kultur parasit pada *petridish* dipindahkan ke *falcon* 15 mL dan disentrifuge 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan di buang.
2. Endapan (eritrosit terinfeksi *Plasmodium*) disuspensikan dengan sorbitol 5 % sebanyak 3-4 kali volume endapan dan didiamkan selama 10 menit pada temperatur kamar.
3. Sentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C. supernatan dibuang
4. Endapan dicuci dengan medium tak lengkap (3-4 kali volume) dan disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C. Proses ini dilakukan sebanyak 2 kali.
5. Medium lengkap dan RBC 50 % ditambahkan setelah endapan dicuci. Kultur dimasukkan ke dalam *candle jar* dan diinkubasi dalam inkubator yang bersuhu 37°C.

3.5.5.4 Persiapan Suspensi Parasit

Parasitemia suspensi parasit untuk uji antimalaria secara *in vitro* adalah $\pm 1\%$ dan *hematocrit* 5 %. Suspensi sel parasit tersebut dibuat dari biakan *P. falciparum* yang telah disinkronisasi.

3.5.5.5 Persiapan Bahan Uji

Sebanyak 10 mg bahan uji dilarutkan dalam 100 μL DMSO (larutan stok). Larutan stok tersebut selanjutnya diencerkan dengan media lengkap sehingga diperoleh konsentrasi 0,01 $\mu\text{L}/\text{mL}$; 0,1 $\mu\text{L}/\text{mL}$; 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$; 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dan 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Pembuatan larutan uji dilakukan secara aseptik.

3.5.5.6 Uji Aktivitas Antimalaria

Sebanyak 500 μL suspensi parasit yang berasal dari stok dengan tingkat parasitemia $\pm 1\%$ dan hematokrit 5 % dimasukkan dalam semua *well* pada *mikroplate* (1-6), setelah itu pada *mikroplate* 1-5 masing-masing *well* ditambahkan dengan 500 μL bahan uji dengan berbagai dosis sesuai dengan pola yang telah ditentukan, sedangkan pada *well* 6 diisi dengan 500 μL suspensi parasit dan 500 μL medium lengkap. *Mikroplate* dimasukkan dalam *candle jar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Setelah 48 jam inkubasi. Supernatan pada *well* dibuang dan pelet dibuat sediaan hapusan darah tipis. Sediaan dikeringkan pada suhu kamar, difiksasi dengan metanol selama $\pm 1-5$ detik dan dikeringkan kembali. Hapusan yang sudah kering diwarnai dengan giemsa 15 % dan dibiarkan selama ± 10 menit, dicuci dengan air dan dikeringkan. Sediaan hapusan darah tipis diperiksa menggunakan

mikroskop cahaya perbesaran 100 kali. Parasit malaria ditandai dengan inti berwarna merah dan plasma berwarna biru sedangkan sel darah merah berwarna merah muda. Eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dihitung untuk menentukan tingkat parasitemia. Tingkat parasitemia ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

Persamaan 1 Tingkat parasitemia :

$$\% \text{ Parasitemia} = \frac{\text{Eritrosit yang terinfeksi parasit}}{\text{Total eritrosit (1000 eritrosit)}} \times 100\%$$

Data tingkat parasitemia yang sudah diperoleh digunakan untuk menentukan persentase hambatan parasitemia. Nilai hambatan parasitemia dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Persamaan 2 Hambatan parasitemia

$$\text{Persen Hambatan (\%)} = 100 \% - \left(\frac{\text{Mean parasitemia treated}}{\text{Mean parasitemia kontrol}} \right) \times 100\%$$

3.5.6 Identifikasi Menggunakan Instrumen LC-MS (Husna, 2011)

3.5.6.1 Preparasi Eluen pada UPLC/DAD

Disiapkan eluen yang akan digunakan. Sebelum digunakan, eluen disaring dengan menggunakan saringan nilon dengan ukuran diameter 0,45 μm dengan bantuan pompa vacum.

3.5.6.2 Penyuntikan Sampel pada UPLC//DAD

Sampel fraksi n-heksana sebagai antimalaria disuntikkan sebanyak 10 μL secara langsung dengan menggunakan *micro syringe* ke dalam eluen yang mengalir dibawah tekanan menuju kolom. Alat yang digunakan merupakan HPLC Alliance

2695 (Waters) with *photodiode-array* (PDA) *detector* 2996 (Waters), kolom Sunfire C18; 5 cm; 4,6 mm ID x 150 mm (Waters); Temperatur kolom 300°C; kecepatan alir 1 mL/min , fasa gerak : a. H₂O (HPLC grade) + formic acid; b. acetonitrile; metode HPLC : *gradient* 30% H₂O + 0,1% *formic acid*; 70% *acetonitrile*; panjang gelombang 210 nm, 410 nm, dan 435 nm.

3.5.6.3 Identifikasi Senyawa dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS

Alat HPLC/ESI/Q-ToF/MS dilakukan dengan menghubungkan sistem HPLC dengan sumber ion ESI. Kondisi alat spektroskopi massa adalah alat LCT Premier XE (Waters); *Analyser MS*: TOF (*Time of Flight*) dengan *electrosprayer* modus positif (ES+) dan negatif (ES-) dari m/z 100 sampai m/z 2000; *capillary voltage* 1800 V; *Sample cone voltage* 60 V; *Disolvation temperature* 300% ; *Source temperature* 100°C; *Disolvation gas flow* 600L/hour .

Hasil identifikasi yang diperoleh merupakan fragmentasi dari suatu senyawa yang terpisah. Data fragmentasi selanjutnya disesuaikan dengan library yang ada pada instrument LC-MS untuk mengetahui senyawa yang teridentifikasi. Senyawa yang teridentifikasi merupakan senyawa yang berpotensi sebagai senyawa antimalaria.

3.6 Analisis Data

Aktivitas antimalarial dinyatakan dengan IC₅₀ yang diperoleh dari menganalisis hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persentasi dengan analisa probit program SPSS.

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Uji Taksonomi

Uji taksonomi bertujuan untuk memastikan apakah tanaman atau sampel yang digunakan untuk penelitian benar merupakan tanaman rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). Uji taksonomi berfungsi untuk mencegah tercampurnya sampel dengan tanaman lain yang dapat mempengaruhi hasil pada saat melakukan analisis. Uji taksonomi rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn). Dilakukan di Medika Medika, Batu.



Gambar 4.1 Rumput bambu (a) batang (b) daun, (c) akar

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan dapat diperoleh rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) mendapatkan hasil dengan ciri-ciri bertangkai jelas, berurat melintang, terdapat bulu halus pada semua bagian batang dan daun, batangnya berongga, dan akarnya berupa serabut, hal tersebut sesuai dengan Heyne (Heyne, 1987).

4.2 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan mempermudah penelitian, proses yang dilakukan diantaranya pencucian, hal ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran berupa tanah yang menempel pada rumput bambu. Pengeringan, bertujuan untuk mengurangi kandungan air, untuk meminimalkan kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme atau tumbuhan jamur dan sampel disimpan dalam jangka waktu yang lama (Baraja, 2008).

Proses penyerbukan sampel dilakukan dengan cara pengilingan. Dalam penelitian ini tidak dilakukan pengayakan 60 mesh, karena saat dilakukan pengayakan maka bagian tumbuhan rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) terutama akar akar tertinggal pada ayakan, sehingga akan dapat mempengaruhi hasil analisis.

4.3 Ekstraksi dengan Metode Maserasi dan Partisi

Metode ekstraksi rumput bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) menggunakan metode maserasi. Prinsipnya adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarutnya *like dissolves like* (Khopkar, 2008). Distribusi pelarut organik yang terjadi secara terus menerus ke dalam sel tumbuhan yang mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel. Pemecahan ini menyebabkan senyawa aktif yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Djarwis, 2004).

Sampel serbuk rumput bambu sebanyak 200 gram dibagi menjadi dua masing-masing \pm 100 gram tujuan dari pembagian serbuk untuk meningkatkan efisiensi proses maserasi dan untuk memaksimalkan komponen senyawa kimia

yang terekstrak dalam pelarut. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel ke dalam pelarutnya selama 24 jam. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi maserasi adalah etanol 80%. Pelarut etanol dapat mengekstrak senyawa polar, semipolar dan non-polar karena pelarut ini memiliki dua gugus yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Suatu senyawa organik memiliki ikatan glikosida yang mengandung banyak gugus -OH yang menyebabkan senyawa tersebut bersifat lebih polar, sehingga pada proses ekstraksi senyawa aktif lebih terekstrak pada pelarut etanol (Effendy, 2006).

Ekstraksi dengan pelarut etanol 80% selama 24 jam, dilakukan dengan 3 kali pengulangan, dalam 24 jam proses maserasi dilakukan shaker dengan 150rpm selama 2 jam untuk memaksimalkan hasil ekstraksi. Penyimpanannya ditempatkan pada temperatur kamar terlindung cahaya. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya degradasi komponen-komponen senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk sampel yang tidak tahan terhadap cahaya langsung (Ansel, 1989). Hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan *corong buchner* dan diperoleh filtrat berwarna hijau pekat. Hasil ekstraksi yang didapat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator vaccum*. Prinsip kerjanya adalah penurunan tekanan pada labu alas bulat sehingga pelarut dapat menguap lebih cepat di bawah titik didihnya. Pelarut akan menguap menuju kondensor dan tertampung dalam labu alas bulat penampung sehingga terpisah dari ekstrak (Vogel, 1978). Ekstrak pekat yang diperoleh berwarna hijau tua dengan berat 21,58 gram dan menghasilkan rendemen sebesar 10,79%.

Ekstrak etanol yang didapat dilakukan partisi secara bertingkat. Hal ini bertujuan untuk menghemat pelarut dan lebih memaksimalkan pemisahan. Partisi

dengan pelarut n-heksana hasil fraksi air. Pemilihan pelarut tersebut merupakan perwakilan dari masing-masing sifat kepolaran pelarut. Tujuan dari variasi pelarut ini agar senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terikat sampel dapat terekstrak ke dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya tersebut. Sehingga pelarut non polar (n-heksana) dan pelarut polar (etanol) akan melarutkan komponen senyawa yang polar (Chusna, 2013). Suatu senyawa akan terpisah dengan adanya pengocokan yang ditandai dengan terbentuknya dua lapisan yang tidak saling campur. Adanya 2 lapisan terjadi karena perbedaan massa jenis kedua pelarut. Lapisan atas memiliki massa jenis yang lebih kecil dibandingkan dengan lapisan bawah, massa jenis n-heksana sebesar $0,695 \text{ g/mL}$.

Proses partisi dilakukan sampai filtrat yang didapatkan berwarna bening yang menandakan bahwa ekstrak sudah habis. Partisi dilakukan dengan dua kali pengulangan, proses partisi yang terjadi komponen glikon akan terdistribusi pada fase air sedangkan senyawa metabolit sekunder (aglikon) akan terdistribusi pada fase organik. Larutan hasil fraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporatur vacuum*. Fraksi fraksi n-heksana sebesar 3,35 gram. Rendemen yang dihasilkan pada fraksi n-heksana adalah 22,23%.

4.4. Uji Fitokimia Senyawa dengan Reagen

Uji reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak rumput bambu. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin dan tanin. Uji reagen dilakukan pada ekstrak etanol 80%, dan fraksi n-heksana. Hasil dari identifikasi kandungan

golongan senyawa aktif yang terdapat pada ketiga ekstrak rumput bambu ditunjukkan pada tabel 4.1:

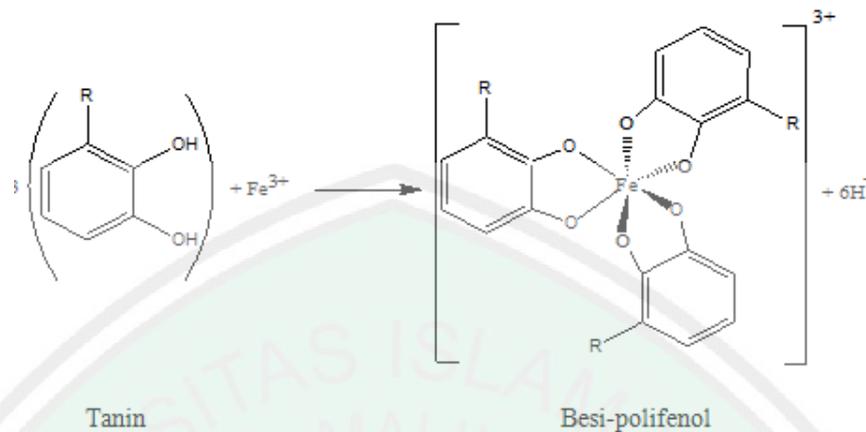
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Golongan Senyawa Aktif dengan Reagen

Golongan senyawa aktif	Etanol 80%	Fraksi N heksana	Keterangan
Alkaloid			
Mayer	-	-	Endapan kekuning-kuningan
Dradendorff	-	-	Endapan jingga
Flavonoid	-	-	Merah/ jingga
Tanin	+	++	Hijau kehitaman/ biru tinta
Saponin	-	-	Berbusa
Triterpenoid	+	-	Berbentuk cincin kecoklatan
Steroid	-	++	Hijau kebiruan
(+)		Kandungan senyawa sedikit	
		(++)	
		Kandungan senyawa banyak	

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa ekstrak etanol 80% mengandung senyawa tanin dan triterpenoid, dan ekstrak partisi n-heksana mengandung tanin, dan steroid. Kandungan tanin positif kuat pada fraksi n heksana ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau tua.

4.4.1 Tanin

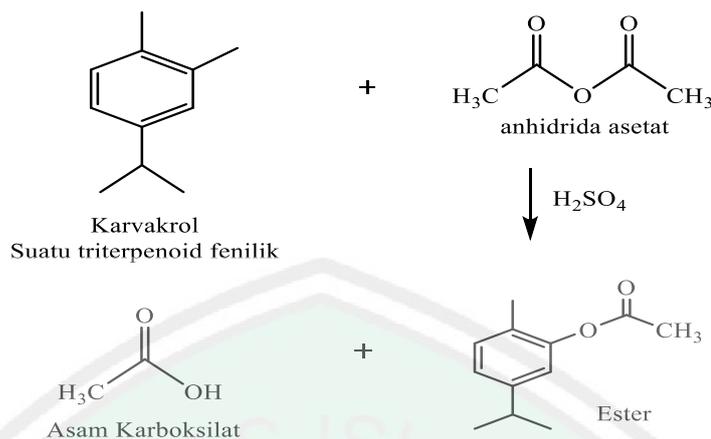
Uji adanya kandungan senyawa tanin pada ekstrak ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta setelah penambahan FeCl_3 (Harborne, 1987 dan Effendy, 2007). FeCl_3 1 % berfungsi untuk menentukan adanya gugus fenol dalam sampel, karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Effendy, 2007). Hasil uji fitokimia senyawa tanin positif untuk ekstrak etanol 80%, n-heksana. Reaksi dugaan yang terjadi pada uji tanin adalah sebagai berikut.



Gambar 4.2 koordinasi geometri oktahedral pada kompleks besi-polifenol (perronn dan brumaghim, 2009).

4.4.2 Triterpenoid

Golongan senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan reaksi terbentuknya cincin kecoklatan setelah ditambahkan dengan asam sulfat pekat dan asam asetat anhidrat (Robinson, 1995 dan Siadi, 2012). Ketika senyawa ini ditetesi oleh H_2SO_4 pekat maka anhidridrat asetat akan bereaksi dengan asam sehingga atom C pada anhidrida membentuk karbokation. Karbokation yang terbentuk bereaksi dengan atom O pada gugus $-\text{OH}$ yang ada pada senyawa triterpenoid. Reaksi ini merupakan reaksi esterifikasi yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat. Hal ini dapat di buktikan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut yang menunjukkan senyawa triterpenoid (Dewi dkk, 2010).



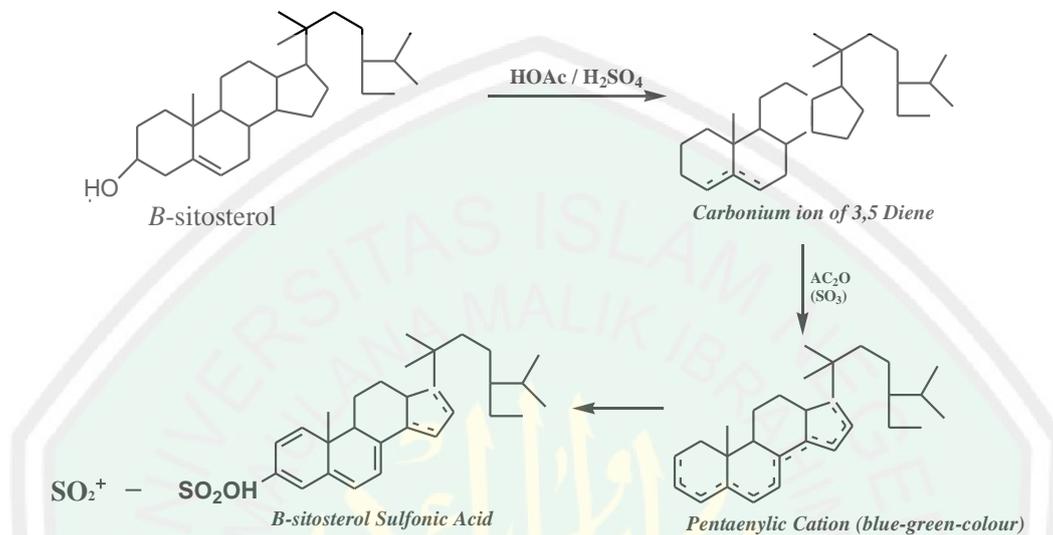
Gambar 4.3 Reaksi senyawa triterpenoid dengan asam anhidrat

Hasil pengamatan menunjukkan ekstrak etanol 80% rumput bambu menghasilkan warna cincin kecoklatan pada uji golongan senyawa triterpenoid. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung golongan senyawa aktif triterpenoid. Senyawa triterpenoid cenderung bersifat non polar atau semi polar, namun dapat terekstrak dalam pelarut etanol yang bersifat polar. Hal ini diduga karena triterpenoid masih terikat pada glikosidanya sehingga ikut terekstrak dalam pelarut etanol yang bersifat polar (Sriwahyuni, 2010).

4.4.3 Steroid

Identifikasi golongan senyawa steroid pada ekstrak rumput bambu dilakukan menggunakan asam anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan menghasilkan produk oksidasi yang memberikan reaksi warna hijau kebiruan (Sirait, 2007). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa fraksi n heksana mengandung steroid yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan. Gambar 4.4 menunjukkan contoh reaksi senyawa golongan steroid (fukosterol) dengan reagen Liebermann-

Burchard. Fukosterol termasuk dalam golongan steroid yang kebanyakan ditemukan pada tumbuhan tingkat rendah (Sirait, 2007).



Gambar 4.4 Contoh reaksi *B*-sitosterol dengan reagen Liebermann-Burchard (Burke, dkk., 1974).

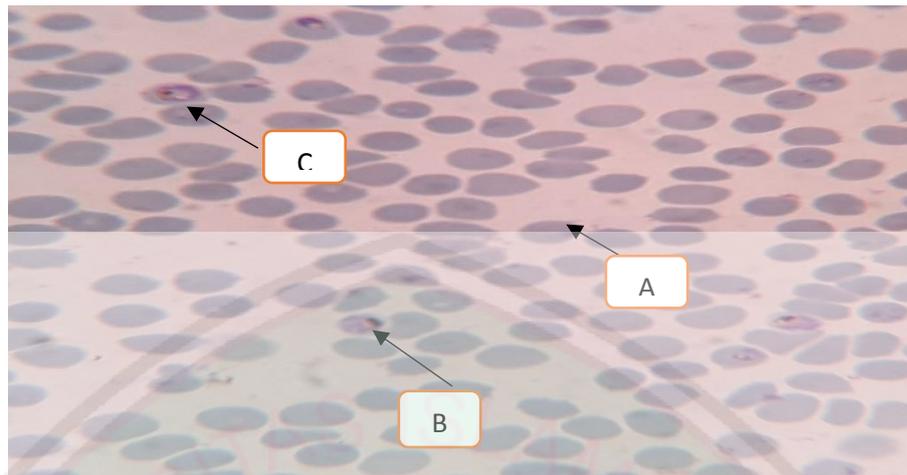
4.5 Hasil Uji Aktivitas Antimalaria In Vitro

Uji aktivitas antimalaria yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengujian secara in vitro. Dengan uji secara in vitro ini menggambarkan aktivitas antimalaria terhadap parasit *Plasmodium falciparum* pada fase eritrosit, karena parasit ditumbuhkan seolah-olah berada dalam sel darah merah tubuh. Parasit yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium falciparum* Strain 3D7 yang sensitif terhadap klorokuin. Menggunakan parasit yang sensitif terhadap klorokuin karena jika parasit tersebut bersifat resisten maka akan kebal sehingga akan sulit saat dilakukan uji.

Parasit pertama kali harus dilakukan thawing dengan mencairkan parasit pada suhu 37°C . Hasilnya berupa parasitema yang siap untuk diujikan dengan

medium yang lengkap dengan ditambahkan serum sebagai nutrisi parasit. Parasitemia yang digunakan lebih dari 4 %, dengan tingkat parasitemia ± 1 % dan hematokrit 5 % ditambahkan dengan 500 μL bahan uji dengan berbagai dosis, sedangkan pada *well* 6 diisi dengan 500 μL suspensi parasit dan 500 μL medium lengkap sebagai kontrol (-).

Pengujian dilakukan dalam waktu ± 48 jam yang merupakan waktu parasit untuk mengalami satu siklus lengkap untuk kembali keawal parasit aseksual. Hasil pengujian terhadap parasit *Plasmodium falciparum* diperoleh dari perhitungan jumlah parasit yang tumbuh setelah diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama ± 48 jam. Selanjutnya kultur di panen, dibuat slide apusan darah tipis. Setelah kering diberi pewarnaan giemsa 3% selama 45 menit lalu dihitung jumlah eritrosit dengan persentase penghambatan dengan cara membandingkan antara jumlah eritrosit terinfeksi terhadap *Plasmodium falciparum* terhadap 1000 eritrosit yang diamati di bawah mikroskop. Hasil yang didapatkan dari mikroskop akan terlihat jumlah eritrosit yang terinfeksi dan tidak terinfeksi. Hasil dihitung berdasarkan jumlah eritrosit terinfeksi yang dipilih dari beberapa lapang pandang apusan secara monolayer hasil dari pengamatan dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 (A) eritrosit tidak terinfeksi (B) eritrosit terinfeksi (C) fase ring

Hasil pengamatan pada kultur, terlihat *Plasmodium falciparum* tumbuh dan berkembang biak dengan cepat. *Plasmodium falciparum* yang menginfeksi sel darah merah terlihat jelas berada pada stadium trophozoit. Pengujian antimalaria dilakukan ketika kultur di dominasi parasit pada stadium trophozoit untuk mencegah terbentuknya skizon karena untuk menyamakan kultur darah agar sama terbentuk ring.

Perhitungan angka parasitemia digunakan untuk mengetahui perubahan jumlah *Plasmodium falciparum* pada berbagai dosis ekstrak yang diujikan. Adapun kontrol negatif digunakan sebagai perbandingan. Kontrol negatif merupakan kultur tanpa penambahan ekstrak ataupun obat malaria. Perhitungan angka parasitemia merupakan metode yang bisa digunakan dalam penelitian malaria. Parasitemia adalah persentasi jumlah sel darah merah yang terinfeksi oleh parasit malaria (Hutomo 2005). Dalam penelitian ini parasitemia dihitung pada 1000 sel darah merah dengan metode pewarnaan giemsa. Pewarnaan giemsa merupakan

pewarnaan yang paling sering digunakan karena berfungsi membedakan antara sel darah merah yang terinfeksi dan sel darah merah yang tidak terinfeksi.

Aktivitas antimalaria dapat diketahui dengan melakukan perhitungan terhadap persen parasitemia yang telah didapatkan pada pengujian sampel, sehingga menghasilkan persen pertumbuhan, persen penghambatan, dan persen penghambatan rata-rata dan log konsentrasi dosis uji yang kemudian dianalisis probitnya sehingga dapat diperoleh nilai IC_{50} .

Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antimalaria

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	R	% Parasitemia		Pertumbu han (%)	Hambatan (%)	% Hambatan Rata-Rata	
			0 Jam	48 Jam				
Ekstrak Etanol	Kontrol (-)	1	1,28	6,14	4,86	-	-	
		2	1,28	6,17	4,89	-	-	
	100	1	1,28	2,38	1,10	77,37	77,23	
		2	1,28	2,4	1,12	77,10		
	10	1	1,28	4,21	2,93	39,71	39,49	
		2	1,28	4,25	2,97	39,26		
	1	1	1,28	4,98	3,70	23,87	23,90	
		2	1,28	5	3,72	23,93		
	0,1	1	1,28	5,65	4,37	10,08	10,66	
		2	1,28	5,62	4,34	11,25		
	0,01	1	1,28	6,02	4,74	2,47	2,26	
	Fraksi Heksan a	Kontrol (-)	1	1,28	6,14	4,86	-	-
			2	1,28	6,17	4,89	-	-
		100	1	1,28	3,31	2,03	58,23	58,46
2			1,28	3,3	2,02	58,69		
10		1	1,28	4,88	3,60	25,93	25,95	
		2	1,28	4,90	3,62	25,97		
1		1	1,28	5,37	4,09	15,84	15,69	
		2	1,28	5,41	4,13	15,54		
0,1		1	1,28	5,85	4,57	5,97	6,15	
		2	1,28	5,86	4,58	6,34		
0,01		1	1,28	6,1	4,82	0,82	0,92	
		2	1,28	6,12	4,84	1,02		

Hasil menunjukkan angka parasitemia pada penambahan ekstrak etanol dan fraksi n-heksana dengan konsentrasi terkecil hingga tertinggi. Secara umum

semakin tinggi konsentrasi ekstrak dan fraksi yang diberikan, maka semakin besar pula persen penghambatan yang diperoleh untuk menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum*. Persentasi hambatan digunakan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol dan rumput bambu dalam menghambat parasit *Plasmodium falciparum* pada sel eritrosit. Semakin tinggi konsentrasi fraksi yang berikan, maka semakin besar pula persen penghambatan yang diperoleh untuk menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* galur 3D7. Hasil uji aktivitas antimalaria tidak semua konsentrasi pada masing-masing fraksi dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria *Plasmodium falciparum*. Grafik hubungan antara konsentrasi masing-masing fraksi terhadap persen penghambatan dapat dibuat dari hasil pengujian yang ditunjukkan pada grafik:



Gambar 4.6 Grafik hubungan antara persen penghambatan dan konsentrasi.

Aktifitas penghambatan dapat dilihat pada grafik 4 persen penghambatan terbesar ditunjukkan oleh ekstrak etanol dengan nilai persen penghambatan tertinggi pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 77,23% sedangkan persen

penghamatan terendah pada fraksi n heksana yaitu sebesar 0,92% pada konsentrasi 0,01 µg/mL.

Nilai hambatan parasit yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS 16. Analisis probit digunakan untuk mengetahui nilai IC₅₀ pada setiap sampel. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat 50% pertumbuhan sel (Ilhami, 2013).

Tabel 4.3 Nilai IC₅₀ uji aktivitas antimalaria tanaman rumput bambu

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak etanol 96%	12,49
Fraksi n-heksana	61,49

Berdasarkan Tabel 4.3 Hasil yang diperoleh sampel ekstrak etanol mempunyai nilai IC₅₀ yang baik yaitu sebesar 12,49 µg/mL sedangkan fraksi n-heksana sebesar 61,49 µg/mL yang menunjukkan aktivitas kurang baik. Berdasarkan hasil tersebut ekstrak etanol dan fraksi heksana rumput bambu kedua ekstrak kasar etanol dan fraksi n-heksana mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* Strain 3D7, tetapi ekstrak kasar etanol mempunyai aktivitas sangat baik dalam menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* dari pada fraksi n-heksana. Hal ini karena kandungan senyawa dalam ekstrak kasar etanol yang belum terpisah dikemungkinan mempunyai aktivitas tertinggi, sehingga dapat menghambat aktivitas antimalaria lebih baik. Adanya aktivitas penghambatan pada ekstrak kasar etanol dan fraksi n heksana rumput bambu dapat dimanfaatkan sebagai obat antimalaria.

Adapun nilai IC_{99} digunakan untuk mengetahui nilai hambatan secara keseluruhan, nilai yang didapatkan untuk ekstrak etanol sebesar $4,76 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ dan fraksi n heksana sebesar $5,07 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat parasit *Plasmodium falciparum* secara keseluruhan dalam konsentrasi tersebut.

Penelitian ini juga menggunakan uji T yang menggunakan program SPSS untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak kasar etanol dan fraksi n heksana sebagai penghambat antimalaria. Hasil uji didapatkan nilai probabilitas signifikan $<0,01$ (lampiran), maka H_0 ditolak dan diterima H_1 artinya ada perbedaan antara ekstrak kasar etanol dan fraksi n heksana dalam menghambat pertumbuhan parasit.

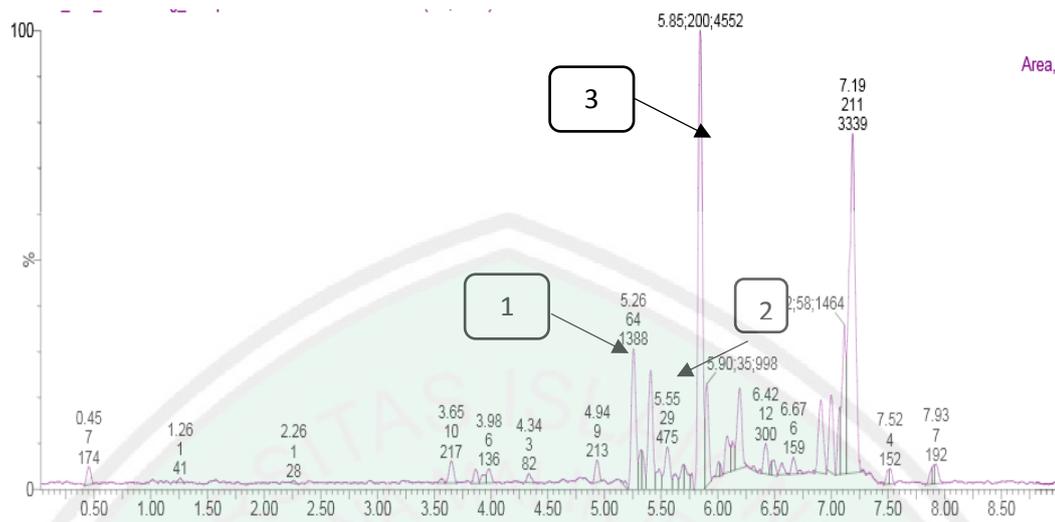
4.6 Identifikasi Senyawa dengan UPLC/QToF/MS/MS System (Water)

Kromatografi cair merupakan teknik yang mana solut atau zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati kolom (Gandjar dan Rohman, 2008). Prinsip dari UPLC yaitu memisahkan senyawa yang tidak menguap dan tidak stabil pada suhu tinggi berdasarkan perbedaan distribusi antara fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak atau pelarut untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan diantara fasa gerak dan fasa diam tersebut, sehingga terjadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik menghasilkan

spektra massa. Spektra massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya (Khopkar, 2008).

Penelitian ini menggunakan fasa diam berupa kolom Sunfire C18. Kolom C18 merupakan kolom dengan fasa terbalik dimana fasa diam C18 bersifat non polar dan fasa gerak bersifat polar. Kolom pengaman atau pra-kolom (*guard column*) yang digunakan berukuran 1,7 μm dengan diameter 2,1 x 50 mm. Kolom pengaman ini memiliki fungsi untuk menyaring kotoran yang terbawa dalam fasa diam serta untuk menjenuhkan fasa diam dalam rangka menghindarkan terjadinya erosi fasa diam oleh aliran pelarut (Hendayana, 2006).

Fase gerak atau eluen akan berjalan di atas celah atau di atas fase diam yang membawa analit. Fasa gerak yang digunakan dalam penelitian berupa 2 campuran yakni A= air (H_2O) dengan 0,1 % asam format (HCOOH), B = asetonitril (CH_3CN) dengan 0,1 % asam format (HCOOH). Elusi digunakan dengan cara gradien (komposisi fase gerak berubah selama elusi) yaitu 30% H_2O + 0,1 % asam format, 70% asetonitril. Fase gerak yang digunakan memiliki kemurnian yang sangat tinggi dan telah dilakukan dengan saringan 0,45 μm . Penyaringan dibantu dengan pompa vakum dengan tujuan menyaring partikel kotoran yang kecil sekaligus menghilangkan gas dari pelarut karena gas dapat mengganggu *base line* (Hendayana, 2008). Penyaringan partikel kotoran ini dimaksudkan agar tidak terjadi gangguan pada sistem kromatografi, sebab adanya partikel kecil dapat terkumpul dalam kolom sehingga dapat mengakibatkan suatu kekosongan pada kolom (Gandjar dan Rohman, 2008). Kromatogram UPLC hasil dari pemisahan dalam fraksi n-heksana rumput rambu dalam Gambar 4.2 :



Gambar 4.7 Kromatogram UPLC hasil pemisahan senyawa dalam fraksi n heksana Rumpu Bambu.

Berdasarkan identifikasi *database* UPLC/QToF/MS/MS terdapat senyawa yang dapat teridentifikasi. Tabel 4.4 Senyawa yang diduga dalam fraksi air Rumpu Bambu berdasarkan waktu retensi.

Tabel 4.4 Senyawa dugaan yang terdapat dalam fraksi n heksana Rumpu Bambu

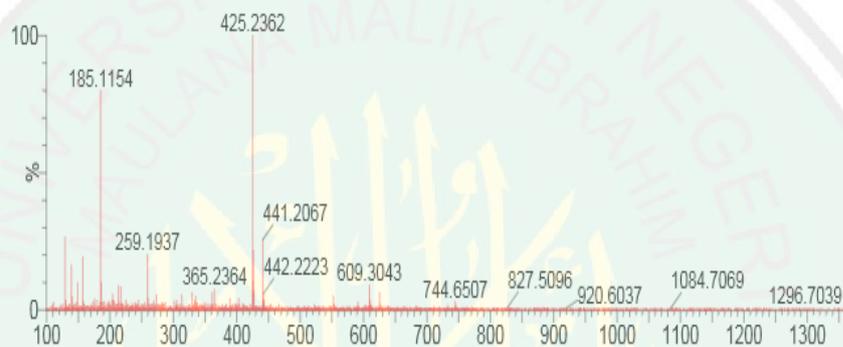
No Puncak	Waktu retensi (min)	% Luas Area	Senyawa
1	5,26	30 %	<i>4-metil-stigmast-22-en-3-ol</i>
2	5,55	20 %	<i>Ellagic-acid-glucoside 2- ethyl -3, 4,5 trimethy tetrahydrofuran.</i>
3	5,85	100 %	<i>Acid-Gallic Acid Galloyl</i>

Berdasarkan Tabel 4.3 bahwa senyawa n heksana yang mempunyai sifat non polar, dapat diasumsikan bahwa senyawa yang mempunyai potensi antimalaria adalah bersifat non polar. Hal ini dapat ditunjukkan pada waktu retensi semakin lama semakin meningkat, karena senyawa-senyawa tersebut masih tertahan dalam fase diam sehingga kepolarannya akan berkurang.

Berdasarkan hasil kromatogram yang dianalisis menunjukkan puncak tertinggi yaitu pada waktu retensi 5,26; 5,55 dan 5,85;. Sebagai berikut:

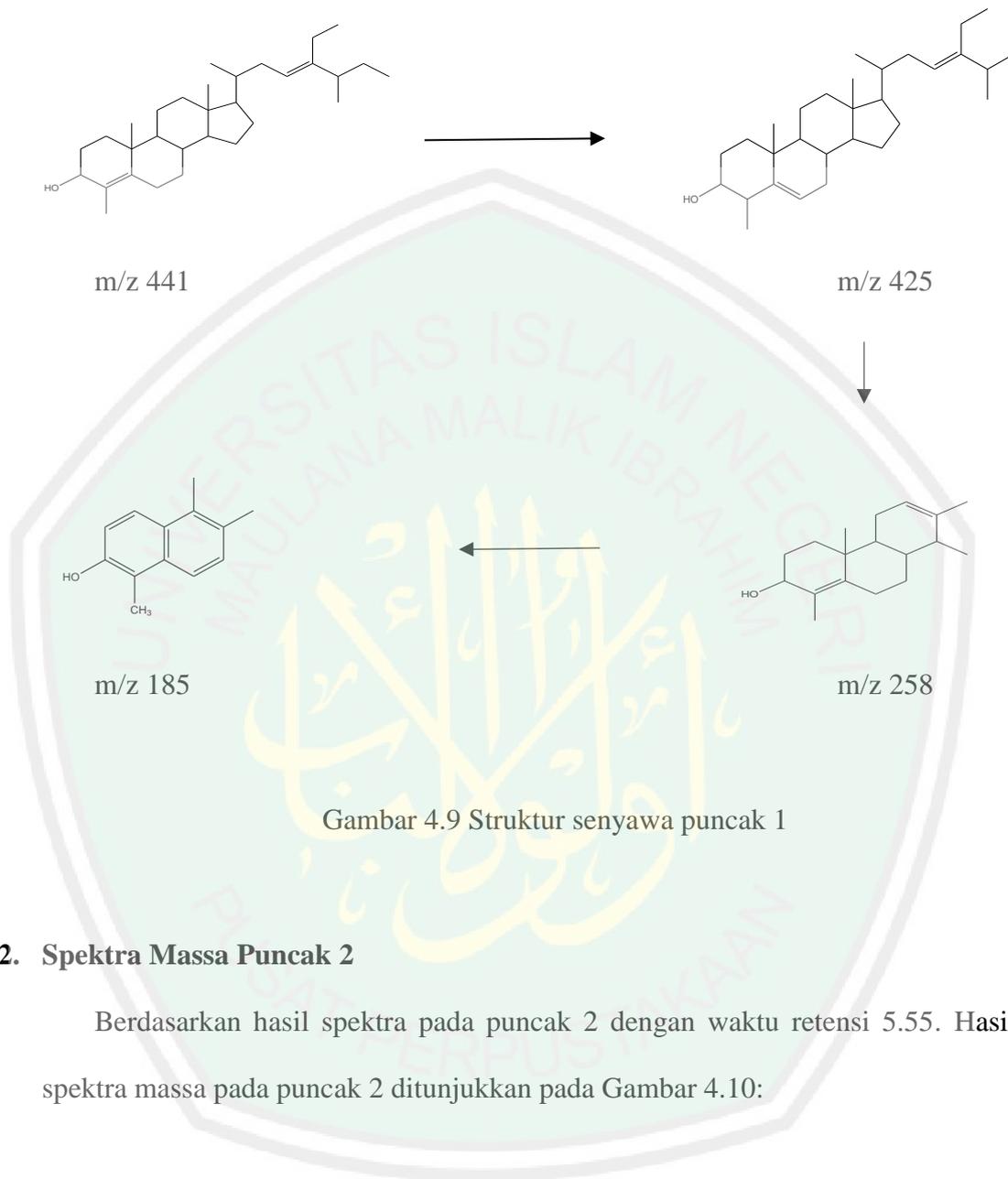
1. Spektra Massa Puncak 1

Puncak 1 dengan waktu retensi 5,26 memiliki spektra massa yang ditunjukkan pada Gambar 4.8



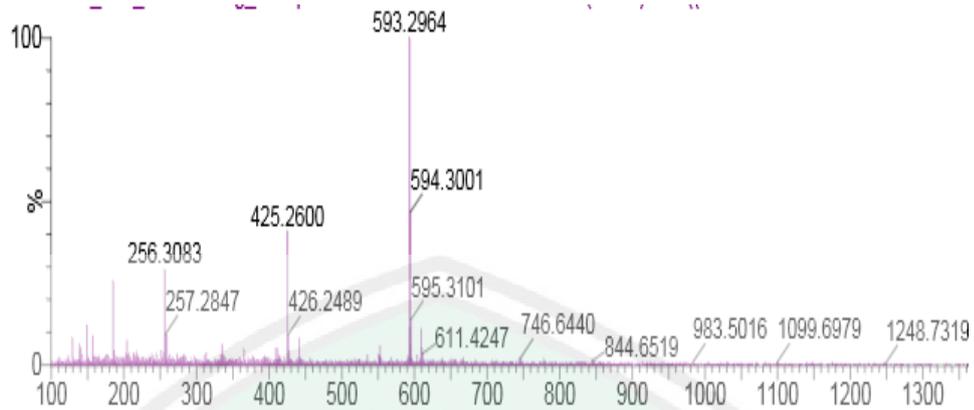
Gambar 4.8 Spektra massa puncak 1

Gambar 4.8 menunjukkan massa spektra pada puncak 1 dengan berat molekul 441.2067 yang merupakan senyawa Steroid golongan *4 metil-stigmast-22-en-3-ol*. Senyawa akan terfragmentasi menjadi beberapa ion molekul yang lebih kecil. Pada puncak m/z 441, 2067 maka akan terfragmentasi menjadi m/z 425.2362. Berdasarkan puncak dengan nilai m/z 441,2607 diduga senyawa , berikut fragmentasi dari pada Gambar 4.9 (Diastuti, 2010).



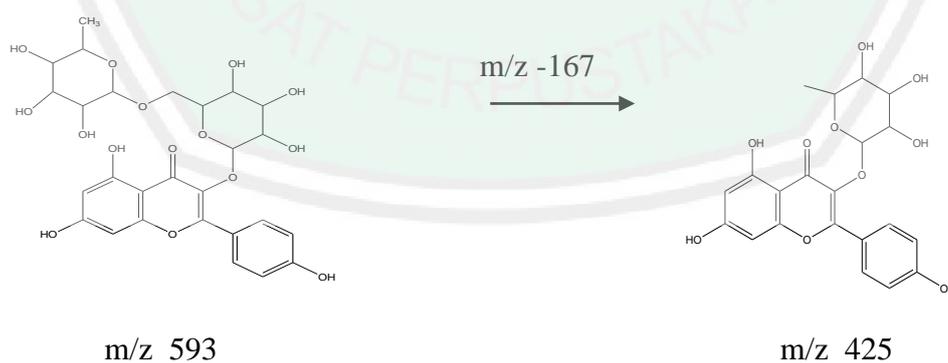
2. Spektra Massa Puncak 2

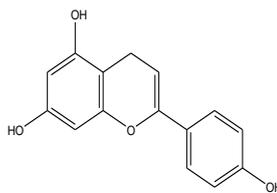
Berdasarkan hasil spektra pada puncak 2 dengan waktu retensi 5.55. Hasil spektra massa pada puncak 2 ditunjukkan pada Gambar 4.10:



Gambar 4.10 Spektra massa puncak 2

Gambar 4.10 menunjukkan massa spektra pada puncak 2 dengan berat molekul 594,3001 yang merupakan senyawa tanin golongan *Ellagic-acid-glucoside 2-ethyl -3, 4,5 trimethy tetrahydrofuran*. Senyawa akan terfragmentasi menjadi beberapa ion molekul yang lebih kecil. Pada puncak 594,3001 maka akan terfragmentasi menjadi m/z 425,2600 ; dan 259.2847. Berdasarkan puncak dengan nilai m/z 441,2607 diduga senyawa , berikut fragmentasi dari pada Gambar 4.11 :



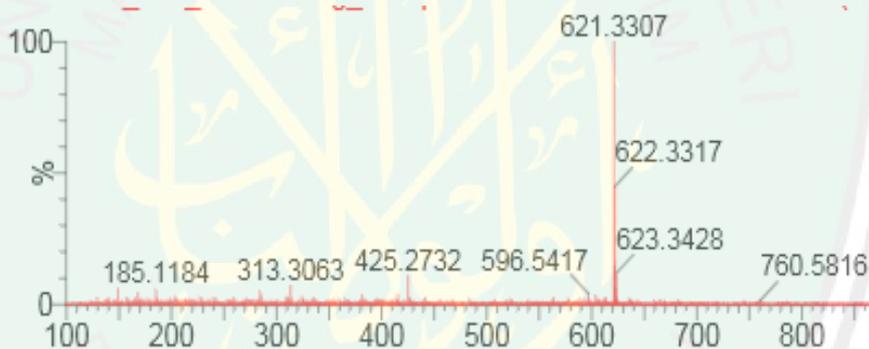


m/z 256

Gambar 4.11 Struktur Puncak 2.

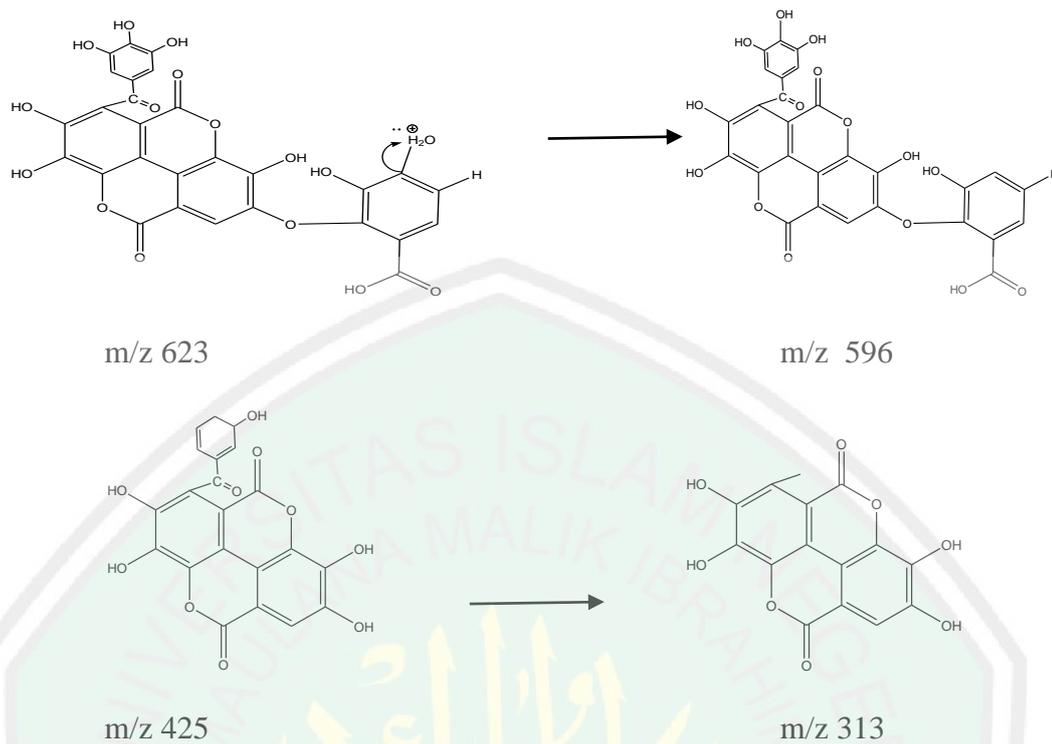
3. Spektra Massa Puncak 3

Senyawa pada puncak 3 yang memiliki waktu retensi 5,85. Hasil spektra massa pada puncak 3 ditunjukkan pada Gambar 4.12



Gambar 4.12 Spekta massa puncak 3

Gambar 4.12 menunjukkan massa spektra pada puncak 3 dengan berat molekul 623,3428 yang merupakan senyawa tannin golongan *Acid-Gallic Acid Galloyl*. Senyawa akan terfragmentasi menjadi beberapa ion molekul yang lebih kecil. Pada puncak 596.5417 maka akan terfragmentasi menjadi m/z 425.2732; dan 313.3109. Berdasarkan puncak dengan nilai m/z 441,2607 diduga senyawa , berikut fragmentasi dari pada Gambar :



Gambar 4.13 Spektra Puncak 3

Hasil analisis UPLC-MS pada 4 puncak tertinggi menunjukkan dugaan adanya senyawa steroid, dan tanin. Pada puncak 1 dan puncak 3 memiliki kelimpahan pada m/z 425 yang menunjukkan adanya senyawa steroid. Pada puncak 2 dan 3 memiliki kelimpahan pada m/z 593 dan m/z 623 yang menunjukkan senyawa tanin.

4.7 Pemanfaatan Tanaman Rumput Bambu Sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Allah memerintahkan kepada seluruh umat manusia untuk terus mempelajari kandungan isi Al-Qur'an, baik arti setiap ayat dan tujuan dalam firmanNya, sehingga dapat mengambil penjelasan ilmu pengetahuan dan kita dapat memanfaatkan sebagai petunjuk untuk mengambil langkah-langkah penelitian dan dalam kehidupan sehari-hari. Sebagaimana Allah menciptakan alam dan seisinya

seperti hewan dan tumbuhan merupakan rahmat yang besar, Allah tidak akan menciptakan sesuatu jika tidak ada manfaatnya, Allah menciptakan sesuatu dengan berbagai hikmah-hikmah tertentu. Manusia hendaknya dapat merenungkan sebagaimana besar Allah ciptakan semua seisinya di alam, sehingga dapat menciptakan pengetahuan yang bermanfaat bagi manusia.

Salah satu karunia Allah SWT kepada umat manusia yaitu dengan menurunkan aneka jenis tumbuhan dengan manfaat yang terkandung. Banyak tumbuhan yang telah tumbuh dibumi sebagai bukti nyata bahwa kesempurnaan Allah, yang mampu menciptakan bumi dan seisinya. Tidak ada yang mampu menciptakan kecuali Allah Tuhan Semesta Alam, sebagaimana firman Allah Qs. Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya : “Bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. Thaha : 53).”

Allah SWT telah menciptakan bumi dan isinya seperti tumbuhan dan hewan yang merupakan karunia dan manfaat yang sangat besar, dengan hikmah-hikmah yang dan manfaat yng besar. Tidak ada sesuatu yang di ciptakan dengan sia-sia. Allah menumbuhkan berbagai macam tanaman, dengan berbagai manfaat yang terkandung didalamnya. Salah satu manfaat tanaman adalah sebagai obat, sehingga manusia dapat berfikir dengan menggunakan ilmu yang telah diberikan Allah SWT.

Sehingga manusia mampu mensyukuri, dengan mengambil hikmah dan kebesaran Allah dalam menciptakan segala sesuatu di bumi.

Mengkaji dan meneliti tentang tumbuhan baik segi bentuk, manfaat, dan kegunaan merupakan salah satu wujud dalam mempelajari dan menelaah isi Al-Qur'an. Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat dan hikmah serta kenikmatan kepada manusia. Para pakar tumbuhan yang memang memiliki kompetensi serta telah meneliti berbagai jenis tumbuhan di seluruh penjuru dunia, menyebutkan bahwa terdapat sekitar 250.000 jenis tumbuh-tumbuhan, dengan bentuk dan warna yang berbeda (Qardhawi, 2002).

Ayat Al-Qur'an yang mengajak manusia untuk berfikir dan mempelajari tumbuh-tumbuhan agar mendapat manfaat yang banyak. Allah berfirman dalam surat Asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “ *Dan apaka mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*”

Ayat diatas kata *ila* mengandung akhir batas akhir. Sehingga manusia dianjurkan untuk mempelajari segala sesuatu hingga meluas arah pandangan sampai batas kemampuannya, dengan aneka tanah dan tumbuhan yang ada di bumi. Diantara tumbuh-tumbuhan tersebut terdapat golongan rumput-rumputan sebagaimana yang terdapat dalam QS. ‘Abasa ayat 25-32):

أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ﴿٢٥﴾ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ﴿٢٦﴾ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾ وَعِنَبًا ﴿٢٨﴾ وَقَضْبًا ﴿٢٩﴾ وَزَيْتُونًا وَخَلًّا ﴿٣٠﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣١﴾ وَفَكِّهَةً وَأَبًّا ﴿٣٢﴾ مَتَاعًا لَكُمْ ﴿٣٣﴾ وَلَا نَعْمِكُمْ

Artinya: “ 25. Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit) 26. Kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya 27. Lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu 28. Anggur dan sayur-sayuran 29. Zaitun dan kurma 30. Kebun-kebun (yang) lebat 31. Dan buah-buahan serat rumput-rumputan 32. Untuk kesenanganmu dan untuk binatang-binatang ternakmu’.

Surat tersebut menjelaskan bahwa kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan berbagai macam tumbuhan sesuai dengan kondisi lingkungan. Tumbuhan mempunyai bentuk yang berbeda satu tumbuhan dengan tumbuhan yang lain. Manfaat yang berbeda-beda pula, sebagaimana tanaman padi yang dapat dimanfaatkan sebagai makanan pokok, begitu juga tanaman rumput-rumputan yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif membuat obat.

Rasulullah Saw. Telah memberikan petunjuk tentang cara mengobati diri beliau sendiri, keluarganya dan para sahabat yaitu menggunakan jenis obat yang tidak ada campuran bahan kimia. Pengobatan Nabi menggunakan tiga jenis obat yaitu obat alamiah, obat ilahiyah dan kombinasi obat alamiah dan ilahiyah. Pengobatan alamiah yang digunakan Nabi Saw. Diantaranya kurma beliau yang tidak dibuahi, kurma belum matang yang belum dibuahi, rumput rawa, jinten hitam, bawang merah, jeruk sitrun, buah plum, melon, kacang polong, dan masih banyak lainnya (as-Suyuthi, 1997). Sedangkan pengobatannya berdasarkan wahyu Allah tentang apa yang bermanfaat dan yang tidak berbahaya, misalnya melakukan pengobatan dengan tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan tanaman sebagai obat

merupakan salah satu untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah dan meneladani cara pengobatan Nabi.

Pemanfaatan tanaman rumput bambu sebagai obat merupakan suatu upaya untuk mengikuti sunah Nabi, kita dianjurkan untuk mengamalkan pengobatan, sesuai sabda Rasulullah SAW: *Dari Usamah bin Syarik berkata, “ Bahwa saya pernah berada di sisi Rasulullah, lalu datang sekelompok Arab badui. Mereka berkata, “ Wahai Rasulullah, apakah kami bisa berobat? “Nabi menjawab, “Wahai para hamba Allah carilah obat karena sesungguhnya Allah tidak menciptakan suatu penyakit tanpa menciptakan obatnya, selain satu penyakit saja, “Mereka bertanya: “Penyakit apakah itu?” jawab Beliau: “Penyakit usia tua.”* (HR. Ahmad) (Muhammad, 2007).

Rumput bambu merupakan salah satu tanaman golongan rumput-rumputan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini telah dibuktikan dengan hasil penelitian uji fitokimia dan uji aktivitas ekstrak dan fraksi rumput bambu (*Lopatherum gracile* B.) terhadap aktivitas antikanker secara invitro. Hasil dari penelitian yang dilakukan dengan senyawa yang terkandung dalam tanaman rumput bambu maka perlu dilakukan penelian uji aktivitas antimalaria.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak kasar etanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 12,492 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan sampel fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} sebesar 61,474 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut telah mampu menghambat 50% pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* Strain 3D7.
2. Fraksi n-heksana hasil uji UPLC-MS menunjukkan dugaan adanya senyawa steroid dan tanin. Senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas yang mampu menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum* Strain 3D7.

5.2 Saran

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan cara pemisahan terhadap senyawa aktif yang berpotensi sebagai antimalaria.
2. Saat dilakukan thawing harus dengan hati-hati karena kadar hematokrit 5% jika melebihi akan berpengaruh terhadap hasil parasit yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTKA

- Achmad, S.A., (1986). Kimia organik bahan alam. *Buku Materi Pokok, Modul 4-6*. Jakarta : Univertitas Terbuka.
- Akhhsin Zulkoni.2010. Parasitologi. *Yogyakarta : Muha medika*. P. 61-70.
- Ang, H.H., Chan, K.L. and Mak, J.W. (1995). In vitro antimalarial activity of quassinoids from eurycoma longifolia agains malaysiant chloroquine resistant plasmodium falcifarum isolates. *Planta Medica*, 61 (12), 177-178.
- Ankanna, S. (2013). Isolation and identificstion of phenolic compound by hplc and electrospray ionization mass spectrometry and their free radical scavenging activity of shores tumbuggsis roxb. *Departement of Botany, Sri Vennkateswara University, Tirupati* 517-501. Andhra Pradesh India.
- Aprilia, A. Hidayati, N. (2015). Uji aktivitas antioksidan senyawa fenolik ekstrak metanol kulit batang tumbuhan nyiri batu (xylocarpus moluccensis). UNESA : Surabaya.
- Aryanti, T.M. Ermayanti, K.L. Prinadi an R.M. Dewi, (2006). Uji daya antimalaria artemisia spp, terhadap plasmodium falcifarum. *majalah farmasi indonesia* 7 (2): 81-84.
- Ariantari, N. P., P.A.Vanadis, K.G.Y.Widyadana, L. Tumewu, A. Widyawaruyanti. (2012). In vitro antimalarial activity of methanolic extract of morus alba l. leaves against plasmodium falciparum 3d7. surakarta – indonesia. international conference: *Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine in Health Care (TCAM)*. In Press
- Arulmozhi, D.K., Veeran J, A., Bodhankar, S.L., (2004). Neonatal rat model of type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Pharmacology*, Vol. 36, pp. 217-221.
- Barazing, H. (2007). Pengobatan aman cara nabi: herba sebagai pengobatan modern alternatif, *tinjauan Medis Dan Syariat Islam*
- Bawa, I.G.A.G. (2009). Isolasi dan identifikasi golongan senyawa aktif dari daging buah pare (momordica charantia l.). *Jurnal Kimia*. FMIPA Universitas Udayana.
- Baird, J.K., Sustriayu, M.F. Nalim, H. Basri, S. Masbar, B. Leksana, E. Tjitra, R.M. Dewi, Hairani, and F.S. Wignal. (1996). Survey of resistance to chloroquine by Plasmodium vivax in Indonesia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 90:409-411.
- Benayad, z., Cordove, G.C., Safi. N.N. (2014). Characterization of flavonoid glycoside from fenugreek (trigonella foenun-graecum) crude by hplc-dad-

esi/ms analysis.institute of food science, *Tecnology and Nutrition of the Spanish National Reseach Council (ICTAN-CSIC)*.

- Bintang, M. (2010). Biokimia teknik penelitian. Jakarta: Erlangga.
- Cholis, I.N. (2009). Aktivitas antiplasmodium fraksi semipolar ekstrak etanol rimpang temu mangga (*curcuma mangga na*) terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*. *Skripsi* Diterbitkan Surakarta: Fakultas Farmasi UNMUH.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). Pemerintah rrc bantu obat anti malaria senilai 3 milyar kepada indonesia <http://www.depkes.go.id>, 24 September 2015.
- Direktorat Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang. (2011). Epidemiologi malaria di indonesia, dalam buletin jendela data dan informasi kesehatan, triwulan i. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta. Hlm 1–16.
- Dewi, L.K. (2007). Kajian ekstrak umbi gadung (*dioscorea hispida*), biji rekak (*sapindus rarak*) dan biji sirsak (*annona muricata l.*) sebagai bahan pengawet alami kayu. *Skripsi*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Diastuti, H. 2010. Identifikasi senyawa antikanker dari ekstrak kloroform kulit batang rhizopora mucronata. *Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Jendral Soediman Purwokerto*.
- Dua, V.K., V.P., Ro, R., Joshi, B.C., Valecha, N., Devi, C.U., Bhatnagar, M.C., Sharma, V.P., and Subbrarao, S.K. (2004). Anti-malaria activity of some xanthones isolated from the roots of andrographis paniculata. *Journal of Erthnopharmacology*, 95 (2-3), 247-251.
- Djawis, D. (2004). Teknik penelitian kimia organik bahan alam, workshop peningkatan sumber daya manusia. *Penelitian dan Pegolahan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Padang: Univesitas Andalas.
- Fitria, Lenny, A., dan Sari, F. (2009). Identifikasi flavonoid dari buah tumbuhan mempelas. *Jurnal Penelitian Sains Volume 12 Nomer 3* © 12305. Sumatera selatan: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya.
- Gandjar, I.G dan Rohman, Abdul. (2010). Kimia farmasi analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gandahusada et al., (1998). Parasitologi kedokteran . Jakarta: Gaya Baru.
- Guenther, E. (1987). Minyak atsiri. Jilid I. *Terjemahan Ketaren S.* Jakarta: Universitas Jakarta.
- Gritter, R.J. (1991). Pengantar kromatografi edisi kedua. Diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

- Halimah, N. (2012). Uji fitokimia dan uji toksisitas ekstrak tanaman anting-anting (*acalypha indica linn*) terhadap larva udang artemia salina leach. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. *Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: ITB.
- Hayati,, E.K., (2012). Identifikasi senyawa dan aktivitas antimalaria in vivo ekstrak etil asetat tanaman anting-anting (*acalypha indica linn*). *Jurnal Penelitian Malang*: Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim.
- Hendayana, S. (2006). Kimia pemisahan metode kromatografi dan elektroforesis modern. bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- Hilda.,A., R. (2014). Uji sitotoksik akar rumput bambu (*lophatherum gracile b.*) dengan variasi pelarut melalui metode bslt dan identifikasi golongan senyawa aktif. *Skripsi Tidak diterbitkan Malang*: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Husna, A. N. (2011). Uji identifikasi dan uji efektivitas antimalaria senyawa ekstrak etanol tanaman anting-anting secara in vivo pada mencit jantan. *Skripsi Tidak diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Indarti, R. (2009). Santon dan biflavonoid dari kulit kayu batang *garcinia xanthochymus* (asam kandis) dan aktivitas antimalaria. *Tesis Diterbitkan*. Surabaya: FMIPA ITS.
- Jing, Z., Ying, W., Xiao-Qi, Z., Qing-Wen, Z., dan Wen-Cai, Y. (2009). Chemical constituents from the leaves of *lophatherium gracile* . China. *Chinesse Journal of Natural Medicines*,7(6): 428-431.
- Jimmy, Miharty, dan Herdini. (2002). Gallokatekin senyawa flavonoid lainnya dai kulit batang rengas (*gluta rengas linn.*). *Jurnal natur Indonesia 4 (1) Tahun 2002 ISSN 1410-9379*. Riau: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Riau.
- Kartini, Ketut Sepdyana dkk. (2015). Isolasi dan identifikasi senyawa aktif ekstrak etanol buah pare (*monordica charanita*) yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. *Jurnal Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry) Tahun 2015 ISSN 2302-7274*. Bali: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Bali.
- Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. (2009). Antimalarials from nature. *Bioorganic and Medical Chemistry*.

- Kobayashi, M., Kitagawa, I. (1994). Bioactive substances isolated from marine sponge, a miniature conglomerate of various organisms *J. Pure & Appl. Chem.*, Vol. 66, No.4, hal 819-826.
- Kusumawati, I., Djatmiko, W., Rohman, R., Studiawan, H., dan Ekasari, W. (2003). Eksplorasi keanekaragaman dan kandungan kimia tumbuhan obat di hutan tropis gunung arjuna. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, ISSN 1412-2855, 2 (3): 100-104.
- Khopkar, S.M. (2008). Konsep dasar kimia analitik. Jakarta: *UI Press*.
- Lestari, S.M. (2012). Uji penghambatan ekstrak daun sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) terhadap aktivitas xantin oksidase dan identifikasi golongan senyawa pada fraksi yang aktif. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Markham, K.R. (1988). Cara mengidentifikasi flavonoid. *Diterjemahkan oleh Kosasih Padrnawinata*. Bandung: ITB.
- Nihaya, A.H. (2011). Identifikasi Senyawa Ekstrak Etil Aetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) dan Uji Aktivitas Antimalaria In Vivo pada Hewan Uji. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang : Malang.
- Nuriyati, A. (2013). Uji antimalalaria secara in vitro dari ekstrak daun akway (*Drimys beccariana* Gibbs) asal pegunungan arfak manokwari terhadap plasmodium falcifarum. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Papua: Manokwari.
- Pouplim, J.N., T.H., Dolecek, C., Phan, T.A., Farrar, J., Carron, P., Bodo, B., and Grellier, P. (2007). Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medical plants from south vietnam. *Journal of ethnopharmacology* 109.
- Praptiwi dan Chairul. (2008). Pengaruh pemberian ekstrak pauh kijang (*Irvingia malayana* Oliv ex. A. Benn) terhadap tingkat penurunan parasitemia pada mencit yang diinfeksi plasmodium berghei. Surakarta: FMIPA UNS.
- Poedjiadi, A. dan F. M. T, Supriyanti. (1994). Dasar-dasar biokimia, Jakarta : ui press.
- Rinidar, Isa, M., Armansyah, T. (2013). Nilai inhibition concentration (ic50) ekstrak metanol daun sernai (*Wedelia biflora*) terhadap plasmodium falciparum yang diinkubasi selama 32 dan 72 jam. *Jurnal Kimia* Vol. 7, No. 1, hal 7-12.
- Robinson, T. (1995). Kandungan senyawa organik tumbuhan tinggi. *Terjemahan Kosasih Padmawinata*. Bandung: ITB.

- Rohmaniyah, Makhshushotul. (2016). Uji antioksidan ekstrak etanol 80% dan fraksi aktif rumput bambu (*lophatherum gracile brogn*) menggunakan metode dpph serta identifikasi senyawa aktif. *Skripsi* Tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim : Malang.
- Saxena, S., Pant.N, Jain.DC, Bhakuni.RS. (2003). Antimalarial agents from plant sources. *current science*, Vol. 85: 1314-1329.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. (2003). Analisa bahan makanan dan pertanian. Yogyakarta: liberty.
- Voight, R. (1995). Buku pelajaran teknologi farmasi. *Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi*, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Tjay, T.H dan Rahardja, K., (2000). Obat- obat penting, Edisi V, 567-583, 696, 804, 805, Penerbit PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.
- Tjitra E. (1994). Obat-obat baru anti malaria, dalam cermin dunia kedokteran no.94. Jakarta: grup pt kalbe farma. hlm 16-22.
- Turalely r. (2011). Fraksi antiplasmodium paling aktif dari daun kapur (*harmsiopanax aculeatus harms*) dan identifikasi beberapa kandungan senyawanya menggunakan gc-ms. *Tesis*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hlm 23-25.
- Tjitra, E., S. Gunawan, F.H.M. Laihad, S. Sulaksono, S.L. Arjoso, and N. Manurung. (1997). Evaluation of antimalarial drugs in Indonesia 1981-1995. *Buletin Penelitian Kesehatan* 25:27-58.
- Trager,W. and J.B. Jensen. (1976). Human malaria parasites in continous culture. *Science* 193:673-675.
- Umami, F. (2006). Isolasi dan penentuan struktur alkaloid erythrinan dari daun cangkring (*erythrinofusca*) serta uji aktivitas antimalaria *in vitro*. *Jurnal Skripsi* Diterbitkan. Surabaya: FMIPA UNAIR.
- WHO(World Health Organization). (2008). In vitro micro-test for the assessment of the response of Plasmodium falciparum to chloroquine, mefloquine, quinine, amodiaquine, sulfadoxine/pyrimethamine and artemisinin. *World Malaria Report*.
- WHO.2011.World Malaria Report : (2011) Switzerland : *WHO Library Cataloguing-in-Publication Data*. Hlm 66.
- WHO.2012. Disease burden in sea region [http://www.searo.who.int/LinkFiles/Malaria in the SEAR Map SEAR Endemi city 10.pdf](http://www.searo.who.int/LinkFiles/Malaria%20in%20the%20SEAR%20Map%20SEAR%20Endemi%20city%2010.pdf) Diakses 21 Maret 2015.

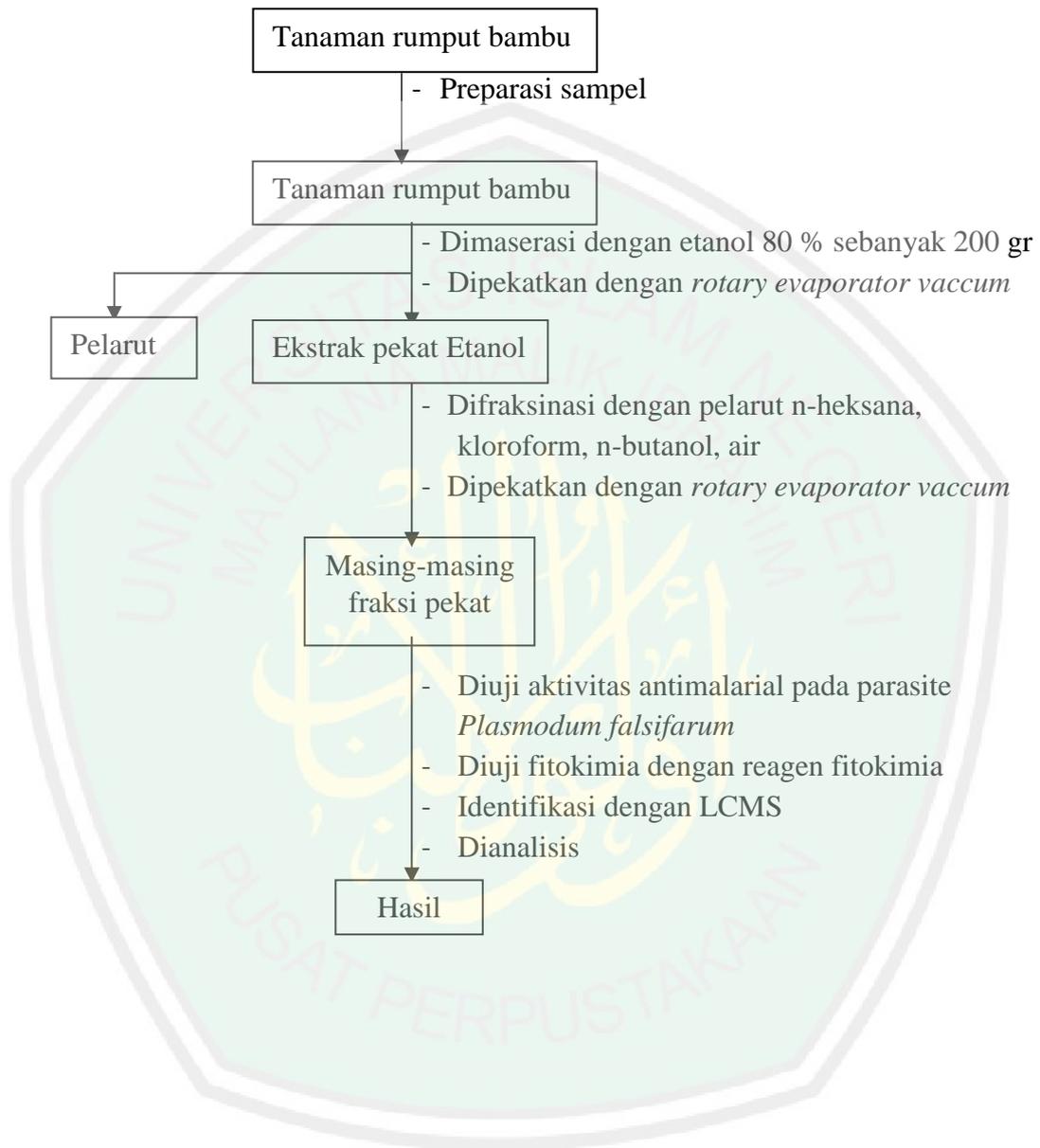
Widoyono. 2010. Penyakit tropis, epidemiologi, penularan, pencegahan dan pemberantasannya. Jakarta : Erlangga.

Wijayakusuma, H. 2008. Pengobatan herbal dengan ramuan tionghoa. Jakarta: Niaga Swadaya.



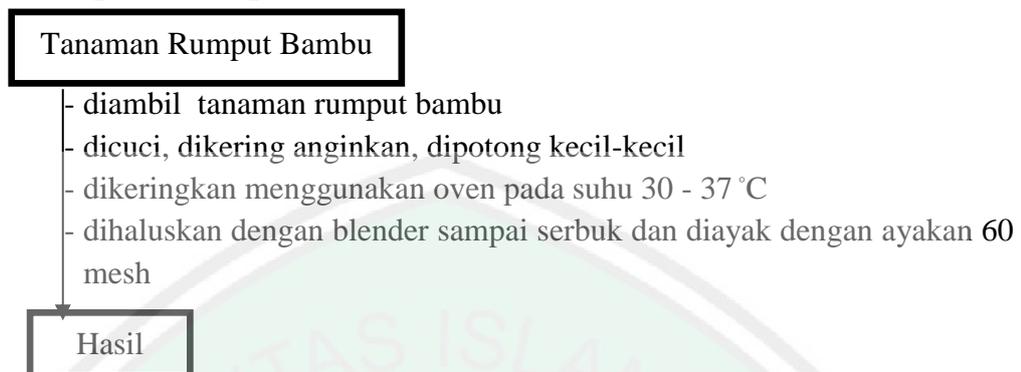
Lampiran 1

1.1 Daigram Alir Penelitian

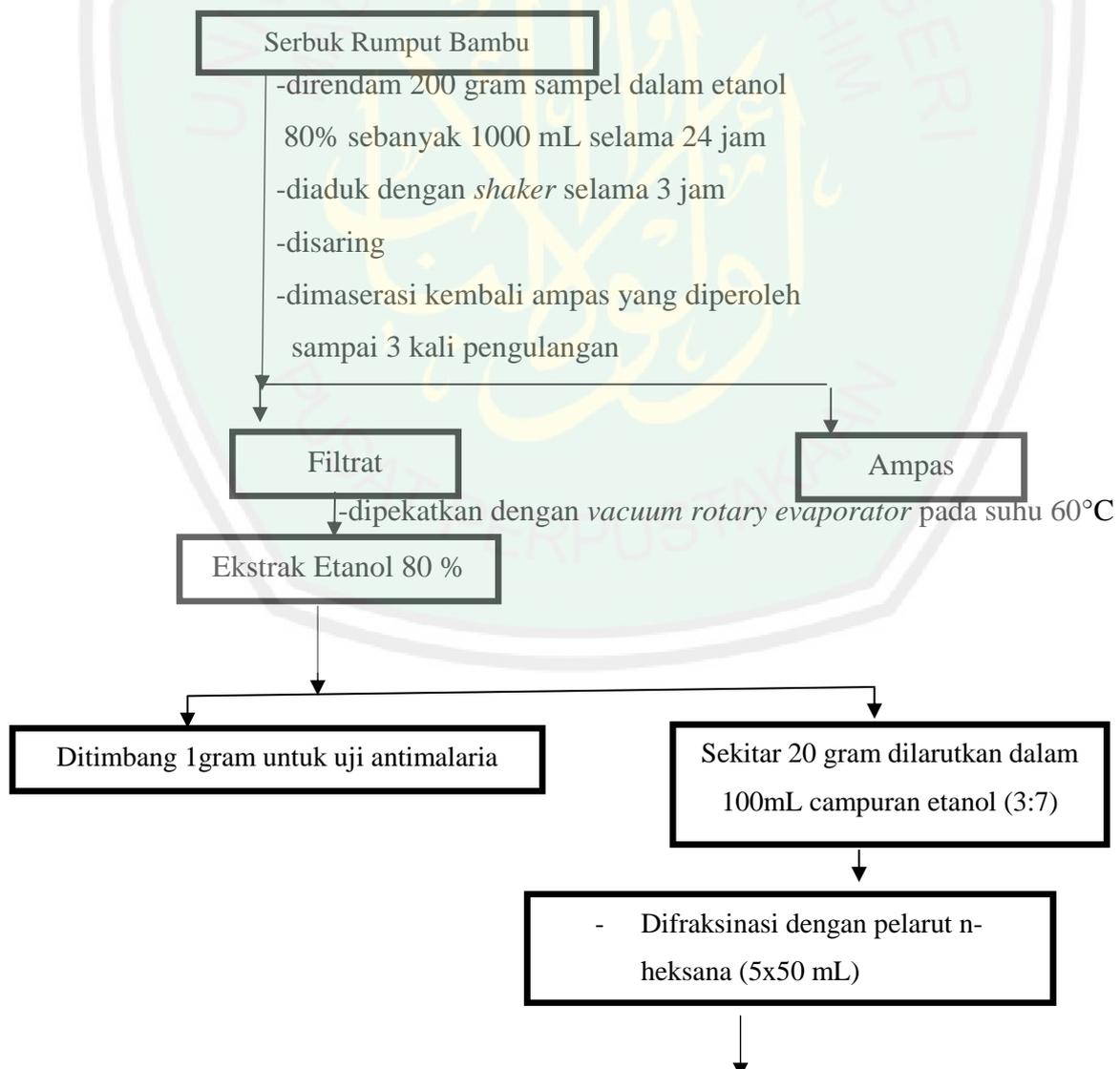


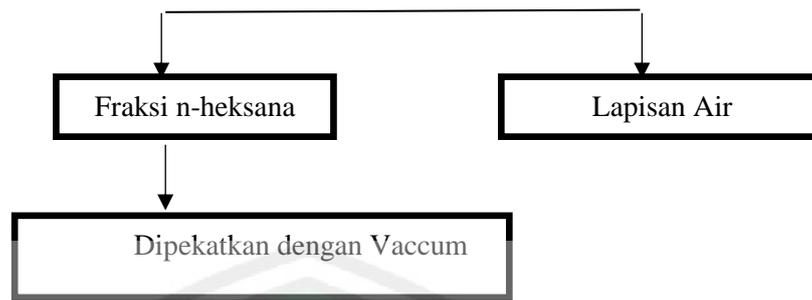
Lampiran 2. Skema Kerja

1.2.1 Preparasi Sampel



1.2.2 Ekstraksi Komponen Aktif





L.2.5 Prosedur Uji Aktivitas Antimalaria *in vitro*

1. Thawing Parasit

Parasit *Plasmodium*

- dicairkan pada suhu 37° C
- dipindahkan ke dalam tabung falcon 15 mL
- disuspensikan dengan NaCl 3,5 % secara perlahan
- diamkan 5-10 menit
- disentrifug dengan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C
- supernatan dibuang
- disuspensikan endapan dengan medium tidak lengkap
- dicampur perlahan dan *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang
- disuspensikan endapan dengan medium lengkap
- dicampur perlahan dan *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C dan supernatan dibuang
- ditambahkan 4,5 ml medium lengkap dan 0,5 mL RBC 50 %
- dipindahkan ke dalam cawan petri, dimasukkan ke dalam *candle jar* dan diinkubasi dalam inkubator yang bersuhu 37° C.

Medium kultur

- diganti setiap hari
- diletakkan *Patridish* dengan posisi miring
- diambil media secara hati-hati dengan mikropipet
- ditambahkan medium baru sesuai dengan volume medium yang dibuang
- dibuat hapusan darah tipis (untuk melihat pertumbuhan kultur (parasitemia))
- Jika parasitemia lebih dari 4 % maka dilakukan subkultur
- jika masih rendah medium diganti setiap hari dan setiap 2 hari dilakukan penambahan RBC 50 %.

Hasil

3. Sinkronisasi Parasit

Kultur parasit

- dipindahkan Kultur parasit pada *petridish* ke *falcon* 15 mL
- *disentrifuge* 1500 rpm selama 5 menit dan dibuang supernatan
- disuspensikan endapan dengan sorbitol 5 % sebanyak 3-4 kali volume endapan
- didiamkan selama 10 menit pada temperatur kamar.
- *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. supernatan dibuang
- Endapan dicuci dengan medium tak lengkap dan *disentrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C.
- ditambahkan meduim lengkap dan RBC 50 %
- dimasukkan kultur dimasukkan ke dalam *candle jar* dan diinkubasi dalam inkubator yang bersuhu 37°C.

Hasil

4. Persiapan Bahan Uji

Bahan Uji / Sample

- ditimbang 10 mg bahan uji dan dilarutkan dalam 100 µL DMSO
- diencerkan dengan media lengkap sehingga diperoleh konsentrasi 0,01 µL/mL ; 0,1 µL/mL; 1 µL/mL ; 10 µL/mL dan 100 µL/mL
- pembuatan larutan uji dilakukan secara aseptik.

Hasil

5. Uji Aktivitas Antimalaria

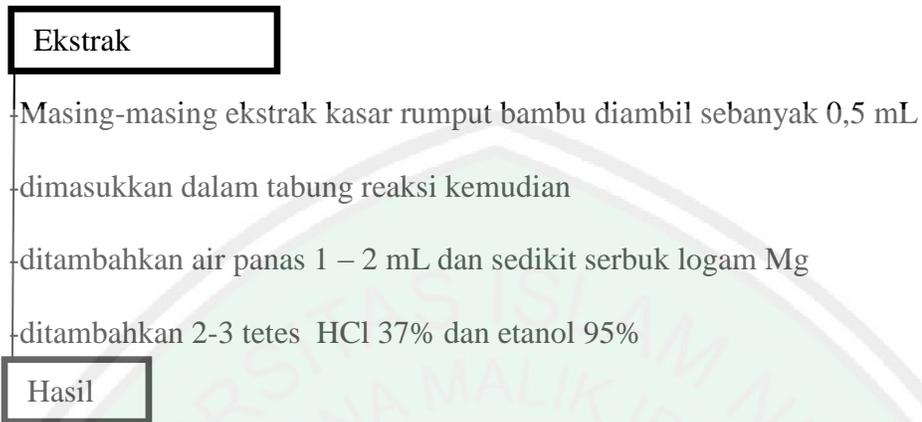
500 μ L suspensi parasit

- dimasukkan ke dalam semua *well* pada *mikroplate* (1-6)
- ditambahkan dengan 500 μ L bahan uji dengan berbagai dosis pada *mikroplate* 1-5
- pada *well* 6 diisi dengan 500 μ L suspensi parasit dan 500 μ L medium lengkap
- dimasukkan *Mikroplate* dalam *candle jar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.
- setelah 48 jam inkubasi
- dibuang Supernatan pada *well*
- pelet dibuat sediaan hapusan darah tipis
- dikeringkan sediaan pada suhu kamar
- difiksasi dengan metanol selama \pm 1-5 detik dan dikeringkan kembali
- diwarnai dengan giemsa 15 % dan dibiarkan selama \pm 10 menit
- dicuci dengan air dan dikeringkan
- diperiksa sediaan hapusan darah tipis menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100 kali
- Eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dihitung untuk menentukan tingkat parasitemia
- prosentase nilai parsitemia digunakan untuk menentukan persentase hambatan parasitemia
- dihitung nilai hambatan parasitemia

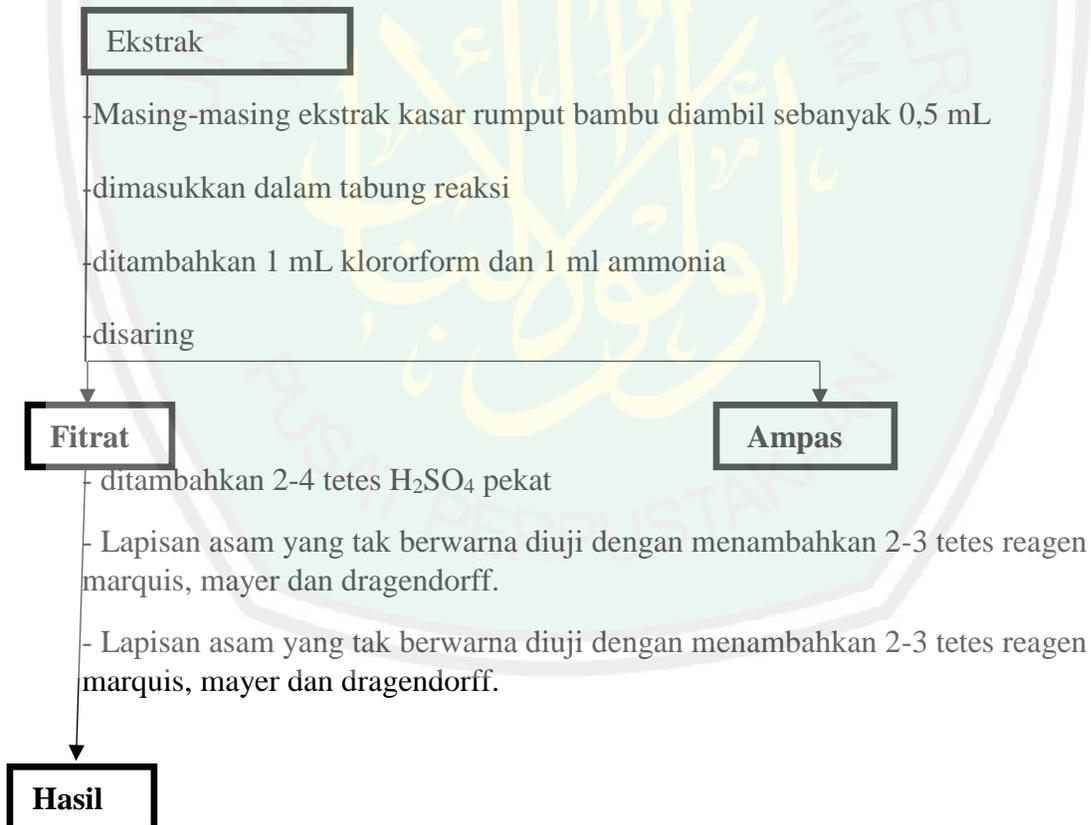
Hasil

1.2.4 Uji Senyawa dengan Uji Reagen

1.2.4.1 Uji Flavonoid



1.2.4.2 Uji Alkaloid (Febriany, 2004 dan Harborne, 1987)



1.2.4.3 Diagram Uji Saponin

Ekstrak

- Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu diambil sebanyak 2mg
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan air (1:1) sambil dikocok selama 10
- bila busa kira-kira setinggi 1-10cm ditetesi HCl 2 N

Timbul busa dengan ketinggian 1-10 cm

1.2.4.4 Uji Tanin (Halimah, 2010)

Ekstrak

- Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu diambil sebanyak 0,5 mL
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%

Hijau kehitaman/biru tinta

1.2.4.5 Uji Triterpenoid/steroid (Lestari, 2012)

Ekstrak

- Masing-masing ekstrak kasar rumput bambu diambil sebanyak 0,5 mL
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan 0,5 kloroform
- ditambah 0,5 mL anhidrida asetat
- ditambahkan asam sulfat pekat (1:3) air
- ditambahkan 2-3 tetes HCl 37% dan etanol 95%

Cincin kecoklatan/violet (triterpenoid) atau warna hijau kebiruan (steroid)

1.2.5 Identifikasi Senyawa dengan HPLC/DAD/ESI/ToF/MS

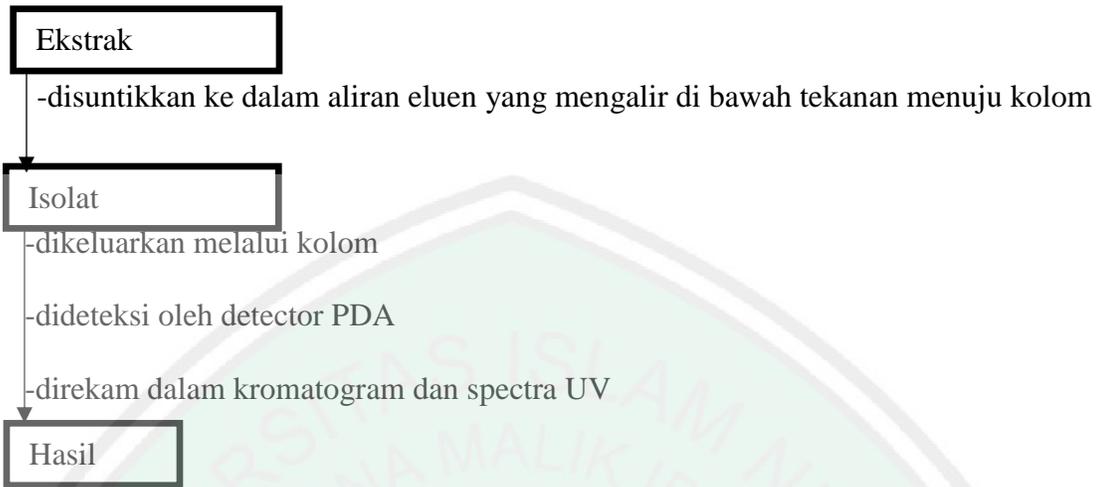
1.2.5.1 Preparasi Eluen pada HPLC/DAD

Ekstrak

- disaring dengan saringan nilon diameter pori 0,45 mikrometer dengan bantuan pompa vakum

Hasil

1.2.5.2 Penyuntikan Sampel pada HPLC/DAD



Parameter analisa yang digunakan adalah sebagai berikut:

Alat : HPLC Alliance 2695 (Waters) with *photodiode-array* (PDA) Deterctor
2996 (Waters)

Column : Sunfire C 18, 5 cm, 4,6 mm ID x 150 mm (Waters)

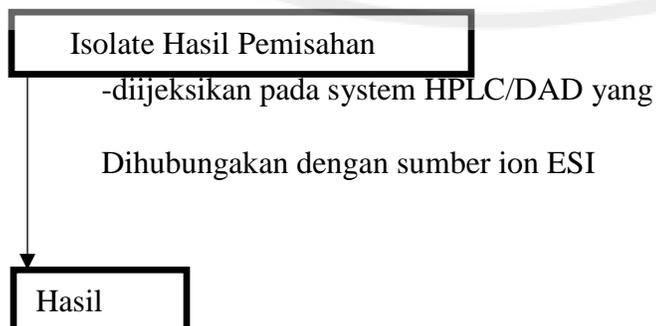
Flow rate : 1 ml/min, injection 10 microliter

Eluent : a. H₂O (HPLC grade) + fprmic acid; B. Acetonitrile

HPLC method : isocratic 30 % H₂O + 0,1 % formic acid, 70 % acetonitrile

Waterlenght : Maxplot, 210 nm, 410 nm 435 nm

1.2.5.3 Identifikasi Senyawa dengan HPLC/DAD/ESI/ToF/MS



Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

3.1 Pembuatan Larutan HCl 1 N

$$\begin{aligned}
 \text{BJ HCl pekat} &= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37 \% \\
 \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ g/mol} \\
 n &= 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+) \\
 \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}} \\
 &= \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\
 12,09 \text{ N} \times V_1 &= 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37 % sebanyak 8,3 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi ± 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.2 Pembuatan HCl 2 %

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 37 \% \times V_1 &= 2 \% \times 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 0,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL menggunakan pipet volume 0,5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.3 Pembuatan Reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, dkk., 2001).

3.4 Pembuatan Reagen Mayer

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

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl_2 1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

3.5 Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat	= 5 mL
Anhidrida asetat	= 5 mL
Etanol absolut	= 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam. Setelah itu larutan asam sulfat tersebut dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL. Kemudian diambil larutan anhidrida asetat sebanyak 5 mL di dalam lemari asam dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi asam sulfat. Selanjutnya diambil larutan etanol absolut 50 mL di dalam lemari asam dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan anhidrida. Kemudian ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner, dkk., 2001).

3.6 Pembuatan etanol 80%

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

$$96 \% \times V_1 = 80 \% \times 1000 \text{ mL}$$

$$V_1 = 833,33 \text{ mL} \rightarrow 835 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diisi labu takar 1000 mL dengan 100 mL aquades, lalu ditambahkan 835 mL etanol p.a (96 %) secara perlahan, goyangkan sebentar dan ditambahkan aquades kembali hingga tanda batas, dikocok hingga homogen.

3.7 Pembuatan FeCl₃ 1 %

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{g terlarut}}{\text{g terlarut} + \text{g pelarut}} \times 100 \%$$

$$\text{g terlarut} + \text{g pelarut} = \frac{\text{g terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned}
 1 \text{ g} + \text{g pelarut} &= \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100 \% \\
 \text{g pelarut} &= 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g} \\
 \text{volume pelarut} &= \frac{\text{g pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/ml}} = 99 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 g menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak 99 mL untuk melarutkan serbuk tersebut dengan bantuan pengadukan.

3.8 Pembuatan RBC Hematokrit 50 %

Sebanyak 100 μL zat antikoagulan *sitrat fosfat dektrosa* (CPD) dan adenin dimasukkan ke dalam spuit, kemudian darah penderita sebanyak ± 10 mL diambil secara intra vena dan dicampur hingga homogen dan dimasukkan dalam tabung *sentrifuse* dan disentrifuse pada 3000 rpm selama 15 menit. Bagian plasma dan leukositnya (lapisan bagian atas) dibuang sedikit demi sedikit, lalu sebanyak ± 14 mL medium *complete* ditambahkan ke dalam eritrosit, lalu disentrifuse pada 2500 rpm selama 15 menit. Bagian plasma dan leukositnya (lapisan bagian atas) dibuang sedikit demi sedikit dan ± 14 mL medium *complete* ditambahkan ke dalam eritrosit dan disentrifuse pada 2500 rpm selama 10 menit (dengan 2 kali pengulangan). Bagian plasma dan leukositnya (lapisan bagian atas) dibuang sedikit demi sedikit sampai hanya tinggal eritrositnya saja, kemudian volume eritrosit kemudian diukur. Eritrosit dimasukkan ke dalam tabung berisi medium *complete*. Tabung disentrifuse dan disimpan dalam kulkas yang bersuhu 4°C .

3.9 Prosedur Pembuatan Media RPMI (*Rosewell Parla Memorial Institute*)

Bahan yang digunakan yaitu *Hipoxanthin* sebanyak 0,05 gram, RPMI (1 bungkus), HEPES Buffer (asam N-2-hidroksietilpiperazin-N-2-etana sulfonat) sebanyak 5,96 gram, NaHCO₃ sebanyak 2,1 gram, *Gentamycin* 50 µg/ml (0,5mL) dan *Aqua steril for irrigation* (1 liter). *Hipoxanthin* dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan larutkan dalam *aqua steril for irrigation q.s* dengan bantuan *stirrer*. Setelah *hipoxanthin* terlarut, masukkan RPMI dibungkusnya dengan aqua steril add bersih (WARNA BRIGHT RED). HEPES Buffer ke dalam larutan sambil terus di *stirrer*, lalu ditambahkan NaHCO₃ kedalam larutan sambil terus di *stirrer*. *Gentamycin* sebanyak 0,5 mL ditambahkan ke dalam larutan dengan bantuan *sprit* injeksi, lalu *aqua steril* ditambahkan hingga volumenya 1 liter. Larutan kemudian difiltrasi di LAFC.

LAMPIRAN 4. Perhitungan Hasil Penelitian

4.1 Nilai Rendemen

1. Ekstrak Peekat Etanol

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{21,58 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,79\% \end{aligned}$$

2. Fraksi n Heksana

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{3,35 \text{ g}}{15 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 22,23\% \end{aligned}$$

4.2 Hasil Uji Antimalaria

4.2.1 Sampel Ekstrak Kasar Etanol

1.1 Nilai % Parasitemia

1. D0 (% pertumbuhan pada jam ke-0) untuk kontrol (-), konsentrasi 100; 10; 1; 0,1; 0,01 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} \text{D0} &= \frac{\text{Eritrosit yang terinfeksi parasit}}{\text{Total eritrosit (1000 eritrosit)}} \times 100\% \\ &= \frac{12,8}{1000} \times 100\% \\ &= 1,28\% \end{aligned}$$

2. Persen parasitemia pada jam ke- 48

$$\% \text{ parasitemia} = \frac{\text{Eritrosit yang terinfeksi parasit}}{\text{Total eritrosit (1000 eritrosit)}} \times 100\%$$

➤ Kontrol (-)

$$1. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{61,4}{1000} \times 100\% \\ = 6,14 \%$$

$$2. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{61,7}{1000} \times 100\% \\ = 6,17 \%$$

➤ Konsentrasi 100 µg/ml

$$1. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{23,8}{1000} \times 100\% \\ = 2,38 \%$$

$$2. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{24,0}{1000} \times 100\% \\ = 2,4 \%$$

➤ Konsentrasi 10 µg/ml

$$1. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{2,93}{1000} \times 100\% \\ = 29,3 \%$$

$$2. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{29,7}{1000} \times 100\% \\ = 2,97 \%$$

➤ Konsentrasi 1 µg/ml

$$1. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{37,0}{1000} \times 100\% \\ = 3,70 \%$$

$$2. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{37,2}{1000} \times 100\% \\ = 3,72 \%$$

➤ Konsentrasi 0,1 µg/ml

$$1. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{56,5}{1000} \times 100\% \\ = 5,65 \%$$

$$2. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{56,2}{1000} \times 100\% \\ = 5,62 \%$$

➤ Konsentrasi 0,01 µg/ml

$$1. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{60,2}{1000} \times 100\% \\ = 6,02 \%$$

$$2. \ \% \text{ parasitemia} = \frac{60,7}{1000} \times 100\% \\ = 6,07 \%$$

1.2 Nilai % Pertumbuhan

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \% \text{ parasitemia 48 jam} - \% \text{ parasitemia 0 jam}$$

- Kontrol (-)
 1. % pertumbuhan = $6,14 - 1,28 = 4,86$
 2. % pertumbuhan = $6,17 - 1,28 = 4,89$
- Konsentrasi 100 µg/ml
 1. % pertumbuhan = $2,38 - 1,28 = 1,10$
 2. % pertumbuhan = $2,4 - 1,28 = 1,12$
- Konsentrasi 10 µg/ml
 1. % pertumbuhan = $4,21 - 1,28 = 2,93$
 2. % pertumbuhan = $4,25 - 1,28 = 2,97$
- Konsentrasi 1 µg/ml
 1. % pertumbuhan = $4,98 - 1,28 = 3,70$
 2. % pertumbuhan = $5 - 1,28 = 3,72$
- Konsentrasi 0,1 µg/ml
 1. % pertumbuhan = $5,65 - 1,28 = 4,37$
 2. % pertumbuhan = $5,62 - 1,28 = 4,34$
- Konsentrasi 0,01 µg/ml
 1. % pertumbuhan = $6,02 - 1,28 = 4,74$
 2. % pertumbuhan = $6,07 - 1,28 = 4,79$

1.3 Nilai % Hambatan

$$\% \text{ Hambatan} = 100\% - [Xu/Xk \times 100\%]$$

Xu : Pertumbuhan pada kontrol

Xk : Pertumbuhan pada konsentrasi

- Kontrol (-)
 1. % Hambatan $100\% - \left(\frac{4,86}{4,86}\right) \times 100\% = 0$
 2. % Hambatan $100\% - \left(\frac{4,89}{4,89}\right) \times 100\% = 0$

- Konsentrasi 100 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{1,10}{4,86}\right) \times 100\% = 77,37$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{1,12}{4,89}\right) \times 100\% = 77,10$
- Konsentrasi 10 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{2,93}{4,86}\right) \times 100\% = 39,71$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{2,97}{4,89}\right) \times 100\% = 39,26$
- Konsentrasi 1 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{3,70}{4,86}\right) \times 100\% = 23,87$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{3,72}{4,89}\right) \times 100\% = 23,92$
- Konsentrasi 0,1 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,37}{4,86}\right) \times 100\% = 10,08$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,34}{4,89}\right) \times 100\% = 11,25$
- Konsentrasi 0,01 µg/ml %
 1. Hambatan $100\% - \left(\frac{4,74}{4,86}\right) \times 100\% = 2,47$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,79}{4,89}\right) \times 100\% = 2,04$

1.4 Nilai % Hambatan rata-rata

$$\% \text{ Hambatan rata-rata} = \frac{\% \text{ Hambatan 1} + \% \text{ Hambatan 2}}{2}$$

- Konsentrasi 100 µg/ml

$$\% \text{ Hambatan rata-rata} = \frac{77,37\% + 77,10\%}{2}$$

$$= 77,23\%$$
- Konsentrasi 10 µg/ml

$$\% \text{ Hambatan rata-rata} = \frac{39,71\% + 39,26\%}{2}$$

$$= 39,49\%$$

- Konsentrasi 1 µg/ml
 % Hambatan rata-rata = $\frac{23,87 \% + 23,93 \%}{2}$
 = 23,90 %
- Konsentrasi 0,1 µg/ml
 % Hambatan rata-rata = $\frac{10,08 \% + 11,25 \%}{2}$
 = 10,66 %
- Konsentrasi 0,01 µg/ml
 % Hambatan rata-rata = $\frac{2,47 \% + 2,04 \%}{2}$
 = 2,26 %

4.2.2 Sampel Fraksi N Heksana Rumput Bambu

1.1 Nilai % Parasitemia

1. D0 (% pertumbuhan pada jam ke-0) untuk kontrol (-), konsentrasi 100; 10; 1; 0,1; 0,01 µg/ml

$$\begin{aligned} D0 &= \frac{\text{Eritrosit yang terinfeksi parasit}}{\text{Total eritrosit (1000 eritrosit)}} \times 100\% \\ &= \frac{12,8}{1000} \times 100\% \\ &= 1,28 \% \end{aligned}$$

2. Persen parasetimia pada jam ke- 48

$$\% \text{ parasetimia} = \frac{\text{Eritrosit yang terinfeksi parasit}}{\text{Total eritrosit (1000 eritrosit)}} \times 100\%$$

- Kontrol (-)
 1. % parasetimia = $\frac{61,4}{1000} \times 100\%$
 = 6,14 %
 2. % parasetimia = $\frac{61,7}{1000} \times 100\%$
 = 6,17 %
- Konsentrasi 100 µg/ml
 1. % parasetimia = $\frac{20,3}{1000} \times 100\%$
 = 2,03 %
 2. % parasetimia = $\frac{20,2}{1000} \times 100\%$
 = 2,02 %

- Konsentrasi 10 µg/ml
1. % parasetimia = $\frac{36,0}{1000} \times 100\%$
= 3,60 %
 2. % parasetimia = $\frac{36,2}{1000} \times 100\%$
= 3,62 %

- Konsentrasi 1 µg/ml
1. % parasetimia = $\frac{53,5}{1000} \times 100\%$
= 5,45 %
 2. % parasetimia = $\frac{54,8}{1000} \times 100\%$
= 5,48 %

- Konsentrasi 0,1 µg/ml
1. % parasetimia = $\frac{58,7}{1000} \times 100\%$
= 5,87 %
 2. % parasetimia = $\frac{58,9}{1000} \times 100\%$
= 5,89 %

- Konsentrasi 0,01 µg/ml
1. % parasetimia = $\frac{61,0}{1000} \times 100\%$
= 6,1 %
 2. % parasetimia = $\frac{61,2}{1000} \times 100\%$
= 6,12 %

1.2 Nilai % Pertumbuhan

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \% \text{ parasitemia 48 jam} - \% \text{ parasitemia 0 jam}$$

- kontrol (-)
1. % parasetimia 6,14 – 1,28 = 4,86
 2. % parasetimia 6,17 – 1,28 = 4,89
- Konsentrasi 100 µg/ml
1. % parasetimia 3,31 - 1,28 = 2,03
 2. % parasetimia 3,3 - 1,28 = 2,02
- Konsentrasi 10 µg/ml
1. % parasetimia 4,88 – 1,28 = 3,60
 2. % parasetimia 4,90 – 1,28 = 3,62

- Konsentrasi 1 µg/ml
 1. % parasetimia $5,37 - 1,28 = 4,09$
 2. % parasetimia $5,41 - 1,28 = 4,13$
- Konsentrasi 0,1 µg/ml
 1. % parasetimia $5,85 - 1,28 = 4,57$
 2. % parasetimia $5,86 - 1,28 = 4,58$
- Konsentrasi 0,01 µg/ml
 1. % parasetimia $6,1 - 1,28 = 4,82$
 2. % parasetimia $6,12 - 1,28 = 4,84$

1.4 Nilai % Hambatan

$$\text{persen hambatan} = 100\% - \left(\frac{Xu}{Xk} \right) \times 100\%$$

- Konsentrasi 100 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{2,03}{4,86} \right) \times 100\% = 58,23$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{2,02}{4,89} \right) \times 100\% = 58,69$
- Konsentrasi 10 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{3,60}{4,86} \right) \times 100\% = 25,93$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{3,62}{4,89} \right) \times 100\% = 25,97$
- Konsentrasi 1 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,09}{4,86} \right) \times 100\% = 15,84$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,13}{4,89} \right) \times 100\% = 15,54$
- Konsentrasi 0,1 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,57}{4,86} \right) \times 100\% = 5,97$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,58}{4,89} \right) \times 100\% = 6,34$
- Konsentrasi 0,01 µg/ml
 1. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,82}{4,86} \right) \times 100\% = 0,82$
 2. % Hambatan = $100\% - \left(\frac{4,84}{4,89} \right) \times 100\% = 1,02$

4.3 Hasil Uji Aktivitas Antimalaria

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	R	% Parasitemia		Pertumbu han (%)	Hambatan (%)	% Hambatan Rata-Rata	
			0 Jam	48 Jam				
Ekstrak Etanol	Kontrol (-)	1	1,28	6,14	4,86	-	-	
		2	1,28	6,17	4,89	-	-	
	100	1	1,28	2,38	1,10	77,37	77,23	
		2	1,28	2,4	1,12	77,10		
	10	1	1,28	4,21	2,93	39,71	39,49	
		2	1,28	4,25	2,97	39,26		
	1	1	1,28	4,98	3,70	23,87	23,90	
		2	1,28	5	3,72	23,93		
	0,1	1	1,28	5,65	4,37	10,08	10,66	
		2	1,28	5,62	4,34	11,25		
	0,01	1	1,28	6,02	4,74	2,47	2,26	
	Fraksi Heksan a	Kontrol (-)	1	1,28	6,14	4,86	-	-
			2	1,28	6,17	4,89	-	-
		100	1	1,28	3,31	2,03	58,23	58,46
2			1,28	3,3	2,02	58,69		
10		1	1,28	4,88	3,60	25,93	25,95	
		2	1,28	4,90	3,62	25,97		
1		1	1,28	5,37	4,09	15,84	15,69	
		2	1,28	5,41	4,13	15,54		
0,1		1	1,28	5,85	4,57	5,97	6,15	
		2	1,28	5,86	4,58	6,34		
0,01		1	1,28	6,1	4,82	0,82	0,92	
		2	1,28	6,12	4,84	1,02		

4.4 Hasil Uji IC₅₀ Ekstrak Etanol 80 %

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate
PROBIT	.010	.003	.001	.010	-2.484
	.020	.009	.002	.023	-2.064
	.030	.016	.005	.039	-1.798
	.040	.025	.008	.059	-1.598
	.050	.037	.013	.082	-1.435
	.060	.051	.018	.108	-1.296
	.070	.067	.025	.138	-1.175
	.080	.086	.034	.173	-1.066
	.090	.108	.045	.211	-.967
	.100	.133	.057	.255	-.876
	.150	.317	.156	.558	-.499
	.200	.633	.342	1.057	-.199
	.250	1.144	.660	1.855	.059
	.300	1.948	1.174	3.123	.290
	.350	3.189	1.971	5.140	.504
	.400	5.090	3.174	8.369	.707
	.450	8.003	4.968	13.589	.903
	.500	12.492	7.634	22.147	1.097
	.550	19.501	11.619	36.439	1.290

.600	30.661	17.664	60.917	1.487
.650	48.945	27.056	104.296	1.690
.700	80.125	42.167	184.842	1.904
.750	136.388	67.734	344.457	2.135
.800	246.612	114.305	692.010	2.392
.850	491.877	209.444	1567.360	2.692
.900	1172.534	446.600	4405.288	3.069
.910	1446.264	535.899	5657.666	3.160
.920	1816.516	653.114	7426.443	3.259
.930	2333.919	811.600	10018.229	3.368
.940	3087.808	1034.193	13999.401	3.490
.950	4249.084	1363.061	20510.760	3.628
.960	6182.804	1884.668	32138.391	3.791
.970	9804.785	2805.563	55848.975	3.991
.980	18098.355	4757.757	116505.747	4.258
.990	47555.948	10923.629	371727.126	4.677

4.4 Hasil Uji IC₅₀ Fraksi Heksana 80 %

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate
PROBIT .010	.007	.001	.026	-2.127
.020	.021	.004	.063	-1.669
.030	.042	.010	.111	-1.377
.040	.069	.019	.171	-1.158
.050	.105	.032	.243	-.980
.060	.148	.049	.329	-.829
.070	.202	.070	.430	-.696
.080	.265	.098	.547	-.577
.090	.340	.132	.682	-.468
.100	.428	.174	.837	-.369
.150	1.107	.534	1.987	.044
.200	2.355	1.260	4.078	.372
.250	4.501	2.548	7.800	.653
.300	8.052	4.661	14.372	.906
.350	13.806	7.962	25.938	1.140
.400	23.026	12.988	46.276	1.362
.450	37.771	20.563	82.165	1.577
.500	61.474	31.986	146.073	1.789

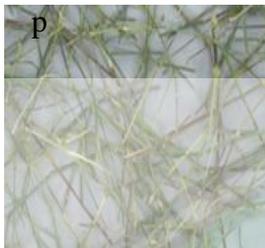
.550	100.053	49.368	261.726	2.000
.600	164.124	76.269	476.239	2.215
.650	273.737	118.986	888.443	2.437
.700	469.309	189.368	1720.903	2.671
.750	839.684	311.587	3524.714	2.924
.800	1604.951	540.781	7856.575	3.205
.850	3415.110	1025.067	20061.614	3.533
.900	8831.445	2283.957	65485.399	3.946
.910	11109.479	2770.314	87183.343	4.046
.920	14254.856	3416.163	118995.081	4.154
.930	18750.402	4300.599	167553.461	4.273
.940	25466.442	5560.484	245602.835	4.406
.950	36108.313	7451.950	379973.160	4.558
.960	54420.613	10508.396	634659.836	4.736
.970	90112.256	16027.852	1192877.799	4.955
.980	176170.575	28076.991	2761506.689	5.246
.990	506781.827	67864.204	1.038E7	5.705

4.5 Hasil Uji signifikan SPSS

Model		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	7971.531	2	3985.766	166.289	.001 ^a
	Residual	71.907	3	23.969		
	Total	8043.438	5			

Lampiran 5. Dokumentasi

1.5.1. Preparasi Sampel



Batang rumput bambu



Daun



akar



Serbuk rumput bambu

1.5.2 Ekstraksi Senyawa Aktif

- Ekstraksi Maserasi



Proses perendaman (maserasi)



proses penyaringan



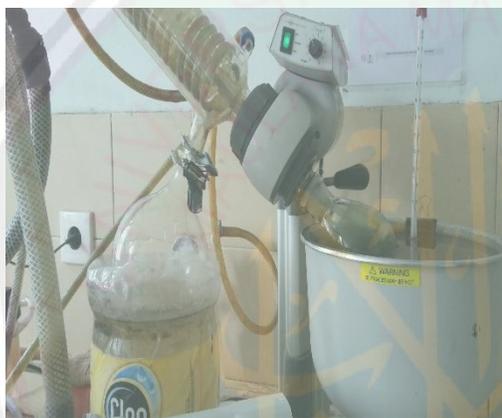
pembuatan etanol 80 %



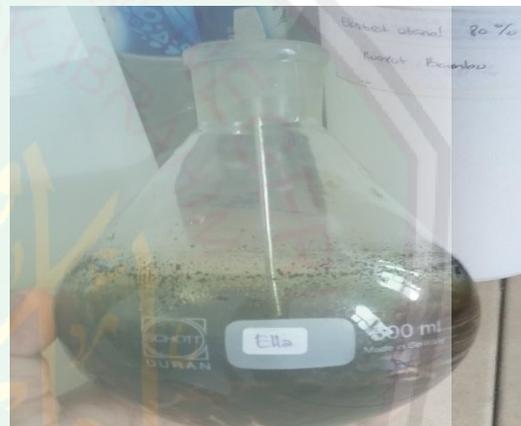
filtrat



maserasi ulang



Pemekatan filtrat dengan



Hasil Rotavrotary evaporator vaccum

- Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)



1.5.3 Uji Fitokimia dengan Reagen

- **Mayer Alkaloid**

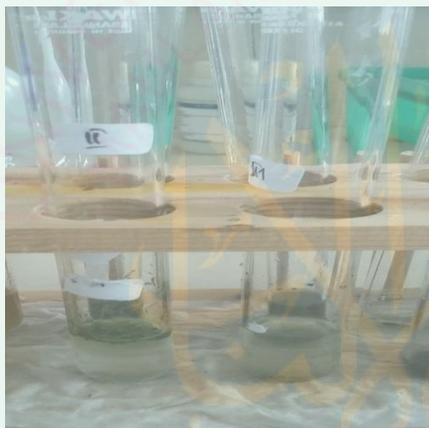


Etanol



n-Heksana

- **Dradendrof Alkaloid**



- **Flavonoid**



Etanol



n-heksana



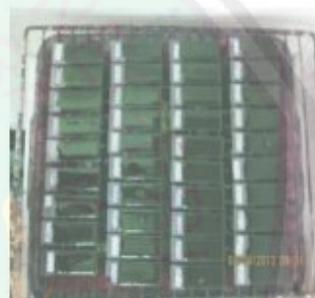
Proses pengujian sampel



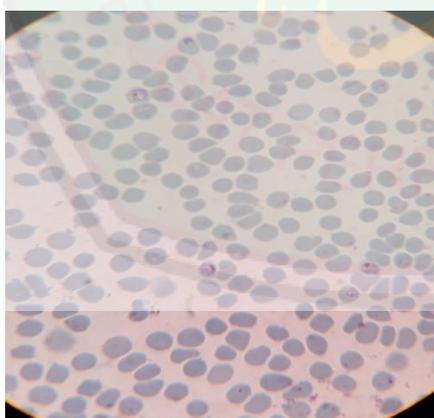
candle jar



Proses Pemanenan



pewarnaan dengan giemsa



Perhitungan parasitemia