

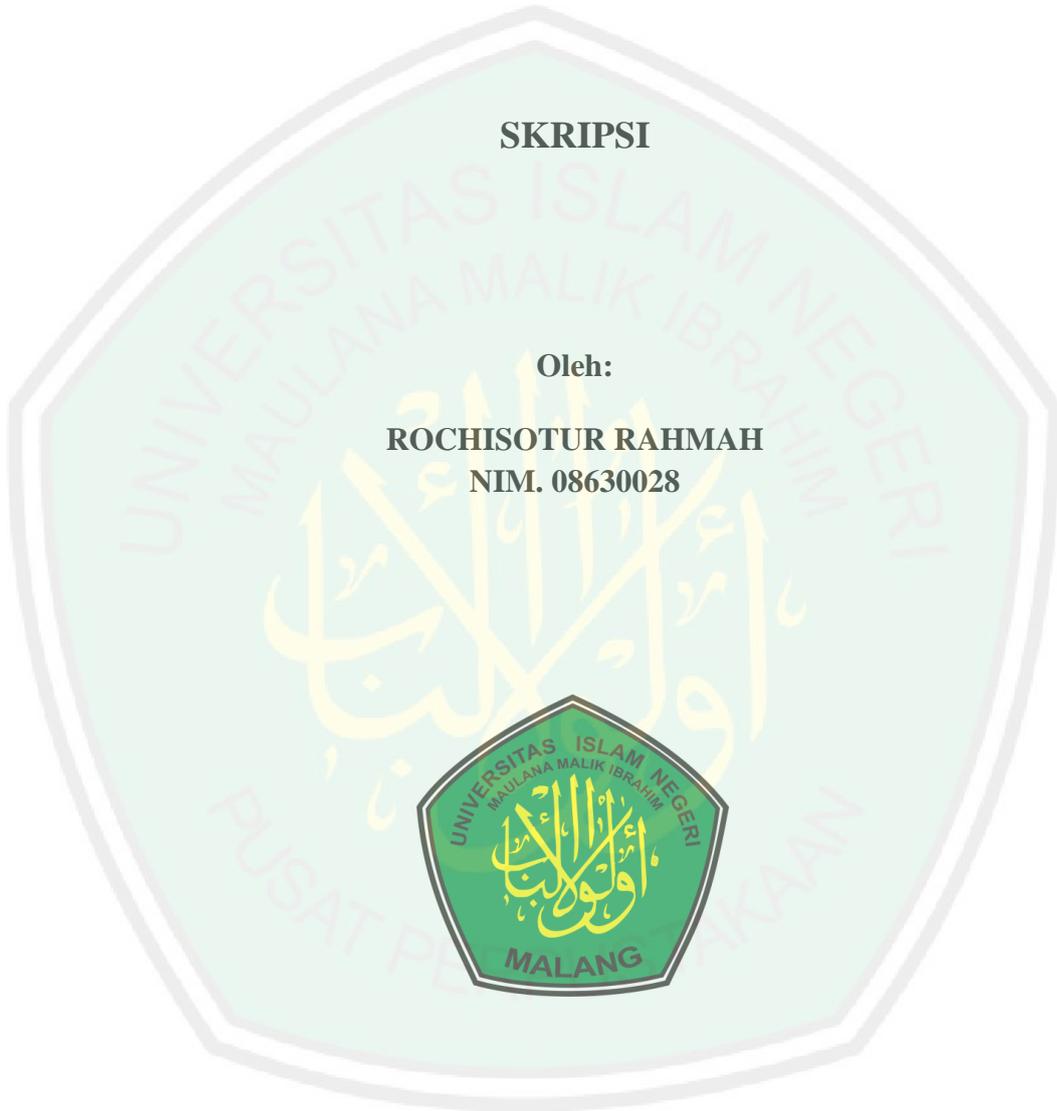
**ISOLASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTIMALARIA ISOLAT SENYAWA
ALKALOID TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn.)
SECARA *IN VIVO* PADA MENCIT JANTAN**

SKRIPSI

Oleh:

ROCHISOTUR RAHMAH

NIM. 08630028



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

2014

**ISOLASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTIMALARIA ISOLAT SENYAWA
ALKALOID TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn.)
SECARA *IN VIVO* PADA MENCIT JANTAN**

SKRIPSI

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.)

Oleh:

ROCHISOTUR RAHMAH

NIM. 08630028

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2014

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rochisotur Rahmah

NIM : 08630028

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Isolasi Dan Uji Efektivitas Antimalaria Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn.) Secara *In Vivo* Pada Mencit Jantan

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 11 April 2014

Yang Membuat Pernyataan

Rochisotur Rahmah
NIM. 08630028

**ISOLASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTIMALARIA ISOLAT SENYAWA
ALKALOID TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn.)
SECARA *IN VIVO* PADA MENCIT JANTAN**

SKRIPSI

Oleh:

**ROCHISOTUR RAHMAH
NIM.08630028**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:
Tanggal: 11 April 2014**

Pembimbing Utama

Pembimbing Agama

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

**Umayyatus Syarifah, M.A.
NIP. 19820925 200901 2 005**

**Mengetahui
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**

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

**ISOLASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTIMALARIA ISOLAT SENYAWA
ALKALOID TANAMAN ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn.)
SECARA *IN VIVO* PADA MENCIT JANTAN**

SKRIPSI

Oleh:

**ROCHISOTUR RAHMAH
NIM. 08630028**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu
Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si.)**

Tanggal 11 April 2014

**Penguji Utama : A. Ghanaim Fasya, M.Si. (.....)
NIP. 19820616 200604 1 002**

**Ketua Penguji : Begum Fauziyah, S.Si, M.Farm (.....)
NIP. 19830628 200912 2 001**

**Sekr. Penguji : Elok Kamilah Hayati, M.Si (.....)
NIP. 19790620 200604 2 002**

**Anggota Penguji : Umaiatus Syarifah, M.A. (.....)
NIP. 19820925 200901 2 005**

**Mengesahkan
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**

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



"PERSEMBAHAN"

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Allah akan meninggikan orang-orang beriman dan berilmu di antara kalian beberapa derajat “

(QS. Al-Mujadalah:11)

“Siapa berjalan mencari ilmu pasti Allah akan memudahkan baginya jalan ke Surga” (HR. Muslim)

*Karya ini kupersembahkan
sebagai bukti puja dan puji syukurku
kepada Allah SWT
Atas segala karunia-Nya yang tiada tara.
Tanda cintaku kepada Nabi Muhammad
Kepada kedua orang tuaku tercinta Zainul Ilmi dan Syafi'udah
yang senantiasa mencurahkan doa, kasih sayang & perhatian
di setiap waktu.*

*Kakak dan Adhekkku (Mas Wafa, Nafis dan Ata) yang selalu
mendukung dalam meraih cita.*

*Seluruh Saudara, keluarga serta sahabatku yang senantiasa
mendoakan demi kelancaran dan kesuksesan dalam menggapai cita.*

Motto

**MULAI DARI MIMPI,
RAIH DENGAN JUJUR,
WUJUDKAN DENGAN USAHA
DAN NIKMATI HASILNYA
DENGAN BERBAGI**

وَابْتَغِ فِيمَا آتَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا وَأَحْسِنَ
كَمَا أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ وَلَا تَبْغِ الْفُسَادَ فِي الْأَرْضِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ



dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik, kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya atas terselesaikan skripsi dengan judul “Isolasi dan Uji Efektivitas Antimalaria Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) Secara *In Vivo* Pada Mencit Jantan”. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, menghaturkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah telah sabar dan ikhlas menuntun dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan tugas akhir.
4. Ibu Umaiatus Syarifah, M.A, selaku Pembimbing Agama, terima kasih atas arahan, saran, masukan dan nasehatnya.

5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku konsultan terima kasih atas kesediaannya meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penelitian hingga penulisan tugas akhir ini.
6. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Seluruh staf Laboratorium (mas Taufik, mas Abi, mbak Rika, mbak Memey, dan mbak Susi) serta staf Administrasi (mbak Ana dan mbak Iis) Jurusan Kimia atas seluruh bantuan dan sumbangan pemikiran selama penyelesaian skripsi ini.
8. Kedua orang tuaku dan seluruh keluarga besar yang dengan penuh kasih sayang dan keikhlasan telah memberikan segala kebutuhan kepada penulis, memberi dorongan dan motivasi baik secara material maupun spiritual.
9. Teman-teman angkatan 2008 yang telah berbagi kebersamaannya selama ini dalam senang maupun susah sehingga tetap terjaga persaudaraan kita.
10. Kakak-kakak dan adik-adik keluarga besar kimia tetap semangat dan terus semangat, tidak ada kesulitan yang tak dapat diatasi. Semoga ilmu kita dapat bermanfaat untuk masyarakat.
11. Semua rekan-rekan dan pihak yang tidak tertulis, terima kasih atas bantuan dan dukungannya.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 11 April 2014

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Masalah.....	8
1.4 Batasan Masalah	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tanaman Anting-anting dalam Perspektif Islam.....	9
2.2 Tanaman Anting-anting dalam Perspektif Ilmu Pengetahuan	10
2.3 Kandungan Kimia Anting-anting	11
2.4 Manfaat Anting-anting	13
2.5 Penyakit Malaria	13
2.6 Plasmodium berghei.....	16
2.7 Mencit	18
2.8 Senyawa Aktif Antimalaria.....	19
2.8.1 Alkaloid.....	19
2.8.2 Klorokuin	27
2.9 Teknik Pemisahan Alkaloid Tanaman Anting-anting.....	29
2.9.1 Maserasi	29
2.9.2 Kromatografi Lapis Tipis.....	33
BAB III METODE PENELITIAN	36
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.2 Alat dan Bahan.....	36
3.2.1 Alat.....	36
3.2.2 Bahan	37
3.3 Rancangan Penelitian	38
3.4 Tahapan Penelitian	39
3.5 Prosedur Penelitian.....	39

3.5.1 Preparasi Sampel.....	39
3.5.2 Ekstraksi Senyawa Alkaloid	39
3.5.3 Uji Fitokimia Kandungan Senyawa Alkaloid	41
3.5.4 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	41
3.5.4.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik	41
3.5.4.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	43
3.5.5 Uji Antimalaria	44
3.5.5.1 Persiapan Hewan Uji Coba.....	44
3.5.5.2 Perlakuan Hewan Uji Coba	44
3.5.5.3 Pembuatan Donor	45
3.5.5.4 <i>Freezing</i> dan <i>Thawing</i> Isolat <i>P. berghei</i>	46
3.5.5.5 Inokulasi <i>P. berghei</i>	46
3.5.5.6 Pengukuran Derajat Parasitemia.....	47
3.6 Analisis Data	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Preparasi Sampel.....	49
4.2 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting	50
4.3 Identifikasi Ekstrak Kasar Alkaloid dengan Reagen	56
4.4 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	58
4.4.1 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Analitik (KLTA)	60
4.4.2 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif (KLTP)	64
4.5 Uji Antimalaria Isolat Alkaloid Hasil Pemisahan Secara KLTP	66
4.6 Dugaan Mekanisme Penghambatan Parasit Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting (<i>Acalypha indica</i> Linn)	86
4.7 Pemanfaatan Tumbuhan Berkhasiat Obat dalam Perspektif Islam	90
BAB V PENUTUP.....	95
5.1 Kesimpulan	95
5.2 Saran.....	95
DAFTAR PUSTAKA	97
LAMPIRAN.....	104

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Data penampakan noda dari ekstrak kasar alkaloid yang dihasilkan pada KLT analitik berdasarkan berbagai macam komposisi eluen menggunakan lampu UV 366 nm.....	61
Tabel 4.2 Hasil KLT senyawa alkaloid.....	63
Tabel 4.3 Rerata derajat parasitemia isolat alkaloid Anting-anting.....	69
Tabel 4.4 Persen penghambatan pertumbuhan parasit rata-rata isolat alkaloid tanaman Anting-anting hari ke-4.....	83
Tabel 4.5 Hasil uji Tukey derajat parasitemia hari ke-4.....	84



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anting-anting (<i>Acalypha australis</i> L.)	10
Gambar 2.2 Struktur Inti Alkaloid	21
Gambar 2.3 Struktur Turunan Alkaloid	26
Gambar 2.4 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff	27
Gambar 2.5 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Meyer	27
Gambar 2.6 Struktur Klorokuin	28
Gambar 2.7 Mekanisme aksi Klorokuin dalam menghambat parasit malaria	29
Gambar 4.1 Reaksi dugaan dalam proses isolasi alkaloid	55
Gambar 4.2 Reaksi hidrolisis bismut	57
Gambar 4.3 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff	57
Gambar 4.4 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Meyer	58
Gambar 4.5 Foto plat hasil KLTA ekstrak kasar alkaloid tanaman Anting- anting dengan eluen terbaik kloroform:metanol (9,5:0,5)	62
Gambar 4.6 Hasil pemisahan secara KLTP senyawa isolat alkaloid tanaman Anting-anting (<i>Acalypha indica</i> L.).....	66
Gambar 4.7 Grafik selisih persen derajat parasitemia kelompok perlakuan selama 4 hari	70
Gambar 4.8 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok kontrol (-) tanpa terapi pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4	72
Gambar 4.9 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid I pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4	73
Gambar 4.10 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid II pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4	75
Gambar 4.11 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid III pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4	76
Gambar 4.12 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid IV pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4	77
Gambar 4.13 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid V pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.....	78
Gambar 4.14 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid VI pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4	79
Gambar 4.15 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid VII pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.....	80
Gambar 4.16 Gambaran eritrosit terinfeksi kontrol negatif dan ketujuh kelompok perlakuan hari ke-4.....	81
Gambar 4.17 Struktur berberine.....	87

Gambar 4.18 Struktur Menisperine.....	87
Gambar 4.19 Struktur heme dan struktur hemozoin	88
Gambar 4.20 Senyawa obat berikatan dengan hemozoin	88
Gambar 4.21 Mekanisme aksi Klorokuin dalam menghambat parasit malaria ..	90



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian.....	104
Lampiran 2 Skema Kerja	105
Lampiran 3 Pembuatan Larutan	113
Lampiran 4 Penentuan dan Perhitungan Dosis	117
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen.....	121
Lampiran 6. Perhitungan Nilai Rf.....	122
Lampiran 7. Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria.....	124
Lampiran 8. Perhitungan Persen Penghambatan Pada Semua Hari Perlakuan	126
Lampiran 9. Persentase Penghambatan Parasitemia Mencit.....	127
Lampiran 10 Hasil Analisis Statistika Program SPSS.....	128
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian.....	148



ABSTRAK

Rahmah, R. 2014. **Isolasi Dan Uji Efektivitas Antimalaria Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) Secara *In Vivo* Pada Mencit Jantan.** Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Pembimbing II: Umayyatus Syarifah, M.A; Konsultan: Rachmawati Ningsih, M.Si.

Kata Kunci: Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.), Antimalaria, Isolat, Alkaloid, KLT

Al Quran surat as Sajdah ayat 27 menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan tanaman sebagai tanda kekuasaan-Nya sebagai bahan berfikir sehingga dapat dimanfaatkan, salah satunya untuk pengobatan. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan uji efektivitas antimalaria isolat alkaloid tanaman Anting-anting secara *in vivo* pada mencit jantan. Penelitian ini bertujuan mencari eluen terbaik dalam pemisahan ekstrak kasar alkaloid dengan metode KLT serta mengetahui aktivitas antimalaria isolat alkaloid terhadap pertumbuhan *P. berghei*.

Isolasi alkaloid tanaman Anting-anting dilakukan dengan maserasi menggunakan metanol dan ekstraksi cair-cair secara asam basa. Ekstrak alkaloid diuji fitokimia menggunakan reagen dan dipisahkan dengan KLT analitik untuk mencari eluen terbaik dengan variasi eluen kloroform : metanol (9,5:0,5), kloroform : metanol : amoniak (85:15:1), kloroform : metanol (1:4), etil asetat : metanol : air (6:4:2) dan kloroform : etil asetat (8:2). Hasil isolat alkaloid diuji aktivitas antimalaria *in vivo* terhadap mencit jantan. Data derajat parasitemia dianalisis dengan Uji *One Way* ANOVA dan uji Tukey.

Hasil KLT analitik menunjukkan bahwa eluen terbaik untuk KLT Preparatif adalah kloroform:metanol (9,5:0,5) (v/v) yang menghasilkan 7 noda dan berwarna jingga, coklat dan kuning kehijauan setelah disemprot reagen Dragendorf dan dideteksi di bawah lampu UV 366 nm dengan Rf antara 0,21-0,92. Berdasarkan analisis Uji *One Way* ANOVA dan uji Tukey diperoleh kesimpulan bahwa antara ketujuh isolat alkaloid jika dibandingkan dengan kontrol negatif tidak ada perbedaan yang signifikan. Akan tetapi, kelompok perlakuan isolat alkaloid 4 dan 6 memiliki % penghambatan parasit, berturut-turut sebesar 21,2 % (b/b) dan 11,9 % (b/b).

ABSTRACT

Rahmah, R. 2014. **The Isolation and The In Vivo Antimalaria Effectiveness Test of Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Based Alkaloid Compound Isolate in the Male Mouse**. Advisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Advisor II: Umaiyatus Syarifah, M.A; Consultant: Rachmawati Ningsih, M.Si.

Keywords: Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.), Antimalaria, Isolate, Alkaloid, TLC

Al Quran surah as Sajdah Verse 27 has explained that God grows the plant as the sign of God existence to keep His creatures thinking about the benefits. One benefit of plant is for medication. This research, therefore, attempts to do the isolation and the in-vivo anti-malaria effectiveness test of Anting-Anting Plant in the Male Mouse. The objective of research is to search for the best eluent by isolating alkaloid crude extract with TLC method and to understand the anti-malaria activity of alkaloid isolate against *P.berghei* growth.

The isolation of Anting-Anting based alkaloid is conducted with maceration involving methanol and acid-alkali based liquid-liquid extraction. Alkaloid extract is subjected to phytochemical test using reagent and then, it is isolated with analytical TLC to produce the best eluent with the following eluent variations: chloroform : methanol (9.5:0.5), chloroform : methanol : ammonia (85:15:1), chloroform : methanol (1:4), acetate ethyl : methanol : water (6:4:2), and chloroform : acetate ethyl (8:2). The resultant of alkaloid isolate is tested for in-vivo anti-malaria activity in the male mouse. Data of parasitemia degree is analyzed with One-Way ANOVA Test and Tukey Test.

Result of Analytic TLC indicates that the best eluent for Preparative TLC is chloroform : methanol (9.5:0.5) (v/v) which produces 7 stains. Orange red, brown, and greenish yellow are colors emerging after the eluent is sprayed with Dragendorff Reagent and detected below 366 nm UV lamp with Rf between 0.21-0.92. Result of One Way ANOVA indicates that seven alkaloid isolates have very low potentials in preventing the growth of *P. Berghei* parasite compared to negative control group. However, the exception is found because Group 4 and 6 of alkaloid isolate treatment have prevention against parasite for 21.2 % (w/w) and 11.9 % (w/w).

مستخلص البحث

الرحمة، ر . ٢٠١٤ . العزلة و الاختبار الفعالية المضادة للملاريا من المركبات قلويات من النبات انتيغ-انتبيغ (أكليفا انديكا لين). بواسطة في الجسم الحي في الذكور الفئران . المشرفة الأول: ايلوق كاملة هياتي ، الماجستيرة ؛ المشرفة الثانية : أومية الشريفة الماجستيرة والمستشارة : رحمواتي نجسية، الماجستيرة.

الكلمات الرئيسية : النباتات انتيغ-انتبيغ (أكليفا انديكا لين)، المضادة للملاريا، العزل، القلويدات، كل ت

كان القرآن الكريم سورة السجدة الآية ٢٧ كما يوضح أن الله تنمو مجموعة متنوعة من النباتات باعتباره علامة على قدرة الله سبحانه وتعالى للتفكير بحيث يمكن استخدامها، واحدة لتلقي العلاج. فعلت العزلة واختبار فعالية المضادة للملاريا قلويد في النبات انتيغ-انتبيغ معزولة في الجسم الحي في ذكور الفئران. تهدف هذه الدراسة إلى إيجاد أفضل شاطئ في فصل القلويدات استخراج النفط الخام عن طريق وسيلة كلت والتحقق في النشاط المضاد للملاريا من معزولة قلويد على نمو فلسمو ديوم بر كى .

وقد تم العزلة قلويد من النبات انتيغ-انتبيغ بالنقاعة الميثانول و يستخرج السائل-بالسائل في الحمضي القاعدي. الاستخراج قلويد القاعدي. استخراج قلويد الخام التي تم الحصول عليها باستخدام الكواشف اختبار المواد الكيميائية النباتية ثم يستخرجه مفصولة طريقة كل ت التحليلي للعثور على أفضل التباين شاطئ أي الكلوروفورم : الميثانول (٥،٩:٥،٠) ، والكلوروفورم : الميثانول : الأمونيا (٨٥:15:1) ، والكلوروفورم : الميثانول (١:4) ، خلاص الإيثيل : الميثانول : الماء (٦:٤:٢) ، وكلوروفورم : خلاص الإيثيل (٨:2). نتائج قلويد نقية معزولة مختبارها النشاط المضاد للملاريا في الجسم الحي الذكور الفئران. وتحليل البيانات مع درجة الطفيل اختبار أنوفا واحد طريقة و اختبار توكي.

عرض كل ت التحليلية أن أفضل شاطئ لمحضرة كل ت الإعدادي هي الكلوروفورم : الميثانول (٥،٩:٥،٠) (ح/ح) يؤدي ٧ البقع أما لونها البرتقالي والبني والأصفر والأخضر بعد يرشي بالكاشف درجرندروف و اكتشفها تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية ٣٦٦ نانومتر بعلي عامل المقاومة قيمة ٢١،٠ - ٩٢،٠. يستند بتحليل اختبار أنوفا واحد طريقة و اختبار توكي فإنه يستنتج أن يعزل سبعة قلويدات بالمقارنة مع الضوابط السلبية لا يوجد فرق كبير. ولكن، مجموعة معالجة قلويد يعزل ٤ و ٦ مع تثبيط في المئة من الطفيليات ، على التوالي ٢١،٢ % (ح/ح) و ٩،١١ % (ح/ح) .

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada saat ini malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang serius dan kompleks yang dihadapi manusia. Penyakit malaria terutama disebabkan oleh empat spesies parasit protozoa (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium malariae*) yang menginfeksi sel darah merah manusia (Zulkoni, 2010). Penyakit menular ini ditularkan melalui gigitan nyamuk jenis tertentu. Jenis nyamuk yang sering menularkan adalah nyamuk *Anopheles*.

Allah SWT berfirman dalam al Quran surat al Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۖ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya:

Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, Maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.

Nyamuk, seekor makhluk yang lemah tapi menakjubkan. Ketika membuat perumpamaan seekor nyamuk, Allah SWT hendak menjelaskan kepada manusia bahwa makhluk yang kecil ukurannya, namun agung dalam penciptaanya. Di

balik penciptaanya, terdapat hikmah yang tersirat di antaranya adalah mengajarkan manusia supaya tidak sombong. Pada hakikatnya manusia adalah sebagai makhluk yang paling sempurna di antara semua makhluk Allah SWT yang ada di alam semesta ini. Akan tetapi sekuat apapun fisik manusia, tidak dapat dibandingkan dengan makhluk Allah yang kecil ini yang dianggap oleh sebagian manusia adalah makhluk hina. Makhluk ini dapat menyebabkan penyakit mematikan pada manusia. Diantaranya adalah penyakit demam berdarah dan malaria. Di balik proses penciptaannya, kita dapat mengetahui tanda-tanda kekuasaan Allah. Proses perkembangan nyamuk merupakan peristiwa istimewa, mulai dari larva hingga menjadi nyamuk dewasa.

Di Indonesia, diperkirakan 50 % penduduk Indonesia masih tinggal di daerah endemis malaria. Menurut perkiraan WHO, tidak kurang dari 30 juta kasus malaria terjadi setiap tahunnya di Indonesia, dengan 30.000 kematian. Survei kesehatan nasional tahun 2001 mendapati angka kematian yang disebabkan penyakit malaria sekitar 8-11 per 100.000 orang per tahun (Ndoen, 2006). Berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2001, di Indonesia setiap tahunnya terdapat sekitar 15 juta penderita malaria klinis yang mengakibatkan 30.000 orang meninggal dunia (Depkes, 2003 dalam Saputra, 2011). Di samping itu, sampai saat ini penyakit malaria masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat dunia di antara 6 penyakit tropis lainnya. Tingkat infeksi malaria berkisar antara 300- 500 juta orang/tahun, dan tingkat kematian akibat malaria berkisar antara 2-5 juta orang/tahun (Ncokazi and Egan, 2005).

Salah satu cara untuk mengobati penyakit malaria adalah dengan menggunakan obat-obatan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman tanamannya. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan tinggi sepanjang tahun. Salah satu keanekaragaman hayati yang sering dimanfaatkan adalah golongan tumbuhan.

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia sudah mengenal dan memakai tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya penanggulangan masalah kesehatan. Hal ini telah dilakukan jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern menyentuh masyarakat. Pengetahuan tentang tumbuhan obat merupakan warisan budaya bangsa yang turun-temurun. Saat ini terdapat kecenderungan kuat untuk kembali menggunakan sesuatu yang bersifat alami (*back to nature*), termasuk penggunaan obat bagi kesehatan. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat antimalaria adalah tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.).

Allah SWT berfirman dalam al Quran surat as Sajdah ayat 27:

أَوَلَمْ يَرَوْا أَنَّا نَسُوقُ الْمَاءَ إِلَى الْأَرْضِ الْجُرُزِ فَنُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا تَأْكُلُ مِنْهُ
 أَنْعَمُهُمْ وَأَنْفُسُهُمْ أَفَلَا يُبْصِرُونَ ﴿٢٧﴾

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan, bahwasannya Kami menghalau (awan yang mengandung) air ke bumi yang tandus, lalu Kami tumbuhkan dengan air hujan itu tanaman yang daripadanya makan hewan ternak mereka dan mereka sendiri. Maka apakah mereka tidak memperhatikan?” (Q.S. al-Sajdah : 27).

Shihab (2002) menafsirkan bahwa berbagai tumbuhan dengan kualitas baik yang tumbuh pada tanah subur dan banyak manfaat yang terkandung di dalamnya. Begitu pula dengan tanaman Anting-anting yang memiliki manfaat bagi manusia. Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan hewan dan tumbuhan untuk kepentingan manusia. Sungguh maha pemurah Sang Pencipta yang telah memberikan nikmat-Nya yang amat besar kepada manusia. Oleh karena itu, manusia tidak dibenarkan apabila hanya menikmati saja tanpa mau berfikir dan berusaha untuk meningkatkan kualitas ciptaan-Nya, serta menjaga dan melestarikannya menjadi suatu ilmu pengetahuan yang bermanfaat.

Tanaman Anting-anting merupakan gulma yang sangat umum ditemukan tumbuh liar di pinggir jalan, lapangan rumput maupun di lereng gunung. Tanaman Anting-anting adalah sejenis herba yang menghasilkan senyawa kimia yang berguna dalam pengobatan, diantaranya mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, acalyphin dan minyak atsiri yang salah satu fungsinya sebagai antimalaria (Kartika, 2009). Manfaat tanaman ini sebagai obat tradisional merupakan nilai tambah untuk meningkatkan fungsi *Acalypha* agar tidak sekedar menjadi gulma atau tanaman hias.

Penelitian yang telah dilakukan berkaitan dengan tanaman Anting-anting antara lain penelitian Sriwahyuni (2010) menunjukkan golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) berdasarkan uji fitokimia menunjukkan adanya golongan senyawa tanin, alkaloid, dan steroid; dan pemisahan menggunakan KLT pada ekstrak etil asetat dengan

eluen kloroform : metanol (9:1) terdapat 1 golongan senyawa alkaloid, eluen kloroform : metanol (9,5:0,5) terdapat 2 golongan senyawa alkaloid.

Hasil penelitian uji *in vivo* ekstrak terhadap aktivitas parasit malaria *Plasmodium berghei* dalam mencit yang telah dilakukan oleh Husna (2011) menunjukkan bahwa kandungan senyawa alkaloid dalam ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) menunjukkan potensi aktif sebagai antimalaria dengan menurunkan jumlah parasit plasmodium. Akan tetapi besar nilai efektif dosis 50 % (ED₅₀) tidak dapat ditentukan karena dosis yang dipergunakan terlalu tinggi.

Berdasarkan penelitian Muhtadi (2008) dapat diketahui bahwa senyawa alkaloid dalam ekstrak metanol kulit mimba memiliki antiplasmodium yang tinggi. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Pratiwi (2007) bahwa senyawa alkaloid dalam ekstrak kulit batang *Picrasma javanica* merupakan ekstrak yang lebih baik dalam menurunkan tingkat parasitemia dibandingkan dengan ekstrak daun dan buah pada pemberian dosis tunggal (20 mg/kg BB). Efektivitas dosis (ED₅₀) ekstrak kulit batang tanaman ki pahit pada penelitian tersebut adalah 110,09 mg/kg BB. Sedangkan Simanjuntak dan Bustanussalam (2005) menyatakan bahwa, kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak n-butanol Kelampayan, *Anthocephalus chinensis* adalah senyawa alkaloid kuinolin, yaitu kadambin dan 3 α -dihidroksikadambin. Kadambin mempunyai keaktifan sebagai antimalaria yang resisten terhadap klorokuin yaitu sebesar IC₅₀ = 6,77 μ M; IC₉₀ = 9,85 μ M.

Berdasarkan hasil penelitian Widyowati, dkk. (2003), dapat diketahui bahwa isolat dari *Andrographis paniculata* mampu menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* pada stadium gametosit *in vitro*. Septiningrum (2008) menyatakan bahwa hasil uji aktivitas antara ekstrak kasar dan isolat suatu senyawa memberikan hasil yang berbeda. Ia melakukan isolasi dan karakterisasi xilanase dari *Bacillus circulans*. Enzim ekstraselular yang diperoleh dilakukan pemurnian secara parsial dengan fraksinasi yang dilanjutkan dengan kromatografi penukar ion. Pemurnian enzim menggunakan kromatografi penukar ion menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim spesifik (805,48 U/mg) dengan kelipatan pemurnian 46,8 kali dibandingkan dengan ekstrak kasarnya. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil pemurnian (isolat) dapat mempunyai efektivitas yang lebih besar daripada ekstrak kasar suatu senyawa aktif. Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan uji antimalaria *in vivo* terhadap isolat alkaloid murni.

Pemilihan eluen dengan menggunakan KLT mempunyai peran yang cukup penting dalam memisahkan suatu senyawa aktif. Eluen yang dipilih disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang akan dianalisis. Lutfillah (2008) menyatakan bahwa eluen terbaik untuk pemisahan alkaloid dengan KLT dari hasil isolat kulit batang angsret adalah campuran metanol-kloroform (0,5:9,5) dengan pereaksi Dragendorff yang menghasilkan 8 noda yang memiliki Rf antara 0,22-0,85. Muhtadi (2008) mengekstrak alkaloid kulit kayu mimba dan memisahkan fraksi-fraksi senyawa menggunakan metode analisis KLT dengan eluen kloroform : etil

asetat (8:2) dan pendeteksi UV 254 nm dan 366 nm. Hasil pemisahan, diperoleh spot dengan nilai Rf 0,5; Rf 0,55 dan Rf 0,65.

Penelitian ini menggunakan sampel kering dari seluruh tanaman Anting-anting. Pemisahan senyawa alkaloid dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak pekat metanol diekstraksi cair-cair secara asam basa sehingga diperoleh ekstrak alkaloid kasar. Kemudian dilakukan pengujian fitokimia dengan uji reagen dan pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) pada ekstrak alkaloid kasar tersebut. Selanjutnya hasil isolat alkaloid murni dilakukan pengujian antimalaria *in vivo* untuk mengetahui daya hambat/ potensi alkaloid tersebut terhadap pertumbuhan *P. berghei*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Eluen apakah yang paling baik dalam pemisahan ekstrak kasar alkaloid dari tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dengan metode kromatografi lapis tipis?
- b. Bagaimana aktivitas antimalaria isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) terhadap pertumbuhan *P. berghei*?

1.3. Tujuan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui eluen yang paling baik dalam pemisahan ekstrak kasar alkaloid dari tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dengan metode kromatografi lapis tipis.
- b. Untuk mengetahui aktivitas antimalaria isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) terhadap pertumbuhan *P. berghei*.

1.4. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Sampel yang digunakan adalah tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang diperoleh dari daerah sekitar kampus UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Jawa Timur.
- b. Hewan uji untuk uji antimalaria adalah mencit jantan galur Balb/C umur 8-12 minggu, berat badan 28-32 g.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan tanaman Anting-anting bagi kesehatan dan memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai efek antimalaria isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dalam Perspektif Islam

Beraneka ragam tanaman yang terhampar di muka bumi dengan air hujan. Tanaman yang tumbuh yaitu tanaman yang bermula dari tanah yang gersang melalui hujan yang diturunkan Allah, mulai dari tumbuhan tingkat rendah sampai tumbuhan tingkat tinggi. Tumbuhan tingkat tinggi yaitu tumbuhan yang mempunyai akar, batang dan daun secara jelas. Hal ini telah dijelaskan dalam firman Allah surat at Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمْ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

"Yang telah menjadikan 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. At Thaha:53)

Shihab (2002) menafsirkan bahwa Allah SWT menurunkan dari air langit yakni hujan sehingga terciptanya sungai-sungai dan danau, maka Kami tumbuhkan dengannya yakni dengan perantaraan hujan itu berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam jenis, bentuk, rasa, warna dan manfaatnya. Hal ini merupakan salah satu hidayah Allah kepada manusia dan binatang guna memanfaatkan buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan untuk kelanjutan hidupnya. Kata (أزواج) *azwāj* yang bermakna aneka tumbuhan dapat diartikan sebagai

berbagai jenis-jenis tumbuhan, misalnya tumbuhan berkeping dua dikotil seperti tanaman Anting-anting dan kacang-kacangan, atau tumbuhan berkeping satu (monokotil) seperti pisang, nanas, palem dan lain-lain. Dapat juga kata tersebut dipahami dalam arti jenis jenis tumbuhan jantan dan betina.

2.2 Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dalam Perspektif Ilmu Pengetahuan

Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) merupakan tanaman herba semusim yang tegak dan sedikit berambut. Tinggi batangnya 30-50 cm, bercabang, dengan garis memanjang kasar. Tumbuh di pinggir jalan, lapangan rumput, lereng gunung. Daun terletak berseling bentuk bulat lonjong sampai lanset, bagian ujung dan pangkal daun lancip, tepi bergerigi, panjang 2,5-8 cm, lebar 1,5-3,5 cm. Bunga berkelamin tunggal dan berumah satu, berada di ketiak daun. Biji berbentuk bulat panjang, berwarna cokelat. Akar berupa akar tunggang, berwarna putih (Arisandi dan Andriani, 2008).



Gambar 2.1 Anting-anting (*Acalypha australis* L.)
(diunduh dari IPTEKnet, 2010)

Tanaman Anting-anting di beberapa daerah dikenal dengan sebutan berikut di Sumatera: ceka mas (Melayu), lelatang (Jakarta), rumput kokosongan (Sunda), rumput bolong-bolong (Jawa) . Nama asing tanaman ini adalah *Tie xian* (Cina), *copperleaf herb* (Inggris).

Dalam taksonomi tumbuhan, Anting-anting (*Acalypha australis* L.) diklasifikasikan sebagai berikut (Kartesz, 2000):

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Sub Kingdom	: Tracheophyta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Acalypha australis</i> L.

2.3 Kandungan Kimia Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.)

Kartika (2009) menyebutkan bahwa daun tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) mengandung saponin, tanin, flavonoid, *acalyphine* dan minyak atsiri. Wei-Feng *et al* (1994) menyebutkan adanya senyawa alkaloid, amida, glukosida dan sterol. Wijayakusuma (2006) menyebutkan tanaman Anting-anting mengandung senyawa alkaloid, *acalyphine* dan asam galat.

Hasil-hasil penelitian tanaman Anting-anting adalah sebagai berikut, Halimah (2010) melakukan uji fitokimia dan toksisitas pada tanaman Anting-anting, yang mana kandungan golongan senyawa yang menunjukkan adanya potensi bioaktivitas dalam ekstrak tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) berdasarkan uji fitokimia dengan reagen serta didukung dengan hasil KLT yaitu adanya golongan senyawa flavonoid (dalam ekstrak etanol), steroid (dalam ekstrak kloroform) dan triterpenoid (dalam ekstrak etanol dan n-heksana).

Sriwahyuni (2010) melakukan uji fitokimia dan toksisitas pada tanaman Anting-anting yang didapatkan hasil pada ekstrak etil asetat mengandung senyawa tanin dan alkaloid, ekstrak diklorometana mengandung senyawa triterpenoid, ekstrak petroleum eter mengandung senyawa steroid menunjukkan nilai LC_{50} berturut-turut 21,006 ppm, 17,6495 ppm, 11,8547 ppm.

Inayah (2011) isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari ekstrak metanol tanaman Anting-anting, didapatkan hasil senyawa flavonoid golongan flavonol yang menggunakan eluen metanol: kloroform (1:39) sebagai eluen terbaik untuk pemisahannya. Hal ini juga dilakukan Zahro (2011) yaitu isolasi dan identifikasi senyawa triterpenoid pada ekstrak *n*-heksana tanaman Anting-anting yang menunjukkan bahwa senyawa yang triterpenoid pada ekstrak *n*-heksana adalah golongan triterpenoid asam karboksilat. Husna (2011) mengidentifikasi ekstrak etil asetat tanaman Anting-anting menunjukkan bahwa senyawa alkaloid yang terkandung adalah berberin dan menisperin.

2.4 Manfaat Anting-Anting

Dari hasil penelitian Octarini (2010) dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak herba Anting-anting (*Acalypha australis* L.) dosis 1000 mg/kg BB/hari selama dua minggu menurunkan kadar GDS mencit Balb/C sebanding dengan metformin. Selain itu, ekstrak kasar daun Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) pada konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Kartika, 2009).

Zamrodi (2011) melakukan uji antibakteri pada tanaman Anting-anting yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. Husna (2011) mengidentifikasi senyawa pada ekstrak etil asetat dan uji antimalaria *in vivo* pada hewan uji, yang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat berpotensi sebagai antimalaria dengan % penghambatan parasit sebesar 85 – 87 %. Suyoso (2011) melakukan uji antioksidan pada tanaman Anting-anting yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol mempunyai aktivitas antioksidan. Uji fitokimia ekstrak etanol tersebut menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid dan triterpenoid. Berdasarkan hasil identifikasi UV-Vis dan FTIR diduga bahwa isolat 2 dan isolat 3 ekstrak etanol yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah auron dan triterpenoid karboksilat.

2.5 Penyakit Malaria

Dalam hadist riwayat Bukhari, Rasulullah SAW mendengar seorang laki-laki mengumpat nyamuk. Lalu beliau bersabda:

لَا تَسُبُّهُ , فَإِنَّهُ أَيْقَظُ نَبِيًّا مِنْ الْأَنْبِيَاءِ لِصَلَاةِ الْفَجْرِ

Artinya:

Jangan kau umpat nyamuk (itu), karena sesungguhnya ia membangunkan seorang nabi dari para nabi untuk sholat (HR Bukhari).

Nyamuk *Anopheles* adalah nyamuk yang menularkan penyakit malaria melalui gigitannya. Meskipun nyamuk tersebut membawa dampak negatif, kita tidak boleh mencela binatang tersebut. Orang-orang kafir yang tidak beriman kepada Allah SWT telah menghina dan melecehkan ciptaan-ciptaan Allah SWT, termasuk diantaranya nyamuk ini. Kelihatannya sepele, remeh dan rendah tetapi banyak hikmah dan manfaat pada seekor nyamuk. Allah SWT menciptakan semua makhluknya tidak ada yang sia-sia. Ada manfaat yang secara tidak langsung Allah SWT berikan kepada manusia dengan ciptaannya berupa seekor nyamuk. Di antaranya adalah menghisap darah kotor dan dapat membangunkan seseorang untuk sholat.

Malaria berasal dari bahasa Italia; *mala* yang berarti buruk dan *aria* yang berarti udara. Jadi malaria dapat didefinisikan sebagai penyakit infeksi dengan demam berkala yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Berbeda dengan nyamuk biasa *Culex*, nyamuk ini khususnya menggigit dengan posisi yang khas, yakni dengan bagian belakangnya menuju ke atas pada malam hari (Tjay dan Rahardja, 2000 dalam Adriana, 2009).

Malaria merupakan penyakit infeksi protozoa yang disebabkan oleh *Plasmodium* yang menyerang eritrosit dan ditandai dengan ditemukannya bentuk aseksual di dalam darah. Infeksi malaria memberikan gejala berupa demam,

menggigit, anemia dan splenomegali. Selain menginfeksi manusia, *Plasmodium* juga dapat menginfeksi binatang seperti golongan aves, reptil dan mamalia. *Plasmodium* ini pada manusia menginfeksi eritrosit dan mengalami perkembangan aseksual di jaringan hati dan di eritrosit. Perkembangan seksual terjadi pada tubuh nyamuk yaitu *Anopheles* betina (Harijanto, 2007).

Penularan malaria terjadi melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina atau melalui inokulasi langsung sel-sel darah merah yang telah terinfeksi. Stadium infeksi *Plasmodium* disebut sporozoit. Sporozoit yang berhasil masuk ke dalam tubuh manusia sebagian besar mengikuti aliran darah menuju hepar dan sebagian kecil dirusak dengan fagositosis oleh makrofag dalam darah (Harijanto, 2007).

Siklus hidupnya terjadi apabila nyamuk yang terinfeksi *Plasmodium* dari penderita menggigit manusia sehat maka *sporozoit* yang terdapat dalam kelenjar ludah nyamuk dimasukkan melalui luka tusuk. Dalam satu jam bentuk efektif ini terbawa oleh darah menuju hati kemudian masuk ke dalam sel parenkim hati dan mulai perkembangan siklus pre-eritrositik atau ekso-eritrositik primer. Sporozoit akan menjadi bulat atau lonjong dan mulai membelah dengan cepat. Hasil skizogoni tersebut adalah merozoit eksoeritrositik dalam jumlah besar. Setelah meninggalkan hati, merozoit akan melakukan perpindahan ke dalam sel darah merah untuk melakukan siklus eritrositik. Setelah beberapa generasi siklus eritrositik, beberapa merozoid tidak berkembang menjadi skizon tetapi mulai mengembangkan diri menjadi gametozid jantan dan betina.

Apabila gametozid tertelan nyamuk ketika sedang menghisap darah, gametozid akan menjadi matang dan tumbuh menjadi gamet dalam usus nyamuk.

Inti mikrogamet jantan akan membelah, mikrogamet akan keluar dari eritrosit bergerak dan melakukan penetrasi ke mikrogamet betina (terjadi fertilisasi), hasil dari stadium fertilisasi ini disebut zigot. Zigot bergerak ke usus tengah dan tumbuh menjadi ooksita. Dalam beberapa hari ooksita pecah sporozoid akan beredar ke seluruh tubuh nyamuk dan sebagian menuju kelenjar ludah. Apabila nyamuk menghisap darah orang sehat, sporozoid bersama air ludahnya akan masuk ke tubuh orang tersebut dan menjadi sakit lagi.

Macam-macam penyakit malaria (Zulkoni, 2010: 91):

- a. Malaria tropikana, penyebabnya adalah *Plasmodium falciparum* yang menyebabkan demam setiap hari.
- b. Malaria tersiana, penyebabnya adalah *Plasmodium vivax* dan *P. ovale* yang menyebabkan demam tiga hari sekali atau sehari demam, satu hari tidak demam lalu demam lagi.
- c. Malaria kwartana, penyebabnya adalah *Plasmodium malarie* yang menyebabkan demam empat hari sekali atau sehari demam, dua hari tidak demam lalu demam lagi.

2.6 *Plasmodium berghei*

P. berghei merupakan salah satu parasit malaria yang menginfeksi mamalia selain manusia. *Plasmodium berghei* adalah protozoa uniseluler yang ditransmisikan melalui nyamuk Anopheles dan masuk ke pembuluh darah lewat gigitan nyamuk betina. *Plasmodium berghei* memiliki 14 kromosom, dan ukuran genomnya hampir sama dengan *Plasmodium falciparum*, yaitu sekitar 25-30 Mb.

Infeksi *Plasmodium berghei* juga berpengaruh pada otak dan dapat menyebabkan komplikasi serebral pada hewan coba. Gejala-gejala yang terjadi pun hampir mirip dengan serebral malaria pada manusia yang terinfeksi *Plasmodium falciparum* (Leids Universitair Medisch Centrum, 2008 dalam Wulandari, 2010).

Dalam taksonomi, *Plasmodium berghei* diklasifikasikan sebagai berikut (Leids Universitair Medisch Centrum, 2008 dalam Wulandari, 2010):

Kingdom	: Protista
Filum	: Apicomplexa
Kelas	: Aconoidasida
Ordo	: Haemosporida
Famili	: Plasmodiidae
Genus	: Plasmodium
Spesies	: <i>Plasmodium berghei</i>

Plasmodium berghei adalah parasit malaria rodent (hewan pengerat) yang mempunyai siklus hidup alamiah seperti parasit malaria pada manusia. Persamaan antara *Plasmodium* pada hewan dengan *Plasmodium* pada manusia adalah siklus hidupnya mirip, keduanya memiliki lebih dari satu nukleolus, keduanya mempunyai pigmen dan membran vesikula yang halus, keduanya memperlihatkan membran pembatas yang rangkap, keduanya tidak mempunyai mitokondria dan keduanya memperlihatkan tipe *caryophyle* yang merupakan tempat khusus absorpsi.

Secara umum daur hidup *Plasmodium berghei* sama dengan daur hidup *Plasmodium* pada manusia. Tahap pertama adalah masuknya sporozoit ke

peredaran darah lalu ke dalam hati yang disebut fase skizogoni praeritrosit. Proses pematangan skizon terjadi selama 50-51 jam dan setelah skizon pecah, merozoit akan menyerang sel darah merah. Perkembangan aseksual di dalam darah (skizogoni eritrosit) dan bentuk trophozoit menjadi skizon terjadi selama 24 jam. Skizon matang mengandung merozoit yang jumlahnya bervariasi antara 6-20 merozoit.

Bentuk gametosit *Plasmodium berghei* jarang terlihat, kecuali pada awal pasase persentasinya tinggi, tetapi jumlahnya cenderung menurun setelah pasase darah dari mencit lain secara berulang. Cincin *Plasmodium berghei* dan perkembangan parasit dapat dilihat dengan mikroskop, yaitu dengan membuat apusan darah tebal maupun tipis yang diwarnai larutan giemsa.

2.7 Mencit

Taksonomi mencit Swiss adalah sebagai berikut (Anggonowati, 2008 dalam Baeti, 2010):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus Musculus</i>

Mencit tergolong hewan pengerat. Menurut hasil penelitian Sundari *et al.* (1997) dalam Baeti (2010), mengenai inokulasi *Plasmodium berghei* pada beberapa strain mencit, diketahui bahwa Mencit Swiss memiliki beberapa keunggulan dibanding strain mencit yang lain. Keunggulan Mencit Swiss tersebut adalah cukup sensitif terhadap infeksi parasit, relatif lebih tahan lama terhadap infeksi *Plasmodium berghei* dibanding mencit lain walaupun tidak diobati, serta mudah dipelihara dan diternakkan.

2.8 Senyawa Aktif Antimalaria

Senyawa antimalaria yang telah lama terbukti (tahun 1820) untuk mengobati demam malaria adalah kulit pohon kina (*Cinchona succirubra*) dan alkaloid yang dikandungnya (Tjay dan Rahardja, 2000 dalam Adriana, 2009). Beberapa senyawa metabolit sekunder telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa ini dapat digolongkan dalam tujuh golongan besar yaitu, alkaloid, quassinoid, sesquiterpen, triterpenoid, flavonoid, quinon, dan senyawaan *miscellaneous*.

2.8.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang memiliki atom nitrogen. Sebagian besar atom nitrogen merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Sebagian besar alkaloid mempunyai aktivitas biologis tertentu. Beberapa alkaloid dilaporkan memiliki sifat beracun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan (Lenny, 2006).

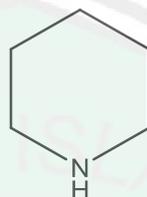
Alkaloid biasanya didapati sebagai garam organik dalam tumbuhan dalam bentuk senyawa padat berbentuk kristal dan kebanyakan tidak berwarna. Pada daun dan buah segar biasanya keberadaan alkaloid memberikan rasa pahit di lidah. Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, anti mikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Robinson, 1995).

Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur yang tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Alkaloid dapat juga berbentuk cair, misalnya nikotin dan koniin. Selain itu, kebanyakan alkaloid juga tidak berwarna. Pada umumnya alkaloid hanya larut dalam pelarut organik. Alkaloid umumnya bersifat basa. Kebiasaan pada alkaloid menyebabkan senyawa tersebut mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Hasil dekomposisi seringkali berupa N-oksida (Lenny, 2006).

Secara umum, golongan senyawa alkaloid mempunyai sifat-sifat sebagai berikut (Tobing, 1989):

1. Biasanya merupakan kristal tak berwarna, tidak mudah menguap, tidak larut dalam air, larut dalam pelarut-pelarut organik seperti etanol, eter dan kloroform. Beberapa alkaloid (seperti konini dan nikotin) berwujud cair dan larut dalam air. Ada juga alkaloid yang berwarna, misalnya berberin (berwarna kuning).
2. Bersifat basa, pada umumnya berasa pahit, bersifat racun, mempunyai efek fisiologis serta optik aktif.

3. Dapat membentuk endapan dengan larutan asam fosfowolframat, asam fosfomolibdat, asam pikrat, kalium merkuriiodida dan lain sebagainya.



Gambar 2.2 Struktur inti alkaloid (Robinson,1995)

Sebagian besar alkaloida mempunyai kerangka dasar polisiklik termasuk cincin heterosiklik nitrogen serta mengandung substituen yang tidak terlalu bervariasi. Atom nitrogen alkaloida hampir selalu berada dalam bentuk gugus amin ($-NR_2$) atau gugus amida ($-CO-NR_2$) dan tidak pernah dalam bentuk gugus nitro (NO_2) atau gugus diazo. Sedangkan substituen oksigen biasanya ditemukan sebagai gugus fenol ($-OH$), metoksi ($-OCH_3$) atau gugus metilendioksi ($-O-CH_2-O$) substituen oksigen ini dan gugus N-metil merupakan ciri sebagian besar alkaloida (Lenny, 2006). Alkaloid dapat berfungsi sebagai penyimpan nitrogen, dalam pengatur tumbuh seperti merangsang perkecambahan, karena memiliki sifat basa maka dapat mempertahankan keseimbangan basa mineral dalam mempertahankan keseimbangan ion dalam tumbuhan (Robinson, 1995).

Klasifikasi alkaloid sangat bervariasi, diantaranya adalah berdasarkan jenis cincin heterosiklik N, berdasarkan jenis tumbuhan dimana ditemukan dan asal usul bio. Sistem klasifikasi yang diterima, menurut Hegnauer dalam Handani (2010) dan Anonymous (2009), alkaloid dikelompokkan sebagai (a) Alkaloid

sesungguhnya, (b) Protoalkaloid, dan (c) Pseudoalkaloid. Meskipun terdapat beberapa perkecualian.

a. Alkaloid Sesungguhnya

Alkaloid sesungguhnya adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa; lazim mengandung Nitrogen dalam cincin heterosiklik; diturunkan dari asam amino; biasanya terdapat “aturan” tersebut adalah kolkhisin dan asam aristolokhat yang bersifat bukan basa dan tidak memiliki cincin heterosiklik dan alkaloid quartener, yang bersifat agak asam daripada bersifat basa.

b. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan amin yang relatif sederhana dimana nitrogen dan asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Pengertian ”amin biologis” sering digunakan untuk kelompok ini. Contohnya adalah meskalin, ephedin dan N,N-dimetiltriptamin.

c. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam khas ini, yaitu alkaloid steroidal (contoh: konessin dan purin (kaffein))

Berdasarkan atom nitrogennya, alkaloid dibedakan atas:

a. Alkaloid dengan atom nitrogen heterosiklik

Dimana atom nitrogen terletak pada cincin karbonnya. Alkaloid yang termasuk pada golongan ini adalah :

1. Alkaloid Piridin-Piperidin

Mempunyai satu cincin karbon mengandung 1 atom nitrogen. Yang termasuk dalam kelas ini adalah *Conium maculatum* dari famili Apiaceae dan *Nicotiana tabacum* dari famili Solanaceae.

2. Alkaloid Tropan

Mengandung satu atom nitrogen dengan gugus metilnya (N-CH₃). Alkaloid ini dapat mempengaruhi sistem saraf pusat termasuk yang ada pada otak maupun sum-sum tulang belakang. Yang termasuk dalam kelas ini adalah *Atropa belladonna* yang digunakan sebagai tetes mata untuk melebarkan pupil mata, berasal dari famili Solanaceae, *Hyoscyamus niger*, *Dubuisia hopwoodii*, *Datura* dan *Brugmansia spp*, *Mandragora officinarum*, Alkaloid Kokain dari *Erythroxylum coca* (Famili Erythroxylaceae).

3. Alkaloid Quinolin

Mempunyai 2 cincin karbon dengan 1 atom nitrogen. Yang termasuk disini adalah *Cinchona ledgeriana* dari famili Rubiaceae, alkaloid quinin yang toksik terhadap *Plasmodium vivax*.

4. Alkaloid Isoquinolin

Mempunyai 2 cincin karbon mengandung 1 atom nitrogen. Banyak ditemukan pada famili Fabaceae termasuk Lupines (*Lupinus spp*), *Spartium junceum*, *Cytisus scoparius* dan *Sophora secundiflora*.

5. Alkaloid Indol

Mempunyai 2 cincin karbon dengan 1 cincin indol . Ditemukan pada alkaloid ergine dan psilocybin, alkaloid reserpin dari *Rauvolfia serpentine*,

alkaloid vinblastin dan vinkristin dari *Catharanthus roseus* famili Apocynaceae yang sangat efektif pada pengobatan kemoterapy untuk penyakit Leukimia dan Hodgkin's.

6. Alkaloid Imidazol

Berupa cincin karbon mengandung 2 atom nitrogen. Alkaloid ini ditemukan pada famili Rutaceae. Contohnya *Jaborandi paragua*.

7. Alkaloid Lupinan

Mempunyai 2 cincin karbon dengan 1 atom N, alkaloid ini ditemukan pada *Lunpinus luteus* (fam : Leguminocaea).

8. Alkaloid Steroid

Mengandung 2 cincin karbon dengan 1 atom nitrogen dan 1 rangka steroid yang mengandung 4 cincin karbon. Banyak ditemukan pada famili Solanaceae, *Zigadenus venenosus*.

9. Alkaloid Amina

Golongan ini tidak mengandung N heterosiklik. Sebagian alkaloid jenis ini merupakan turunan sederhana dari feniletilamin dan senyawa-senyawa turunan dari asam amino fenilalanin atau tirosin, alkaloid ini ditemukan pada tumbuhan *Ephedra sinica* (fam Gnetaceae).

10. Alkaloid Purin

Mempunyai 2 cincin karbon dengan 4 atom nitrogen. Banyak ditemukan pada kopi (*Coffea arabica*) famili Rubiaceae, dan Teh (*Camellia sinensis*) dari famili Theaceae, *Ilex paraguariensis* dari famili Aquifoliaceae, *Paullunia cupana*

dari famili Sapindaceae, *Cola nitida* dari famili Sterculiaceae dan *Theobroma cacao*.

b. Alkaloid tanpa atom nitrogen yang heterosilik

Atom nitrogen pada alkaloid ini tidak terletak pada cincin karbon tetapi pada salah satu atom karbon pada rantai samping.

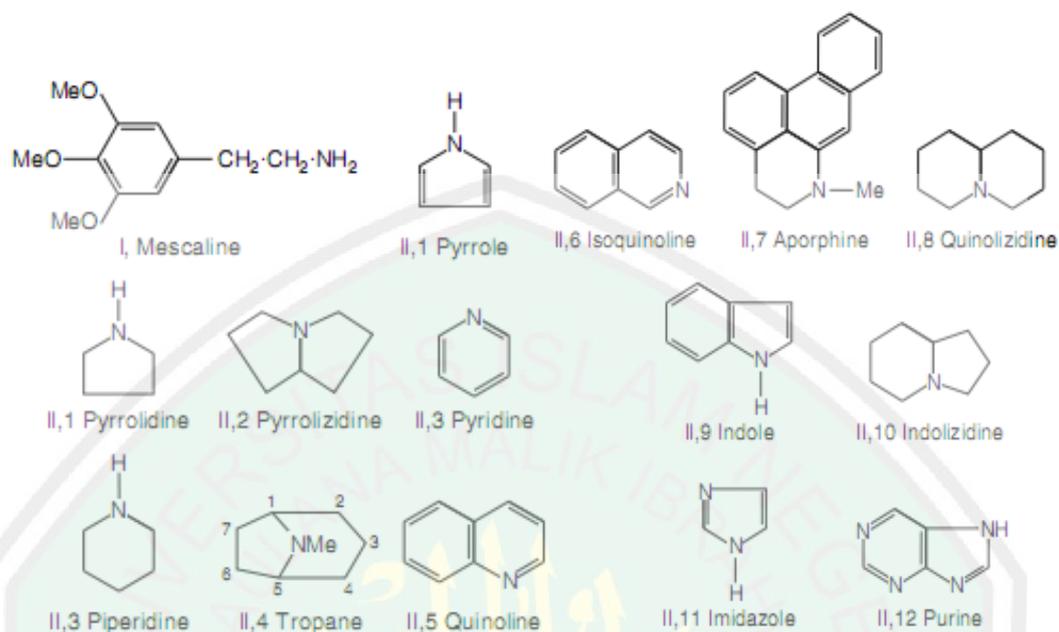
1. Alkaloid Efedrin (alkaloid amin)

Mengandung 1 atau lebih cincin karbon dengan atom nitrogen pada salah satu atom karbon pada rantai samping. Termasuk Mescaline dari *Lophophora williamsii*, *Trichocereus pachanoi*, *Sophora secundiflora*, *Agave americana*, *Agave atrovirens*, *Ephedra sinica*, *Cholchicum autumnale*.

2. Alkaloid Capsaicin

Dari Chile peppers, genus *Capsicum*. Yaitu; *Capsicum pubescens*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*.

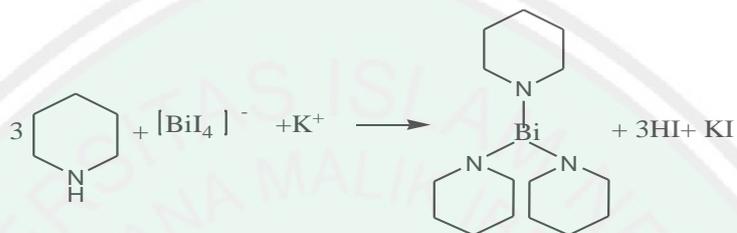
Simanjuntak (2005) menyatakan bahwa, kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak *n-butanol* Kelampayan, *Anthocephalus chinensis* adalah senyawa kadambin dan 3 α -dihidroksikadambin. Kadambin mempunyai keaktifan sebagai antimalaria yang resisten terhadap klorokuin yaitu sebesar IC₅₀= 6,77 μ M; IC₉₀= 9,85 μ M. Sedangkan menurut Husna (2010), ekstrak kasar etil asetat tanaman anting-anting mengandung senyawa berberin dan menisperin. Hasil uji antimalaria *in vivo* pada hewan uji, menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat berpotensi sebagai antimalaria dengan % penghambatan parasit sebesar 85 - 87 %.



Gambar 2.3 Struktur turunan alkaloid (Evans, 2009)

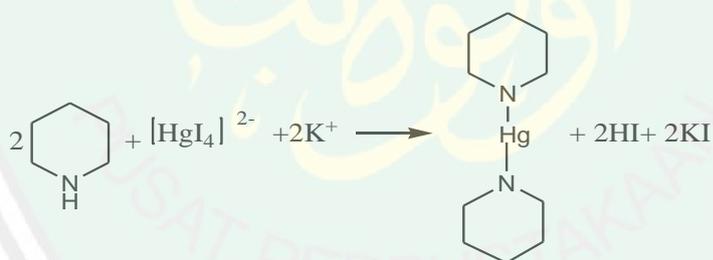
Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5 %, asam tanat 5 %, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), iodoplatinat dan larutan asam pikrat jenuh. Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu cara cepat untuk pemisahan alkaloid dengan silika gel sebagai penyerapnya. Pereaksi yang paling umum digunakan untuk menyemprot kromatogram adalah pereaksi Dragendorff (Robinson, 1995).

Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid adalah sebagaimana pada reaksi berikut:



Kompleks logam dengan alkaloid
(endapan jingga)

Gambar 2.4 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)



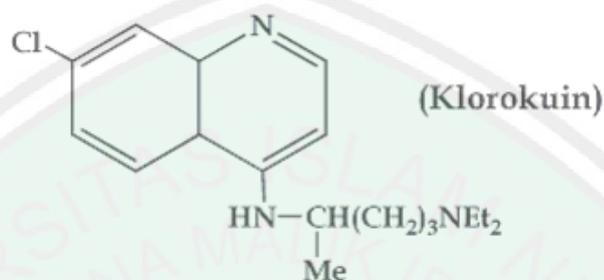
Kompleks logam dengan alkaloid
(endapan putih kekuningan)

Gambar 2.5 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Meyer (Lutfillah, 2008)

2.8.2 Klorokuin

Obat antimalaria yang ideal adalah obat yang efektif terhadap semua jenis dan stadium parasit, menyembuhkan infeksi akut maupun laten, efek samping ringan dan toksisitas rendah. Obat antimalaria dikelompokkan menurut rumus

kimia dan efek atau cara kerja obat pada stadium parasit. Salah satu obat antimalaria adalah Klorokuin dengan struktur dasar kuinolin (Syamsudin, 2005).

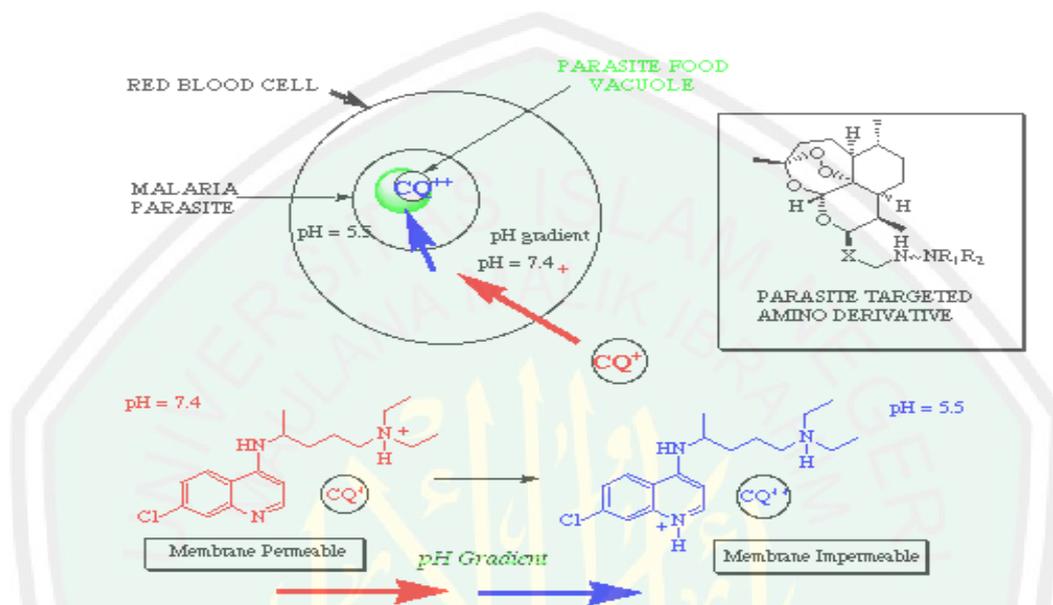


Gambar 2.6 Struktur Klorokuin (O' Neill, dkk., 2012)

Penelitian Nadia (2012), dengan sampel tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) menggunakan klorokuin sebagai kontrol klorokuin dalam terapi malaria oleh infeksi parasit *Plasmodium berghei*. Klorokuin menunjukkan persen penghambatan parasit mulai hari ke-0, ke-3, ke-5 dan hari ke-7 berturut-turut yaitu 7,00 %; 0,50 %; 0,00 % dan 0,00 %. Hal tersebut menunjukkan bahwa parasit *Plasmodium berghei* yang digunakan dalam penelitian tidak resisten terhadap klorokuin.

Mekanisme aksi antimalaria Klorokuin adalah dengan membentuk kompleks dengan FP IX dalam vakuola makanan. Kompleks obat-FP IX tersebut sangat toksik yang dapat meracuni vakuola menghambat ambilan (*intake*) makanan sehingga parasit mati kelaparan. Kompleks Klorokuin-FP IX juga mengganggu permeabilitas membran parasit dan pompa proton membran. Klorokuin juga bersifat basa lemah sehingga masuknya Klorokuin ke dalam vakuola makanan yang bersifat asam akan meningkatkan pH organel tersebut. Perubahan pH akan menghambat aktivitas aspartase dan cysteinase protease yang

terdapat di dalam vakuola makanan sehingga metabolisme parasit terganggu (Fitch, 1986 dalam Syamsudin, 2005).



Gambar 2.7 Mekanisme aksi Klorokuin dalam menghambat parasit malaria (Okpako, 1991 dalam Syamsudin, 2005)

2.9 Teknik Pemisahan Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting

2.9.1 Maserasi

Dalam metode ekstraksi bahan alam, dikenal suatu metode maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Keuntungan metode ekstraksi ini, adalah metode dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guether, 1987).

Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Keuntungan cara ekstraksi ini, adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna. Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan, selain itu dikhawatirkan senyawa yang terkandung dalam tanaman Anting-anting merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode maserasi dengan pelarut polar atau metanol.

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

Sifat kelarutan zat didasarkan pada teori *like dissolves like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2003). Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil klorida, etanol, heksana, isopropil alkohol dan metanol. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu metanol. Titik didih pelarut metanol tersebut adalah 64 °C (Sudarmadji dkk., 2003).

Penguapan pada *rotary evaporator vacuum* dilakukan pada tekanan rendah atau dengan kenaikan temperatur dan kecepatan terbesar pada titik didih larutan. Cairan organik yang memiliki titik didih rendah, tekanan permukaan akan rendah. Labu evaporator dipanaskan pada temperatur tertentu di atas *waterbath* dan

diputar selama evaporasi, sehingga terjadi pencampuran yang sempurna, mencegah bumping, dan juga akan memiliki permukaan yang relatif lebih kuat. Pelarut menguap dari campuran kemudian terkondensasi oleh erlenmeyer dan jatuh pada labu penampung.

Ekstrak herba Anting-anting dapat diperoleh dari herba Anting-anting (*Acalypha australis* L.) yang dikeringkan, dihaluskan, kemudian diekstraksi dengan cairan etanol 70% (Octarini, 2010). Hasibuan (2007) mengekstraksi serbuk daun bandotan dengan pelarut metanol untuk mendapatkan senyawa alkaloidnya dengan cara maserasi selama 24 jam. Maserat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 40° C.

Muhtadi (2008) mengekstrak alkaloid kulit kayu mimba dengan cara metode maserasi selama 24 jam dengan menggunakan pelarut metanol. Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan cara mengganti pelarut metanol tiap 24 jam sekali. Masing-masing hasil penyaringan dari maserasi dievaporasi sehingga menghasilkan ekstrak metanol kulit kayu mimba. Nassel (2008) melakukan isolasi alkaloid tumbuhan *Lerchea interrupta* Korth. Proses ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut metanol selama 3 hari di tempat terlindung dari cahaya sambil sesekali dikocok, disaring dan diuapkan sehingga didapatkan ekstrak kental metanol. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan fenolik.

Satu-satunya sifat kimia alkaloid yang paling penting adalah sifat kebasaannya. Metode pemurnian dan pencirian umumnya mengandalkan sifat ini. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan memakai air

yang diasamkan. Hal ini bertujuan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam, kemudian dengan pelarut organik seperti kloroform atau eter (Robinson, 1995).

Pada umumnya, alkaloid diekstraksi dari tumbuhan sumbernya dengan cara bagian tumbuhan (daun, bunga, buah, kulit dan atau akar) dikeringkan lalu dihaluskan. Alkaloid diekstraksi dengan pelarut tertentu, misalnya dengan etanol kemudian pelarutnya diuapkan. Residu yang diperoleh diberi asam anorganik untuk menghasilkan garam ammonium kuartener, kemudian diekstraksi kembali. Garam N^+ yang diperoleh direksikan dengan natrium karbonat (sehingga menghasilkan alkaloid-alkaloid yang bebas); kemudian diekstraksi dengan pelarut tertentu seperti eter, kloroform atau pelarut yang lainnya. Campuran alkaloid-alkaloid yang diperoleh akhirnya diisolasi melalui berbagai cara, misalnya dengan menggunakan metode kromatografi (Tobing, 1989).

Afriardhini (2004) mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa alkaloid dari ubur-ubur (*Bougainvillia sp*) dengan menggunakan ekstraksi cair-cair. Ekstrak etanol pekat ubur-ubur yang diperoleh diasamkan dengan HCl 0,5 N dan disentrifugasi. Larutan asam ditambahkan larutan NaOH 15 % sampai pH 10. Alkaloid bebas diekstraksi dengan kloroform sehingga menghasilkan fasa air dan fasa kloroform. Fase kloroform diuji reagen Dragendorf dan dicuci dengan aquades dan dikeringkan dengan ditambah Na_2SO_4 anhidrat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dan gas N_2 .

2.9.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan salah satu metode pemisahan yang didasarkan pada distribusi differensial komponen-komponen yang dipisahkan diantara 2 fase, yaitu fase diam dengan permukaan yang luas dan fase gerak yang berupa zat cair yang mengalir sepanjang fase diam. Komponen-komponen hasil pemisahan keluar dari kolom pada waktu yang berbeda. Komponen yang tertahan lebih kuat dalam kolom akan keluar dari kolom dengan waktu yang lebih lama dibandingkan komponen yang tidak tertahan dengan kuat atau bahkan tidak ditahan kolom sama sekali (Sastrohamidjojo, 2007).

Kromatografi menyangkut metode pemisahan yang didasarkan atas distribusi diferensial komponen sampel diantara dua fase. Menurut pengertian ini kromatografi selalu melibatkan dua fase yaitu fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*). Fase diam dapat berupa padatan atau cairan yang terikat pada permukaan padatan (kertas atau adsorben), sedangkan fase gerak dapat berupa cairan disebut eluen atau pelarut atau gas pembawa yang inert. Gerakan fasa ini mengakibatkan terjadi migrasi diferensial komponen-komponen dalam sampel (Soebagio, 2002).

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal), kemudian pelat dimasukkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler

(pengembangan) dan selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (Sudarmadji, 1996).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya. KLT dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sifatnya hidrofobik seperti lipida-lipida dan hidrokarbon yang sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. KLT juga dapat berguna untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi dan isolasi senyawa murni skala kecil. Pelarut yang dipilih untuk pengembang disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapisan tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi-pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat (Anonymous, 2008).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis dapat menggunakan harga R_f meskipun harga R_f dalam lapisan tipis kurang tepat bila dibandingkan pada kertas. Seperti halnya pada kertas harga R_f didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2007):

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \dots\dots\dots(2.1)$$

Lutfillah (2008) menyatakan bahwa eluen terbaik untuk pemisahan alkaloid dengan KLT dari hasil isolat kulit batang angsret adalah campuran metanol-kloroform (0,5:9,5) dengan pereaksi Dragendorf yang menghasilkan 8

noda yang memiliki Rf antara 0,22-0,85 dengan 5 noda berwarna biru, 2 noda berwarna kuning dan 1 noda berwarna merah setelah disinari dengan lampu UV.

Hasil penelitian Hasibuan (2007) menunjukkan bahwa uji kemurnian KLT dua arah dari kristal alkaloid dengan fase gerak pertama kloroform-metanol-ammonia (85-15-1) dan fase gerak kedua kloroform-etil asetat (60-40) memberikan satu noda setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorf yaitu merah orange (Rf 0,69). Berdasarkan hasil analisis ekstrak batang kayu kuning dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan silika gel sebagai fasa diam dan campuran kloroform : metanol (1:4) sebagai fasa gerak didapatkan satu senyawa yang memberikan reaksi positif terhadap pereaksi Dragendorf dengan Rf 0,78 (Widi, 2007). Husna (2011) menganalisis ekstrak etil asetat tanaman anting-anting dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase gerak kloroform:metanol (9,5:0,5), pendeteksi UV 366 nm serta penampak noda Dragendorf dan dihasilkan senyawa alkaloid dengan Rf 0,37-0,97.

Muhtadi (2008) mengekstrak alkaloid kulit kayu mimba dan memisahkan fraksi-fraksi senyawa dengan menggunakan metode analisis KLT dengan pendeteksi UV 254 nm, 366 nm dan beberapa penampak noda dengan eluen kloroform : etil asetat (8:2) yang memberikan Rf 0,5 (fraksi non polar) dan Rf 0,55 dan 0,65 (fraksi semi polar) adalah senyawa alkaloid. Sedangkan Marliana (2007) menganalisis senyawa alkaloid dari batang *Spatholobus ferrugineus* dengan menggunakan eluen etil asetat-metanol-air (6:4:2) dengan penampak bercak Dragendorff dan diperoleh 2 noda dengan Rf 0,80 dan 0,87.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada September 2012 sampai Februari 2013 di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia, Organik Jurusan Kimia, laboratorium Instrumen Jurusan Kimia dan laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian pemisahan dan identifikasi senyawa adalah *rotary evaporator*, seperangkat alat gelas beker, corong pisah, bejana pengembang, pipa kapiler, kertas saring, neraca analitik, plat KLT silika G60 F₂₅₄, bejana pengembang, lampu UV, penyaring *Buchner*, *shaker* dan vortex.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian uji antimalaria adalah kandang hewan coba (bak plastik), kawat, botol minum dan tempat makan mencit. Alat untuk thawing isolat *Plasmodium berghei* antara lain: *vacum tube*, *Laminer air flow vertical*, *centrifuge*, botol biakan (*culture flask*) 50 mL, pinset, mikropipet, mikroskop, gunting, spuit 1 mL, *laboratory bottle* 100 mL, *object glass*, *Nitrogen liquid tank*, pipet *disposable* 2 mL, tabung flakon 15 mL. Alat untuk inokulasi *Plasmodium berghei* antara lain: mikropipet, yellow tip, pinset, spuit 1 mL. Alat

untuk mengambil darah antara lain: gunting steril, jarum pentul, kapas, spuit 1 mL. Alat untuk mengukur derajat parasitemia antara lain: *object glass*, mikroskop dan pipet. Alat yang diperlukan untuk perlakuan terapi antara lain: vials 15 mL, alat suntik yang dilengkapi dengan jarum/kanula berujung tumpul dan berbentuk bola (ujung dipasang manik-manik) dan spuit 1 mL.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Anting-anting, metanol, amonium hidroksida, asam klorida, ammonia, etil asetat, akuades, kloroform, n-heksana, reagen Dragendroff, reagen Mayer dan plat KLT silika G60 F₂₅₄.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji antimalaria adalah mencit putih jantan Balb/C. Kemudian bahan untuk perawatan mencit antara lain: makanan mencit, serbuk gergaji, air minum. Bahan *thawing* kultur isolat *Plasmodium berghei*: Darah jantung dari mencit donor, EDTA, larutan Alsever's, Gliserol 10 %, dan aquades. Untuk pembuatan mencit donor bahan-bahannya: mencit Balb/C, Larutan PBS 10 %, sel darah merah yang terinfeksi parasit dari hasil proses *thawing*. Untuk inokulasi *Plasmodium berghei* bahan-bahannya: *Plasmodium berghei* dari darah mencit yang terinfeksi, Larutan PBS 10 %. Bahan untuk mengukur derajat parasitemia: darah yang diambil dari ekor mencit, buffer Giemsa, Giemsa fluka, dan metanol p.a. Bahan yang diperlukan untuk terapi: Klorokuin, ekstrak tanaman Anting-anting dan larutan CMC-Na 1 %.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel diambil dari seluruh bagian tanaman Anting-anting kemudian sampel tersebut dikeringkan dan diserbukkan. Serbuk sampel diekstraksi dengan metanol. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol. Selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa alkaloid kasar dari ekstrak pekat metanol yang diperoleh menggunakan ekstraksi cair-cair secara asam basa sehingga diperoleh ekstrak alkaloid kasar. Ekstrak alkaloid kasar dilakukan uji fitokimia dengan menggunakan reagen untuk mengidentifikasi golongan senyawa alkaloid dan dilakukan pemisahan ekstrak senyawa alkaloid dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil isolat alkaloid murni dari hasil KLT tersebut dilakukan uji antimalaria untuk mengetahui keefektifan data derajat parasitemia isolat alkaloid tanaman Anting-anting.

Selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa alkaloid kasar dari ekstrak pekat metanol menggunakan metode ekstraksi cair-cair secara asam basa. Ekstrak alkaloid kasar yang diperoleh diuji fitokimia dengan menggunakan reagen dan dilakukan pemisahan alkaloid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil isolat alkaloid murni dari hasil KLT tersebut dilakukan uji antimalaria untuk mengetahui keefektifan data derajat parasitemia isolat alkaloid tanaman Anting-anting.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi senyawa alkaloid
3. Uji fitokimia kandungan senyawa alkaloid
4. Pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
 - a. Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)
 - b. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)
5. Uji antimalaria isolat aktif senyawa alkaloid

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel (Hasibuan, 2007)

Daun, batang dan akar dicuci bersih dengan air, dikeringkan di udara terbuka, diiris kecil-kecil kemudian ditempatkan pada nampan dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 30-37 °C selama 5 jam. Selanjutnya diblender sampai diperoleh serbuk. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian.

3.5.2 Ekstraksi Senyawa Alkaloid

Ekstraksi alkaloid kasar dilakukan dengan cara maserasi/ perendaman dengan menggunakan modifikasi metode Hasibuan (2007) dengan metode Afriardhini (2004). Serbuk tanaman Anting-anting ditimbang sebanyak 100 g dan perlakuan dibagi menjadi dua masing-masing 50 g untuk proses ekstraksi. Lalu

diekstraksi secara maserasi masing-masing menggunakan 150 mL pelarut metanol selama 24 jam dengan pengocokan selama 3 jam menggunakan *shaker* kecepatan 120 rpm, kemudian disaring. Ampas yang diperoleh direndam dengan 150 mL pelarut yang sama sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat. Ekstrak metanol yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat metanol.

Ekstrak pekat yang diperoleh dilakukan pemisahan senyawa alkaloid kasar menggunakan ekstraksi cair-cair secara asam basa dengan menggunakan kloroform. Ekstrak pekat metanol ditambahkan amonium hidroksida sampai pH 10. Kemudian diekstraksi cair-cair dengan pelarut kloroform, dipekatkan, ditambah HCl 1 N (sampai pH 2-3) dan dikocok. Selanjutnya fasa air diuapkan dan ditambahkan dengan larutan ammonia sampai alkalis (pH 9-10) lalu diekstraksi dengan kloroform. Lapisan atas (fasa air) dan lapisan bawah (fasa organik) yang diperoleh, dipisahkan dengan menggunakan corong pisah. Lapisan kloroform dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada temperatur tidak lebih dari 40° C sehingga diperoleh ekstrak alkaloid kasar. Selanjutnya ekstrak alkaloid kasar dikeringkan dengan mengalirkan gas N₂ sampai diperoleh bentuk padat, kemudian ditimbang hasil yang diperoleh dan dilakukan perhitungan rendemen. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia dengan menggunakan reagen dan dilakukan pemisahan ekstrak senyawa alkaloid dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

3.5.3 Uji Fitokimia Kandungan Senyawa Alkaloid

Uji fitokimia kandungan senyawa yang diduga alkaloid dilakukan dengan uji reagen dari ekstrak kasar alkaloid hasil ekstraksi Anting-anting (*Acalypha indica* L.). Sebanyak 3 mg ekstrak kasar alkaloid Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung reaksi. Tabung satu ditambah 2-3 tetes reagen Dragendorff dan tabung dua ditambah 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung satu terbentuk endapan jingga dan pada tabung dua terbentuk endapan kekuningan menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.4 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

3.5.4.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) merupakan kromatografi lapis tipis yang bertujuan untuk mencari eluen yang terbaik dari berbagai macam eluen yang digunakan. Eluen yang terbaik tersebut digunakan dalam Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Sebelum dilakukan proses pemisahan, dilakukan proses penjenuhan eluen terlebih dahulu. Proses penjenuhan dapat dilakukan dengan cara memasukkan campuran pelarut atau eluen dengan perbandingan tertentu, selanjutnya dimasukkan ke dalam bejana kromatografi hingga tinggi eluen mencapai 0,5 sampai dengan < 1 cm. Kemudian ditutup rapat selama ± 10 menit dan sistem dibiarkan bekerja hingga mencapai kesetimbangan.

Selama proses penjenuhan sedang berlangsung, dilakukan proses pengaktifan plat silika G60 F₂₅₄. Pada pemisahan dengan KLT analitik digunakan

plat silika G60 F₂₅₄ yang sudah diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit. Masing-masing plat dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Ekstrak alkaloid kasar sebanyak 2 mg dan dilarutkan dalam 2 mL metanol kemudian ditotolkan sebanyak 10 totolan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan beberapa campuran fase gerak. Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan.

Noda yang terbentuk masing-masing diukur harga R_f-nya, selanjutnya dengan memperhatikan bentuk noda pada berbagai larutan pengembang ditentukan perbandingan larutan pengembang yang paling baik untuk keperluan preparatif. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV-Vis pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selain itu, noda yang terbentuk dideteksi dengan penampak bercak pereaksi Dragendorff. Selanjutnya dengan memperhatikan bentuk noda pada berbagai larutan pengembang ditentukan perbandingan larutan pengembang yang paling baik untuk keperluan preparatif. Campuran larutan pengembang yang digunakan adalah :

- a. Eluen kloroform:metanol (9,5:0,5) (Husna, 2011).
- b. Eluen kloroform:metanol:amoniak (85:15:1) (Hasibuan, 2007).
- c. Eluen kloroform:metanol (1:4) (Widi, 2007)
- d. Eluen etil asetat:metanol:air (6:4:2) (Marliana, 2007).
- e. Eluen kloroform : etil asetat (8:2) (Muhtadi, 2008).

3.5.4.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) merupakan teknik Kromatografi Lapis Tipis yang bertujuan untuk mendapatkan isolat senyawa yang diinginkan dengan menggunakan eluen terbaik dari KLT analitik. Sebelum dilakukan proses pemisahan, dilakukan proses penjenuhan eluen terlebih dahulu. Proses penjenuhan dapat dilakukan dengan cara memasukkan campuran pelarut atau eluen dengan perbandingan tertentu, selanjutnya dimasukkan ke dalam bejana kromatografi hingga tinggi eluen mencapai 0,5 sampai dengan < 1 cm. Kemudian ditutup rapat selama ± 10 menit dan sistem dibiarkan bekerja hingga mencapai kesetimbangan.

Selama proses penjenuhan sedang berlangsung, dilakukan proses pengaktifan plat silika G60 F₂₅₄. Pada pemisahan dengan KLT preparatif digunakan plat silika G60 F₂₅₄ dengan ukuran 10 cm x 20 cm. Dua mg ekstrak kasar alkaloid dilarutkan dalam 2 mL metanol, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada KLT analitik.

Setelah gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda yang terbentuk masing-masing diukur harga R_f-nya. Noda-noda diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Langkah selanjutnya adalah melakukan pengerokan pada spot yang terbentuk, melarutkannya dalam 5 mL pelarut metanol, divortex dan disentrifuge. Silika yang masih berwarna dilarutkan kembali dengan pelarutnya dan dilakukan

penyaringan. Hal tersebut dilakukan sampai silika berwarna putih. Isolat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan N₂ atau pompa *vacuum* sehingga didapatkan isolat aktif senyawa alkaloid. Hasil isolat alkaloid murni yang diperoleh, kemudian diuji antimalaria.

3.5.5 Uji Antimalaria

3.5.5.1 Persiapan Hewan Uji Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur Balb/C jenis kelamin jantan, umur 8-12 minggu, berat badan 28-32 g. Sebelum perlakuan, mencit dipelihara dalam kandang yang diberi alas serbuk kayu dan anyaman kawat sebagai penutup. Pemberian makan dan minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum*.

3.5.5.2 Perlakuan Hewan Uji Coba

Penelitian dilakukan pada beberapa kelompok perlakuan. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009).

Rumus Federer : $(n-1)(t-1) \geq 15$; dengan t = jumlah kelompok

n= jumlah pengulangan tiap sampel

Pada penelitian ini, tiap kelompok perlakuan dilebihkan 2 mencit. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok perlakuan diinfeksi *P. Berghei* tanpa terapi dengan pemberian 0,5 mL CMC-Na (Carboxy metyl cellulose-Na) 1% (Muti'ah, 2010).
- b. Kelompok kontrol positif adalah kelompok perlakuan infeksi *P. berghei* dengan terapi klorokuin dosis 400 mg/70 Kg BB sekali sehari secara per-oral .
- c. Tujuh kelompok isolat alkaloid Anting-anting adalah kelompok perlakuan infeksi *P. Berghei* dan terapi isolat alkaloid metanol Anting-anting sebanyak 5 mL sekali sehari secara per-oral (Muti'ah, 2010).

Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991 dalam Muti'ah). Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 5-15% yang dihitung sebagai hari ke-0 (D0) (Muti'ah, 2010). Terapi dilakukan setiap hari selama 4 hari (D0 – D3). Pengamatan derajat parasitemia dilakukan pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, hari ke-4 (D0 – D4).

3.5.5.3 Pembuatan Donor

Perlakuan dalam pembuatan donor ini merujuk pada penelitian Muti'ah *et al.*, (2010). Dalam membuat sistem donor ini, sel darah merah yang telah terinfeksi parasit diresuspensikan sampai 200 μ L dengan PBS. Kemudian disuntikkan atau diinjeksikan pada mencit secara *intrapertoneal* (i.p). Selanjutnya dilihat derajat parasitemia mencit donor. Apabila persen derajat parasitemia pada mencit donor telah mencapai 2,5 %, maka mencit tersebut dapat digunakan untuk menginfeksi mencit yang lain.

3.5.5.4 *Freezing dan Thawing Isolat P. berghei*

Perlakuan *Freezing* dan *Thawing* isolat parasit dalam penelitian ini merujuk pada penelitian Coutrier (2009). Hal pertama yang dilakukan dalam *Freezing* isolat parasit adalah dengan mengambil 0,8 mL darah jantung dari mencit donor yang telah terinfeksi kemudian dimasukkan dalam *vacu tube* yang telah berisi EDTA. Setelah itu *vacu tube* yang telah berisi darah dari jantung dan EDTA ditambahkan dengan 1,6 mL larutan Alsever's yang mengandung 10 % gliserol. Selanjutnya *vacu tube* ditutup dan dimasukkan ke dalam *liquid nitrogen tank* selama ± 1 menit. Kemudian dipindahkan dalam *freez* -70 °C. Ketika akan digunakan atau diambil darah yang telah terinfeksi parasit tersebut untuk perlakuan infeksi, *vacu tube* yang telah berisi isolat parasit tersebut dikeluarkan dari *freezer* (proses *thawing*). Dengan demikian parasit memungkinkan untuk mencair dan siap untuk diinfeksi pada hewan coba. Semua pekerjaan yang berhubungan dengan isolat *P. berghei* dilakukan dalam *Laminar air flow vertical* dan bersifat aseptik.

3.5.5.5 *Inokulasi P. berghei*

Perlakuan inokulasi *P. berghei* ini merujuk pada penelitian Muti'ah *et al.*, (2010) yang mana inokulasi *P. berghei* dilakukan secara *intraperitoneal* (i.p) dengan jumlah parasit yang diinfeksi sebanyak 1×10^6 . Dalam hal pemeriksaan mencit yang telah terinfeksi parasit ini, diasumsikan pada mencit yang normal nilai hematokritnya (angka yang menunjukkan prosentase zat padat dalam darah terhadap cairan darah) adalah 60 % dan disini mencit donor memiliki

6×10^9 sel darah merah/mL dalam darah. Jika derajat parasitemia mencit donor sebesar 2,5 % maka diambil darah sebesar 6,7 μ L, kemudian diresuspensikan sampai 200 μ L dengan larutan PBS. Setelah dilakukan infeksi selanjutnya dilakukan pengamatan parasitemia setiap hari hingga parasitemia mencapai 5 – 15 % sebagai hari ke-0 terapi. Kemudian dilakukan terapi obat atau ekstrak uji sampai pada hari ke-4.

3.5.5.6 Pengukuran Derajat Parasitemia (Sardjono dan Fitri, 2007 dalam Muti'ah, 2010).

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

$$\% \text{ derajat parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi}}{1000 \text{ eritrosit}} \times 100 \% \dots \dots \dots (2.2)$$

Sedangkan persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus berikut:

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

3.6 Analisis Data

Data yang dianalisis adalah data derajat parasitemia isolat alkaloid metanol Anting-anting dalam kaitannya dengan kontrol positif menggunakan program SPSS 16.00 dengan Uji *One Way* ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Tukey.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian isolasi, identifikasi isolat senyawa alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dan uji efektivitas antimalaria secara *in vivo* pada mencit jantan dilakukan dalam tujuh tahap meliputi, preparasi sampel, ekstraksi senyawa alkaloid, uji fitokimia kandungan senyawa alkaloid, pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) dan kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) serta uji antimalaria isolat aktif senyawa alkaloid.

4.1 Preparasi Sampel

Sampel tanaman Anting-anting yang segar masing-masing ditimbang sebanyak 1,2 kg kemudian dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang berupa tanah, debu, pestisida atau pengotor lainnya yang dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Seluruh bagian tanaman Anting-anting dipotong kecil-kecil untuk memperbanyak luas permukaan sehingga mempercepat proses pengeringan dan mempermudah penggilingan sampel menjadi serbuk.

Selanjutnya potongan tanaman Anting-anting dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 30-37 °C dengan tujuan untuk mengurangi kadar air, aktivitas mikroba dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalam tanaman Anting-anting. Pengeringan dilakukan dengan suhu 30 - 37 °C diharapkan tidak

merusak kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman tersebut. Sampel yang telah kering diblender sampai menjadi halus dan diayak menggunakan saringan agar didapatkan serbuk sampel halus sebesar 60 mesh sehingga diperoleh 150 g serbuk tanaman Anting-anting. Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga kontak antara sampel dan pelarut semakin mudah sehingga proses ekstraksi berlangsung lebih mudah dan menghasilkan ekstrak yang banyak.

Semakin kecil bentuknya semakin besar luas permukaannya maka interaksi zat cairan ekstraksi akan semakin besar, sehingga proses ekstraksi akan semakin efektif (Baraja, 2008). Serbuk dengan penghalusan yang tinggi kemungkinan sel-sel yang rusak juga semakin besar sehingga memudahkan pengambilan bahan kandungan aktif langsung oleh bahan pelarut (Voight, 1995). Selanjutnya serbuk yang diperoleh digunakan untuk proses ekstraksi maserasi.

4.2 Ekstraksi Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting

Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi merupakan proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (Cholis, 2009).

Pada prinsipnya metode maserasi adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan bahan yang diekstrak dan adanya distribusi pelarut organik yang secara terus menerus ke dalam sel tumbuhan yang mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel sehingga senyawa aktif metabolit sekunder

yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik (Djarwis, 2004).

Menurut Yustina (2008), kelebihan metode maserasi adalah pengerjaannya cukup sederhana, murah, mudah dilakukan serta baik untuk isolasi senyawa bahan alam yang tidak tahan terhadap suhu tinggi sehingga senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam sampel tidak rusak. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006). Ekstraksi pada tanaman Anting-anting ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol agar senyawa-senyawa aktif metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel tersebut dapat terekstrak ke dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran pelarutnya atau dikenal dengan istilah *like dissolve like*.

Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa alkaloid adalah menggunakan pelarut metanol yang memiliki kecenderungan bersifat polar dengan tetapan dielektrikum sebesar 32,60. Menggunakan pelarut metanol untuk mengekstrak senyawa alkaloid yang bersifat polar pada sampel. Metanol juga bersifat seperti cairan sel yang dapat mengikat semua komponen kimia yang terdapat di dalam tanaman Anting-anting yang bersifat polar dan sifat dari senyawa alkaloid bersifat polar sehingga menggunakan pelarut polar juga (Fauziah, 2010). Darwis (2000) menyatakan bahwa secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan mayoritas golongan metabolit sekunder.

Pada proses perendaman sampel, pelarut metanol melarutkan komponen dalam sel ekstrak tanaman Anting-anting dengan cara pemecahan dinding sel dan membran sel. Akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel maka metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut metanol. Proses mengalirnya bahan pelarut metanol ke dalam sel ekstrak tanaman Anting-anting dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan (komponen senyawa) sel akan terlarut melalui rongga antar sel.

Serbuk kedua sampel masing-masing ditimbang secara terpisah sebanyak 100 g dan diekstraksi secara maserasi (perendaman) menggunakan pelarut metanol. Selanjutnya untuk masing-masing sampel tanaman Anting-anting dibagi menjadi dua bagian masing-masing sebesar 50 g dengan tujuan agar proses ekstraksi lebih efektif dan efisien. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel sebesar 50 g dengan 200 mL metanol selama 24 jam ke dalam pelarutnya. Pelarut akan menembus dinding dan membran sel kemudian masuk ke dalam rongga (sitoplasma) sel yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalam dan di luar sel, maka cairan hipertonis akan masuk ke cairan yang hipotonis sehingga terjadi keseimbangan.

Pengadukan (pengocokan) dengan menggunakan *shaker* diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Baraja, 2008). Proses pengadukannya dibantu dengan *shaker* selama 3

jam dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) untuk mempercepat proses ekstraksi dengan sering terjadinya kontak antara sampel dengan pelarut dan kecepatan pengadukannya dapat dilakukan secara konstan.

Tahap selanjutnya sampel yang telah dimaserasi selama selama 24 jam disaring dengan menggunakan corong *Buchner* untuk memisahkan filtrat dan ampas. Penyaringan menggunakan corong *Buchner* dapat membantu mempercepat proses penyaringan karena dilengkapi dengan pipa vakum sehingga tekanan di dalam corong lebih besar daripada tekanan di luar dan menyebabkan filtrat tertarik lebih kuat dan cepat. Filtrat disimpan dalam botol sedangkan ampas dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sampai filtrat yang didapat berwarna bening.

Ekstraksi dihentikan sampai filtrat berwarna bening (pucat), diharapkan senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran yang sesuai dengan pelarutnya dapat terekstrak secara maksimal pada pelarutnya. Penambahan dengan pelarut metanol dilakukan sampai 3 kali proses ekstraksi, sehingga volume pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi sebanyak 1000 mL. Hasil maserasi filtrat metanol yang didapatkan berwarna hijau tua pekat sedangkan ampas yang didapatkan berwarna hijau kecoklatan pekat.

Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator vaccum* untuk mendapatkan ekstrak pekat yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Prinsip utama alat ini terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik didihnya. *Vaccum rotary evaporator* merupakan alat yang menggunakan prinsip

vakum destilasi yang mampu menguapkan pelarut di bawah titik didih sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak oleh suhu yang tinggi.

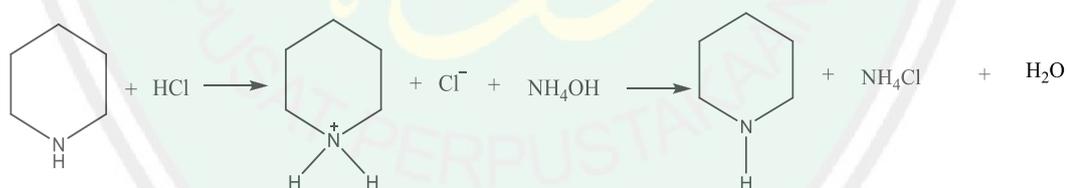
Penguapan pelarut dengan rotary evaporator vacuum dihentikan setelah diperoleh ekstrak yang cukup pekat dan pelarutnya sudah tidak menetes lagi. Selanjutnya pelarut yang masih bersisa dalam ekstrak diuapkan dengan dialiri gas N_2 dan diperoleh ekstrak tanaman Anting-anting yang berwarna berwarna hijau tua pekat dengan rendemen ekstrak kasar tanaman Anting-anting sebesar 12,1164 % (b/b) dengan perhitungan pada lampiran 5.

Isolasi alkaloid dilakukan berdasarkan penelitian Hasibuan (2007). Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian diekstraksi cair-cair secara asam basa dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak pekat metanol ditambahkan amonium hidroksida sampai pH 10 untuk mengondisikan ekstrak agar bersifat basa. Ekstrak metanol ini masih terdapat beberapa senyawa termasuk alkaloid dan asam-asam organik lainnya. Tujuan dari penambahan ammonium hidroksida (NH_4OH) adalah untuk mereaksikan asam-asam organik dan senyawaan yang bersifat asam membentuk garam.

Kemudian ekstrak metanol tersebut diekstraksi dengan kloroform (dengan perbandingan 1:1). Alkaloid bebas tidak larut dalam pelarut air tetapi larut dalam pelarut kloroform (Sastrohamidjojo, 2007) sehingga yang terekstrak adalah basa bebas alkaloid dan senyawaan non polar lainnya, sedangkan asam-asam organik tadi tidak ikut terekstrak. Ekstrak ditambahkan HCl 1 N (sampai pH 2-3) dan dikocok sehingga terbentuk 2 lapisan. Hal ini dilakukan untuk membentuk garam alkaloid -Cl. Garam alkaloid -Cl mudah larut dalam air, sehingga komponen

tersebut dapat dipisahkan dari komponen lainnya. Penambahan pelarut kloroform dan HCl menyebabkan terbentuknya dua lapisan yaitu lapisan atas (fasa air) yang berwarna coklat tua dan lapisan bawah (fasa organik) yang berwarna hitam pekat, karena kedua pelarut tersebut mempunyai berat jenis dan kepolaran yang berbeda. Berat jenis kloroform lebih besar yaitu 1,48 g/mL dari pada air yang hanya mempunyai berat jenis sebesar 1,00 g/mL, sehingga lapisan kloroform berada di bagian bawah. Alkaloid dalam bentuk garamnya akan mudah larut dalam fasa air (Robinson, 1995).

Lapisan atas (fasa air) dan lapisan bawah (fasa organik) yang diperoleh masing-masing dipisahkan. Alkaloid yang terlarut dalam fasa air ditambahkan dengan larutan amonium hidroksida (NH_4OH) sampai alkalis (pH 9-10). Perlakuan tersebut dilakukan agar garam alkaloid membentuk basa bebas alkaloid kembali. Dugaan reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut ini:



Gambar 4.1 Reaksi dugaan dalam proses isolasi alkaloid

Larutan basayang diperoleh kemudian diekstraksi dengan kloroform sehingga membentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas (fasa air) yang berwarna coklat kekuningan dan lapisan bawah (fasa organik) yang berwarna kuning kecoklatan, karena kedua pelarut tersebut mempunyai berat jenis dan kepolaran yang berbeda.

Fasa organik yang diperoleh kemudian dialirkan gas N_2 sehingga pelarut yang tersisa dalam ekstrak dapat menguap dan tidak mempengaruhi tahapan prosedur selanjutnya. Rendemen yang diperoleh ekstrak kasar alkaloid sebesar 0,0364 % (b/b) dengan perhitungan lampiran 5. Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji fitokimia dengan menggunakan reagen, dilakukan pemisahan ekstrak senyawa alkaloid dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta diuji aktifitas antimalaria isolat alkaloid tanaman Anting-anting yang diperoleh.

4.3 Identifikasi Ekstrak Kasar Alkaloid dengan Reagen

Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan reagen Dragendorff dan Mayer. Ekstrak yang mengandung alkaloid menurut Harbone (1987) akan membentuk endapan merah hingga jingga dengan reagen Dragendorff dan membentuk endapan putih kekuning-kuningan dengan reagen Mayer. Endapan terbentuk karena adanya pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Selanjutnya tujuan penambahan HCl 2 % dalam uji alkaloid adalah untuk mengekstrak alkaloid karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam.

Sirait (2007) mengatakan bahwa prinsip untuk mengidentifikasi alkaloid-alkaloid adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi Dragendorff digunakan untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi.

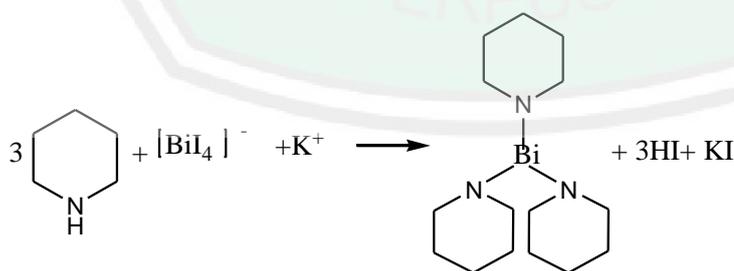
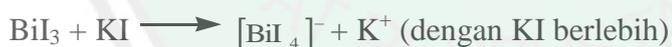
Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), yang reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.2 (Marliana., dkk, 2005).



Gambar 4.2 Reaksi hidrolisis bismut

Agar ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, maka larutan tersebut ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan Bismut(III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990).

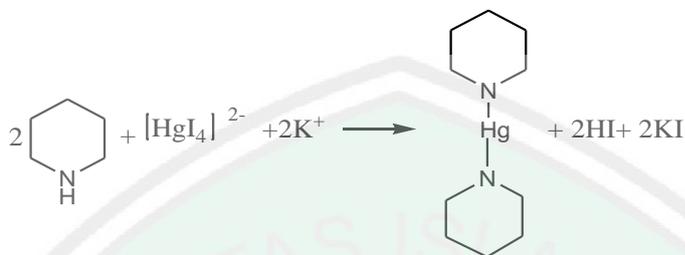
Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid adalah sebagaimana pada reaksi berikut:



Kompleks logam dengan alkaloid

(endapan jingga)

Gambar 4.3 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)



Kompleks logam dengan alkaloid
(endapan putih kekuningan)

Gambar 4.4 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi Meyer (Lutfillah, 2008)

Hasil uji alkaloid dari ekstrak ini menunjukkan terbentuknya endapan yang berwarna jingga dan endapan putih kekuningan ketika direaksikan dengan reagen Dragendorff dan Mayer. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung senyawa alkaloid.

4.4 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Pendugaan senyawa alkaloid tanaman Ating-ating dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT Merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam pada plat yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 1 cm x 10 cm G60 F₂₅₄ (Merck). Plat silika G60 F₂₅₄ diaktifasi pada suhu 100 °C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007).

Penotolan dilakukan pada jarak ± 1 cm dari bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Apabila noda telah kering, plat dengan panjang 10 cm dielusi dengan cara meletakkannya secara vertikal di dalam bejana pengembang. Bejana pengembang ini berisi campuran eluen yang sesuai untuk senyawa yang akan dipisahkan. Plat KLT yang telah dimasukkan dalam bejana pengembang dibiarkan sampai terjadi pemisahan (Sastrohamidjojo, 2007). Pemisahan ini terjadi dikarenakan adanya perbedaan kepolaran senyawa dengan fase diam plat dan fase gerak yang digunakan. Proses elusi dihentikan jika eluen telah mencapai $\frac{3}{4}$ plat KLT. Noda-noda hasil pemisahan ini dapat diamati dan diidentifikasi.

Cara yang digunakan dalam identifikasi noda-noda yang terbentuk pada plat KLT dapat dilakukan dengan menggunakan lampu UV (Ultraviolet). Beberapa senyawa alam akan berflourosensi yaitu memancarkan cahaya tampak saat disinari dengan sinar UV atau mengabsorpsi sinar UV. Hal ini dikarenakan senyawa alam memiliki gugus kromofor yang khas yang dapat memberi atau membentuk warna. Sudjadi (1986) menjelaskan panjang sinar UV yang digunakan adalah 254 nm dan 366 nm. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm dikarenakan adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator flouresensi yang terdapat pada plat KLT. Jika senyawa pada bercak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik jenis apa saja, sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator flouresensi, dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Panjang gelombang 254 nm digunakan untuk menampakan eluen yang digunakan sebagai bercak gelap (Gritter, 1991).

Pada sinar UV panjang gelombang 366 nm digunakan untuk menampakkan bercak yang berfluoresensi sehingga pada pengamatan terlihat bercak berpendar (memancarkan cahaya). Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom yang ada pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali semula sambil melepaskan energi (Sudjadi, 1988).

4.4.1 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Analitik (KLTA)

KLT analitik ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa alkaloid. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Penggunaan berbagai macam eluen diharapkan mampu memisahkan komponen-komponen senyawa alkaloid yang terdapat dalam ekstrak metanol tanaman Anting-anting dengan baik. Noda yang dihasilkan selanjutnya dideteksi dengan pereaksi Dragendorf kemudian diamati di bawah lampu UV. Pereaksi ini digunakan untuk menambah kepekaan deteksi dan menghasilkan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawa yang bersangkutan (Markham, 1988).

Pemisahan senyawa alkaloid dengan menggunakan beberapa eluen campuran, di antaranya kloroform:metanol (9,5:0,5), kloroform:metanol:amoniak

(85:15:1), kloroform:metanol (1:4), etil asetat:metanol:air (6:4:2) dan kloroform : etil asetat (8:2). Variasi eluen tersebut sudah cukup untuk mewakili kepolaran dari setiap senyawa yang dipisahkan yaitu ada campuran variasi yang berkecenderungan ke arah lebih polar dan ada yang berkecenderungan lebih semipolar. Pengamatan plat di bawah lampu UV yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm dan 366 nm untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak gelap atau bercak yang berfluorosensi terang pada dasar yang berfluorosensi seragam (Gritter, 1991). Sedangkan data penampakan noda dari ekstrak kasar alkaloid disajikan pada Tabel 4.1.

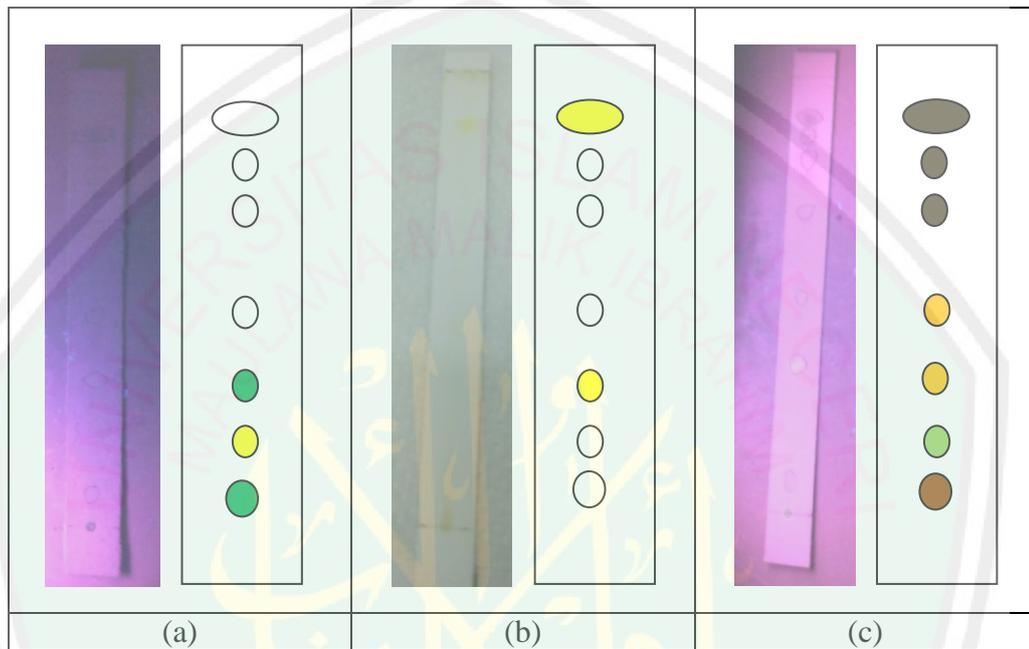
Tabel 4.1 Data penampakan noda dari ekstrak kasar alkaloid yang dihasilkan pada KLT analitik berdasarkan berbagai macam komposisi eluen menggunakan lampu UV 366 nm

No	Variasi komposisi eluen	Jumlah noda	Keterangan
1	kloroform:metanol (9,5:0,5)	7	Terpisah baik
2	kloroform:metanol:amoniak (85:15:1)	2	Terpisah baik
3	kloroform:metanol (1:4)	1	Tak terpisah
4	etil asetat:metanol:air (6:4:2)	3	Terpisah baik
5	kloroform : etil asetat (8:2)	5	Terpisah baik

Eluen campuran kloroform:metanol (9,5:0,5) mampu memberikan pemisahan yang baik, hal ini dapat dilihat dengan adanya noda yang terpisah dengan baik dan jumlah noda yang dihasilkan cukup banyak yaitu 7 noda. Noda-noda ini terpisah berdasarkan kepolarannya. Noda yang mempunyai harga R_f lebih rendah cenderung memiliki kepolaran yang lebih tinggi karena lebih terdistribusi ke dalam fase diam. Dengan demikian eluen ini dapat digunakan dalam pemisahan senyawa alkaloid dengan KLT preparatif. Adapun hasil KLT

analitik eluen kloroform:metanol (9,5:0,5) disajikan dalam Gambar 4.5 dan Tabel

4.2



Gambar 4.5 : Foto plat hasil KLTA ekstrak kasar alkaloid tanaman Anting-anting dengan eluen terbaik kloroform:metanol (9,5:0,5)

Keterangan :

- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 sebelum disemprot reagen Dreagendorf
- Hasil elusi sebelum dideteksi dengan lampu UV 366 setelah disemprot reagen Dreagendorf
- Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 setelah disemprot reagen Dreagendorf

Tabel 4.2 Hasil KLT senyawa alkaloid dengan eluen terbaik kloroform:metanol (9,5:0,5)

No	Rf tiap noda	Warna noda dengan sinar UV 366 nm sebelum disemprot reagen Dragendorf	Warna noda tanpa sinar UV 366 nm setelah disemprot	Warna noda dengan sinar UV 366 nm setelah disemprot reagen Dragendorf	Dugaan Senyawa
1	0,21	Hijau	Kuning	Coklat	Alkaloid
2	0,30	Kuning	Tidak berwarna	Kuning Kehijauan	Alkaloid
3	0,36	Hijau	Tidak berwarna	Jingga	Alkaloid
4	0,41	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Jingga	Alkaloid
5	0,77	Tidak berwarna	Kuning	Coklat Keunguan	Alkaloid
6	0,81	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Coklat Keunguan	Alkaloid
7	0,92	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Coklat Keunguan	Alkaloid

Penelitian-penelitian yang menyebutkan bahwa eluen kloroform:metanol (9,5:0,5) merupakan eluen yang paling baik untuk memisahkan senyawa alkaloid menggunakan KLT dengan antara lain penelitian Husna (2011) dengan noda yang dihasilkan berwarna kuning dan biru kehijauan setelah disemprot dengan reagen Dragendorf dan berwarna jingga kecoklatan, coklat dan kuning orange setelah dideteksi di bawah lampu UV 366 nm serta menghasilkan Rf 0,37-0,97. Sriwahyuni (2010), menghasilkan 5 noda dengan Rf antara 0,27-0,87 dengan noda yang dihasilkan menunjukkan warna jingga kecoklatan dan jingga tua. Widodo (2007) menyatakan noda berwarna jingga setelah disemprot dengan reagen Dragendorf dan berwarna kuning orange setelah dideteksi di bawah lampu UV 366 nm. Harborne (1987) menyatakan noda berwarna coklat, jingga dan kuning menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Pada percobaan uji KLTA ekstrak kasar alkaloid ini terdapat 7 noda yang terpisahkan dengan Rf sebesar 0,21-0,30-0,36-0,41,-0,77-0,81-0,92. Dari hasil uji KLTA didapatkan bahwa 7 buah senyawa mempunyai 3 jenis kepolaran yang berbeda. Senyawa dengan Rf 0,81 dan 0,92 mempunyai sifat non polar, sehingga senyawa tersebut ikut terbawa oleh eluen kloroform yang memiliki kepolaran lebih tinggi dan juga didukung dari nilai koefisien distribusi (KD) yang kecil ($C_{mobile} > C_{stationer}$). Senyawa dengan Rf 0,41 dan 0,77 mempunyai sifat semi polar, sehingga jarak noda agak jauh dari batas atas plat KLT. Senyawa dengan Rf 0,21; 0,30 dan 0,36 mempunyai sifat polar, hal ini dikarenakan senyawa tersebut tertahan dengan plat KLT yang mempunyai sifat polar. Hal ini mengakibatkan senyawa tersebut mempunyai Rf yang nilainya kecil dan juga didukung dari nilai koefisien distribusi (KD) yang besar ($C_{stationer} > C_{mobile}$).

Identifikasi spot hasil pemisahan senyawa golongan alkaloid secara KLT ekstrak kasar alkaloid menunjukkan bahwa spot 1-7 positif senyawa alkaloid. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya warna coklat, jingga kecoklatan dan kuning kehijauan setelah disemprot dengan reagen Dragendorf saat disinari dengan sinar UV pada λ 366 nm. Hasil yang diperoleh dari KLT analitik ini yang berupa eluen terbaik dalam pemisahan senyawa alkaloid selanjutnya dapat digunakan untuk analisa yang lebih lanjut pada KLT preparatif.

4.4.2 Pemisahan Senyawa Alkaloid dengan KLT Preparatif (KLTP)

Hasil pemisahan dengan KLT preparatif hampir sama dengan KLT analitik hanya berbeda pada jumlah ekstrak yang ditotolkan pada plat dan ukuran

plat KLT yang digunakan. Ekstrak pekat hasil ekstraksi ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dikeringanginkan dan ditotolkan kembali ekstrak kasar alkaloid tanaman Anting-anting sampai dua kali penotolan. Plat yang digunakan pada plat KLT preparatif adalah plat KLT silika gel G 60 F₂₅₄ dengan ukuran yang lebih besar yaitu 10 cm x 20 cm. Eluen yang digunakan pada pemisahan KLT preparatif adalah eluen terbaik hasil pemisahan pada KLT analitik yaitu kloroform:metanol (9,5:0,5).

Hasil pemisahan senyawa alkaloid dengan KLTP diperoleh 7 noda dengan eluen kloroform:metanol (9,5:0,5). Pemisahan senyawa alkaloid dengan KLTP menghasilkan 6 noda dengan eluen metanol:kloroform (1:39) (Husna, 2011). Noda-noda yang didapatkan ini dikerok dan dilarutkan dengan 3 mL metanol. Setelah itu larutan divorteks untuk menghomogen metanol dengan senyawa yang terserap pada silika gel.

Pemisahan silika gel dengan filtrat yang mengandung senyawa aktif dilakukan dengan cara sentrifuse. Hal ini bertujuan untuk mengendapkan silika gel sehingga filtrat yang diambil tidak bercampur dengan silika gel tersebut. Filtrat yang didapatkan diambil dan dimasukkan dalam botol vial. Silika yang masih berwarna dilarutkan kembali dengan metanol sampai silika benar-benar berwarna putih yang diasumsikan senyawa aktif telah terambil semua dari silika tersebut. Selanjutnya filtrat yang dimasukkan dalam botol vial diuapkan menggunakan gas N₂ untuk mendapatkan isolat padat yang akan diuji antimalaria.

Berikut ini hasil KLTP senyawa alkaloid ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil pemisahan secara KLTP senyawa isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.).
Keterangan : (a) tanpa disinari dengan sinar UV
(b) disinari di bawah sinar UV

4.5 Uji Antimalaria Isolat Alkaloid Hasil Pemisahan Secara KLTP

Uji aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991 dalam Muti'ah, 2010). *In vivo* (bahasa Latin: “dalam hidup”) adalah eksperimen dengan menggunakan keseluruhan hidup organisme. Kelebihan metode *in vivo* adalah lebih cocok untuk mengamati efek keseluruhan percobaan pada subjek organisme hidup.

In vitro (bahasa Latin: “dalam kaca”) adalah eksperimen yang dilakukan tidak dalam hidup organisme tetapi dalam lingkungan terkontrol, misalnya di dalam tabung reaksi atau cawan petri. Kekurangan metode *in vitro* adalah kondisi pengujian sering tidak sesuai dengan kondisi di dalam organisme yang dapat mengakibatkan hasil yang tidak sesuai dengan situasi yang muncul dalam organisme hidup. Akibatnya, hasil eksperimen yang dijelaskan dengan metode *in vitro* bertentangan dengan *in vivo*.

Penelitian uji antimalaria ini dilakukan untuk mengetahui efek yang diberikan dari isolat alkaloid tanaman Anting-anting dengan berbagai variasi dosis terhadap hewan uji dalam penurunan jumlah parasit. Hewan uji yang digunakan yaitu mencit jantan galur Balb/C yang berumur 2 bulan dengan berat 15-25 g. Alasan dipilihnya mencit sebagai hewan uji adalah karena pemeliharaannya mudah, mudah beranak sehingga tidak cepat punah, dan memiliki kesetaraan taksonomi dengan manusia, seperti reaksi terhadap penyakit maupun pengobatan, serta mempunyai kemiripan dalam hal fisiologi manusia (Coutrier, 2008). Penggunaan mencit jantan dikarenakan kondisi biologisnya stabil dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi masa siklus estrus. Sedangkan alasan penggunaan mencit Balb/c dikarenakan kondisinya yang lebih rentan terhadap infeksi *Plasmodium berghei* dan memiliki kemampuan bertahan hidup yang lebih 14 hari setelah diinfeksi *Plasmodium berghei*. Sehingga untuk mempelajari malaria cerebral dari parasit *Plasmodium berghei* menggunakan mencit Balb/c adalah yang paling sesuai.

Sebelum perlakuan, mencit dipelihara dalam kandang yang diberi alas berupa serbuk kayu dan anyaman sebagai penutup. Pemeliharaan mencit dilakukan sekitar 1 minggu dengan pemberian makan dan minum secara *ad libitum* (Amelya, 2006 dalam Nadia 2012) yakni secara bebas dan terus menerus sampai mencit berhenti sendiri sesuai keinginannya. Tujuan diperlukannya pemeliharaan selama 1 minggu adalah agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan sekitar. Parasit yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium berghei* ANKA. Hal ini dikarenakan parasit ini memiliki kesamaan

dengan parasit yang menginfeksi mamalia, meliputi: siklus hidup, morfologi stadium pertumbuhan, organisasi genom, *metabolic pathway* (Coutrier, 2008).

Proses penjangkitan malaria dilakukan dengan menyuntikkan parasit malaria (*Plasmodium berghei*) melalui *intraperitoneal*. Penyuntikan dilakukan tepat pada perut sebelah kanan garis tengah, tidak terlalu tinggi agar tidak mengenai hati dan kantung empedu kemih. Mencit dipegang pada bagian tengkuk agar kulit abdomen menjadi tegang dan dibalikkan sehingga bagian perutnya tampak. Pada saat penyuntikan, posisi kepala lebih rendah daripada abdomen (badan). Daerah yang akan disuntik dibersihkan dengan etanol 70 % dan jarum steril harus ditusukkan ke bagian kuadran kanan atau kiri bawah dari perut mencit. Jarum ditusukkan dengan kemiringan 30 derajat (Coutrier, 2008).

Masing-masing larutan uji dibuat dengan dosis yang berbeda sesuai dengan hasil kerokan isolat. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah pelarut yang tidak memiliki efek samping terhadap hewan uji dan tidak bereaksi dengan ekstrak tersebut (bersifat inert). Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah Na-CMC sebab pelarut ini bersifat netral dan tidak memberikan efek samping terhadap hewan uji maupun ekstrak. Larutan Na-CMC berbentuk gel sehingga lebih mudah dicerna oleh mencit dibandingkan larutan yang berbentuk cair.

Uji aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode Peter (Philipson, 1991 dalam Muti'ah). Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 5-15 % yang dihitung sebagai hari ke-0. Terapi diberikan selama 4 hari dengan alasan diinginkan obat malaria yang

pemberiannya cukup sehari sekali dan dalam waktu 4 hari ekstrak tersebut sudah mampu menghambat pertumbuhan parasit secara efektif. Pengamatan derajat parasitemia dilakukan pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4. Hal ini bertujuan untuk mengetahui profil pertumbuhan parasit setelah diberikan pengobatan. Pemeriksaan parasitemia hari ke-0 bertujuan untuk membuktikan semua mencit berada dalam *range* derajat parasitemia yang sama pada hari akan dilakukan pengobatan (Muti'ah, 2010).

Hasil pemeriksaan derajat parasitemia ditunjukkan pada Tabel 4.3 di bawah ini.

Tabel 4.3 Rerata derajat parasitemia isolat alkaloid Anting-anting

Kelompok Perlakuan	Rerata derajat parasitemia (%)				
	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
Kontrol Negatif	7,4	8,60	9,60	10,40	11,80
Kontrol Positif	7,3	6,10	5,10	2,90	0,90
Isolat 1	8,4	12,8	10,1	14,4	17,5
Isolat 2	9,2	17,7	18,2	19,0	21,6
Isolat 3	9,1	19,0	20,4	22,2	24,2
Isolat 4	8,7	12,7	11,5	12,8	9,3
Isolat 5	8,4	13,4	14,6	12,4	14,1
Isolat 6	8,3	10,9	12,7	12,1	10,4
Isolat 7	9,2	12,3	15,3	18,5	25,6

Keterangan:

Kontrol (-)

: infeksi *P.berghei* tanpa terapi

Kontrol (+)

: infeksi *P.berghei* dengan terapi klorokuin 5,71 mg/kg BB

Isolat 1

: pemberian terapi isolat alkaloid spot I

Isolat 2

: pemberian terapi isolat alkaloid spot II

Isolat 3

: pemberian terapi isolat alkaloid spot III

Isolat 4

: pemberian terapi isolat alkaloid spot IV

Isolat 5

: pemberian terapi isolat alkaloid spot V

Isolat 6

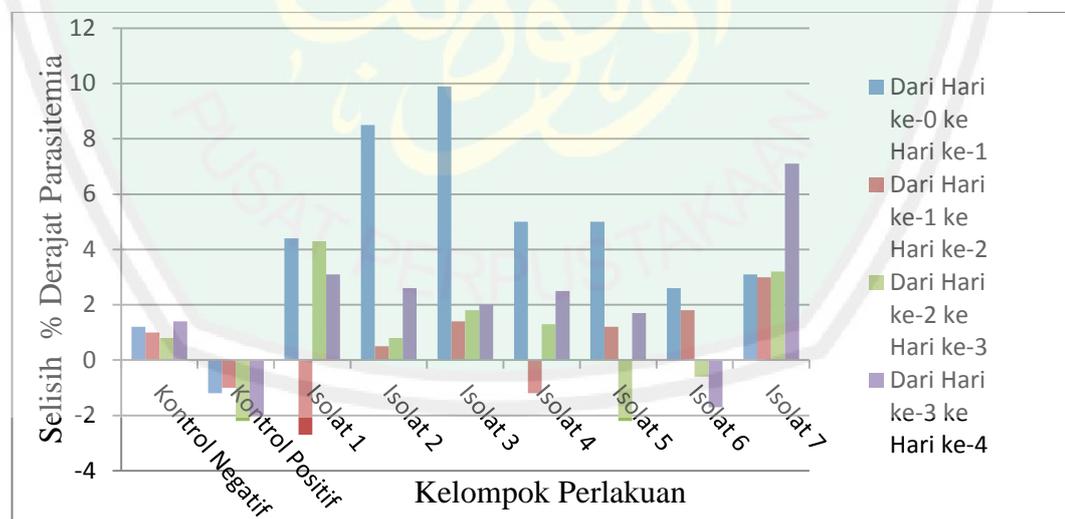
: pemberian terapi isolat alkaloid spot VI

Isolat 7

: pemberian terapi isolat alkaloid spot VII

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa rata-rata derajat parasitemia semua perlakuan pada hari ke-0 adalah sebesar 7 – 10 %. Selain itu, diketahui bahwa hasil rata-rata derajat parasitemia hari ke-1, sampai hari ke-4 untuk kelompok perlakuan Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3 dan Isolat 7 senyawa alkaloid tanaman Anting-anting mengalami peningkatan rata-rata derajat parasitemia. Diketahui pula pada hari ke-3 dan ke-4 pasca terapi pada isolat alkaloid 6 seiring dengan peningkatan dosis terjadi penurunan rata-rata derajat parasitemia. Sedangkan pada isolat alkaloid 4 mengalami penurunan derajat parasitemia pada hari ke-2 dan ke-4.

Data selisih derajat parasitemia selama 4 hari ditunjukkan dalam Gambar 4.7 di bawah ini:



Gambar 4.7 Grafik selisih persen derajat parasitemia kelompok perlakuan selama 4 hari

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa perlakuan kelompok kontrol negatif, isolat 2, isolat 3 dan isolat 7 mengalami peningkatan % derajat parasitemia yang

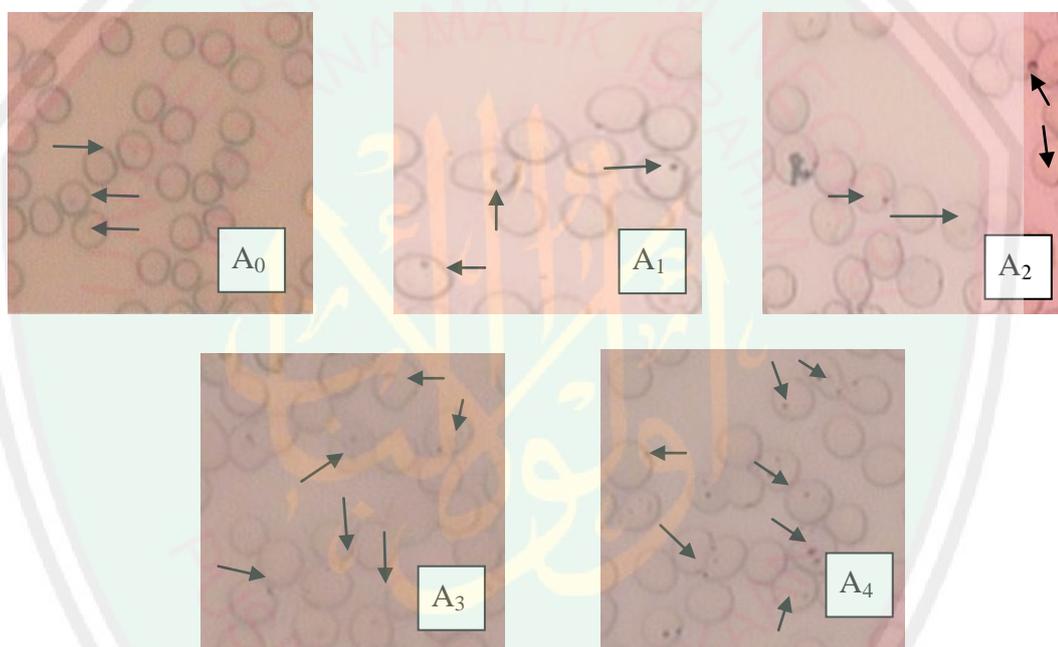
ditunjukkan dengan positifnya nilai selisih % derajat parasitemia. Sedangkan kelompok perlakuan kontrol positif, isolat 1, isolat 4, isolat 5 dan isolat 6 ada yang mengalami penurunan % derajat parasitemia yang ditunjukkan dengan negatifnya nilai selisih % derajat parasitemia.

Peningkatan derajat parasitemia pada kontrol negatif menunjukkan bahwa jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* semakin meningkat seiring dengan bertambahnya hari perlakuan. Pada hari ke-0 adalah 7,4 %. Eritrosit yang terinfeksi dimulai dengan merozoid yang menerobos masuk ke dalam eritrosit tersebut kemudian parasit akan tampak seperti kromatin kecil yang dikelilingi oleh sitoplasma yang membesar sehingga membentuk trofozoit. Nilai derajat parasitemia pada hari ke-1 pasca perlakuan terjadi peningkatan menjadi 8,6 %. Hal ini disebabkan trofozoit-trofozoit berubah menjadi skizon muda kemudian berkembang menjadi skizon matang dan membelah diri menjadi beberapa merozoid kembali (Nugroho,2000 dalam Nadia 2012). Derajat parasitemia diperoleh dari sediaan darah tipis dengan menghitung jumlah sel yang terinfeksi *Plasmodium berghei* (trofozoit bentuk cincin, trofozoit stadium lanjut, dan atau skizon) dalam 1000 eritrosit (Sardjono dan Fitri, 2007).

Peningkatan derajat parasitemia pada kontrol negatif menunjukkan bahwa jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* semakin meningkat seiring dengan bertambahnya hari perlakuan. Eritrosit yang terinfeksi dimulai dengan merozoid yang menerobos masuk ke dalam eritrosit tersebut kemudian parasit akan tampak seperti kromatin kecil, dikelilingi oleh sitoplasma yang membesar sehingga membentuk trofozoit. Derajat parasitemia diperoleh dari sediaan darah

tipis dengan menghitung jumlah sel yang terinfeksi *Plasmodium berghei* (trofozoit bentuk cincin, trofozoit stadium lanjut, dan atau skizon) dalam 1000 eritrosit (Sardjono dan Fitri, 2007).

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan kontrol negatif yang diinfeksi *Plasmodium berghei* tanpa terapi disajikan pada Gambar 4.8 di bawah ini.



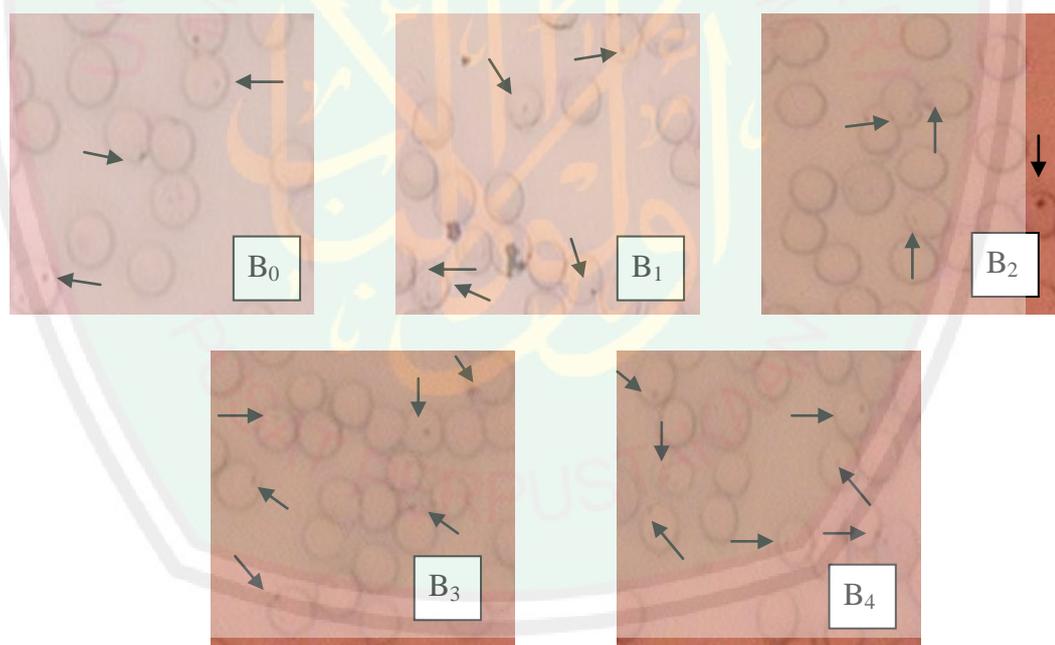
Gambar 4.8 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok kontrol (-) tanpa terapi pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 sebelum terapi (A_0), hari ke-1 pasca terapi (A_1), hari ke-2 pasca terapi (A_2), hari ke-3 pasca terapi (A_3) dan hari ke-4 pasca terapi (A_4). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.8 di atas terlihat jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* semakin meningkat, seiring dengan bertambahnya hari perlakuan. Rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-0 (A_0) adalah sebesar 7,4 %. Eritrosit terinfeksi (trofozoit bentuk cincin) ditunjukkan oleh tanda panah. Rata-rata derajat parasitemia hari ke-1 (A_1) pasca perlakuan meningkat secara cepat

menjadi 8,60 %. Rata-rata hari ke-2 (A_2) pasca perlakuan meningkat menjadi 9,60 %. Rata-rata derajat parasitemia hari ke-3 (A_3) pasca perlakuan meningkat menjadi 10,40 %, ditandai dengan banyaknya bentuk skizon yang ditunjukkan oleh tanda panah. Sedangkan rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-4 (A_4) pasca perlakuan mencapai 11,80 %, ditandai dengan lebih banyaknya trofozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah daripada A_3 .

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi isolat alkaloid I disajikan pada Gambar 4.9.

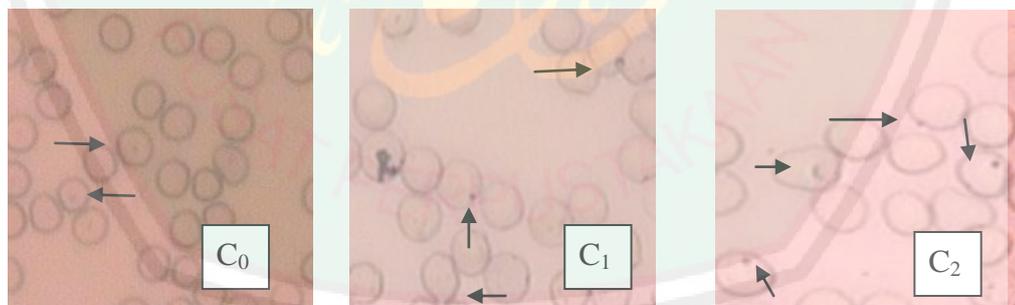


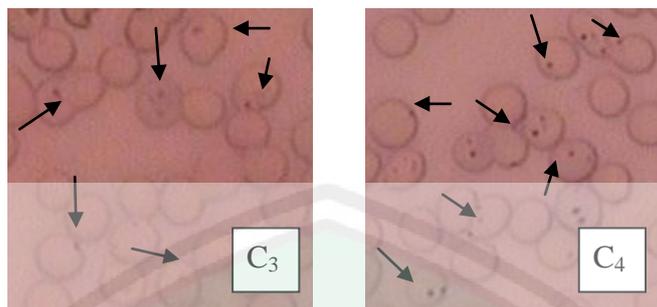
Gambar 4.9 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid I pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 sebelum terapi (B_0), hari ke-1 pasca terapi (B_1), hari ke-2 pasca terapi (B_2), hari ke-3 pasca terapi (B_3) dan hari ke-4 pasca terapi (B_4). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.9 terlihat terdapat penghambatan *Plasmodium berghei* dibandingkan kontrol positif yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit terinfeksi pada hari ke-2 pasca terapi. Pada hari ke-1 pasca terapi didapat rata-rata derajat parasitemia sebesar 12,8 %, terlihat adanya skizon dan tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah. Terjadi penurunan rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-2 (B_2) pasca terapi sebesar 10,1 %, yang ditandai dengan berkurangnya skizon dan tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah. Rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-3 (B_3) dan hari ke-4 (B_4) meningkat menjadi 14,4 % dan 17,5 %, ditandai dengan lebih banyaknya tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah daripada B_2 .

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi Isolat Alkaloid II disajikan pada Gambar 4.10 di bawah ini.



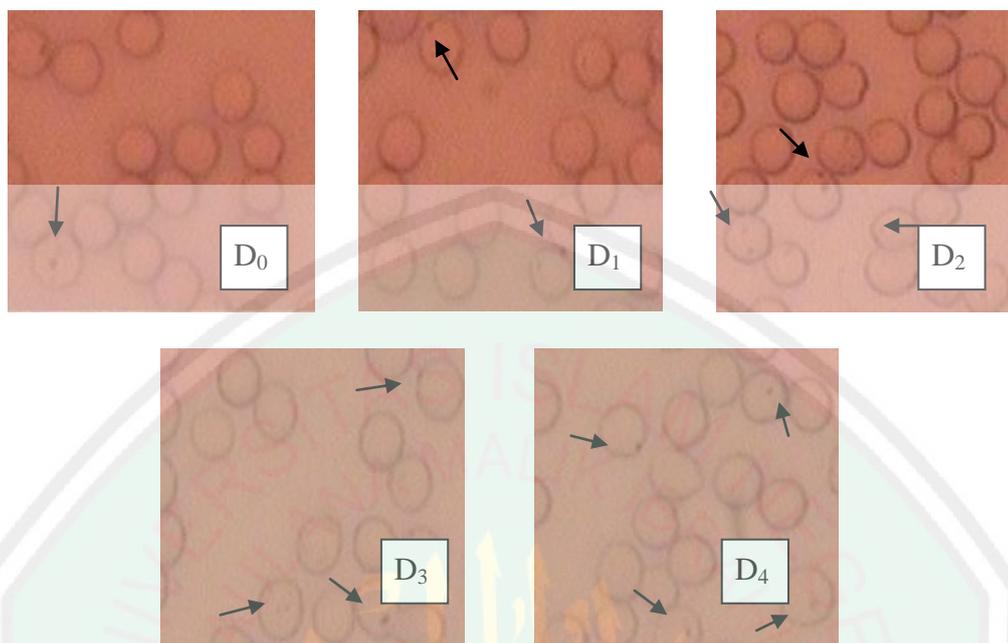


Gambar 4.10 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid II pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 sebelum terapi (C_0), hari ke-1 pasca terapi (C_1), hari ke-2 pasca terapi (C_2), hari ke-3 pasca terapi (C_3) dan hari ke-4 pasca terapi (C_4). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.10 di atas terlihat jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* semakin meningkat, seiring dengan bertambahnya hari perlakuan. Rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-0 (C_0) adalah sebesar 9,2 %. Eritrosit terinfeksi (trophozoit bentuk cincin) ditunjukkan oleh tanda panah. Rata-rata derajat parasitemia hari ke-1 (C_1) pasca perlakuan meningkat secara cepat menjadi 17,7 %. Rata-rata hari ke-2 (C_2) pasca perlakuan meningkat menjadi 18,2 %. Rata-rata derajat parasitemia hari ke-3 (C_3) pasca perlakuan meningkat menjadi 19,0 %, ditandai dengan banyaknya bentuk skizon yang ditunjukkan oleh tanda panah. Sedangkan rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-4 (C_4) pasca perlakuan mencapai 21,6 %, ditandai dengan lebih banyaknya trofozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah daripada C_3 .

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi Isolat Alkaloid III disajikan pada Gambar 4.11 di bawah ini.

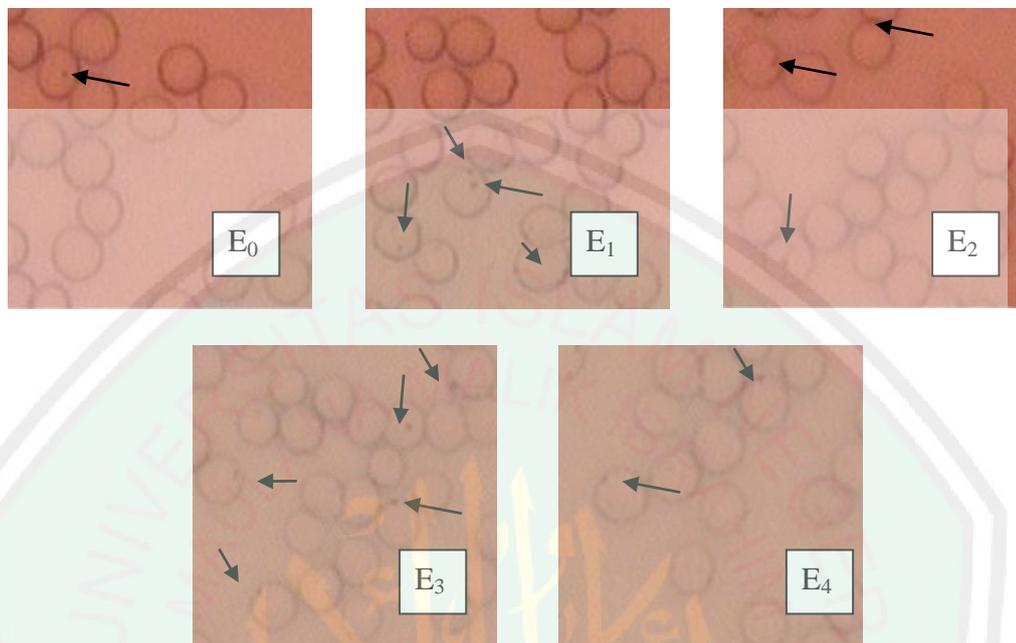


Gambar 4.11 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid III pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 (D₀), hari ke-1 (D₁), hari ke-2 (D₂), hari ke-3 (D₃) dan hari ke-4 (D₄). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.11 terlihat terdapat peningkatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* yang ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit terinfeksi *Plasmodium berghei* berturut-turut pada hari ke-1 (D₁), hari ke-2 (D₂), hari ke-3 (D₃) dan hari ke-3 (D₄) dengan rerata derajat parasitemia sebesar 19,0 %, 20,4 %, 22,2 %, dan 24,2 % yang ditandai dengan masih adanya skizon dan trophozoit bentuk cincin yang ditunjukkan dengan tanda panah. Sedangkan hari sebelum terapi (C₀) didapatkan rata-rata derajat parasitemia sebesar 9,1 %, terlihat adanya trophozoit bentuk cincin yang ditunjukkan dengan tanda panah.

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi Isolat Alkaloid IV disajikan pada Gambar 4.12 di bawah ini.

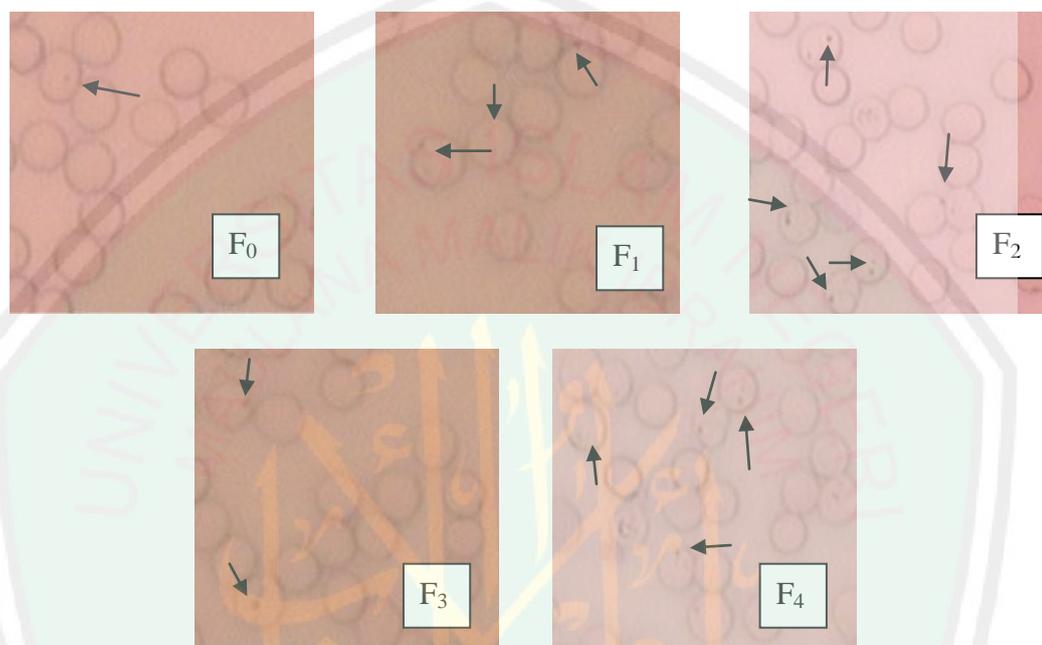


Gambar 4.12 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid IV pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis menciit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 (E_0), hari ke-1 (E_1), hari ke-2 (E_2), hari ke-3 (E_3) dan hari ke-4 (E_4). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.12 terlihat terdapat penghambatan *Plasmodium berghei* dibandingkan kontrol positif yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit terinfeksi pada hari ke-2 dan ke-4 pasca terapi. Pada hari ke-1 pasca terapi didapat rata-rata derajat parasitemia sebesar 12,7 %, terlihat adanya skizon dan tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah. Terjadi penurunan rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-2 (E_2) pasca terapi sebesar 11,5 %, yang ditandai dengan berkurangnya skizon dan tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah. Rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-3 (E_3) meningkat menjadi 12,8 % dan terjadi penurunan lagi pada hari ke-4 (E_4) yakni sebesar 9,3 %.

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi Isolat Alkaloid V disajikan pada Gambar 4.13 di bawah ini.

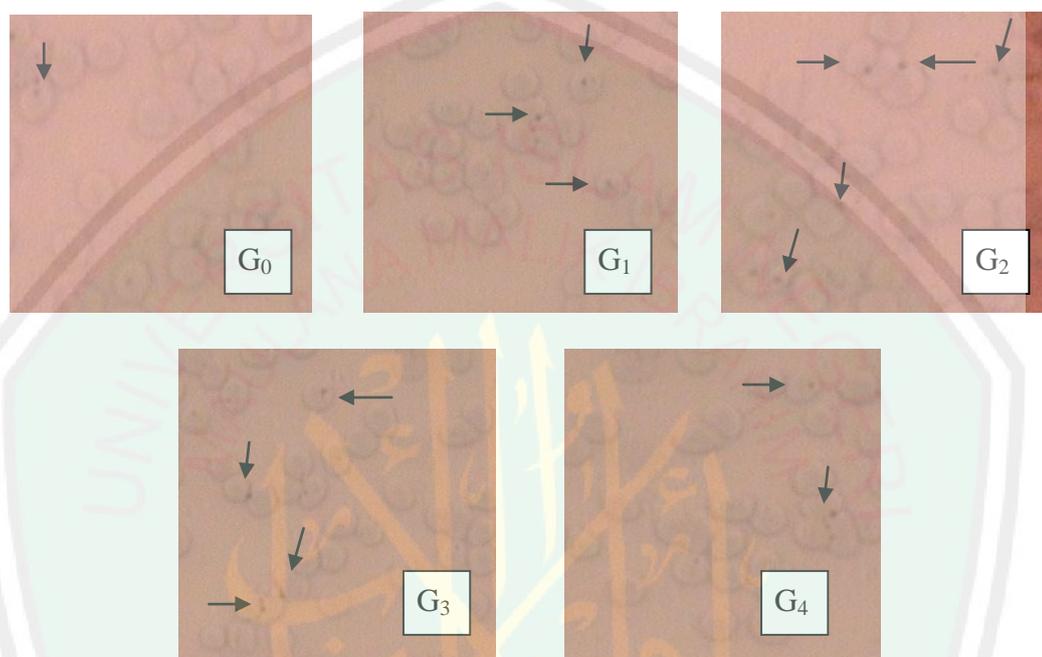


Gambar 4.13 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid V pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 (F₀), hari ke-1 (F₁), hari ke-2 (F₂), hari ke-3 (F₃) dan hari ke-4 (F₄). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.13 terlihat terdapat penghambatan *Plasmodium berghei* yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit terinfeksi pada hari ke-3 pasca terapi. Pada hari ke-1, ke-2, dan ke-3 pasca terjadi peningkatan nilai rerata derajat parasitemia yang ditunjukkan dengan peningkatan jumlah eritrosit yakni sebesar 13,4 %, 14,6 % dan 14,1 % yang ditandai dengan lebih banyaknya tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah daripada F₀ dan F₃.

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi Isolat Alkaloid VI disajikan pada Gambar 4.14 di bawah ini.



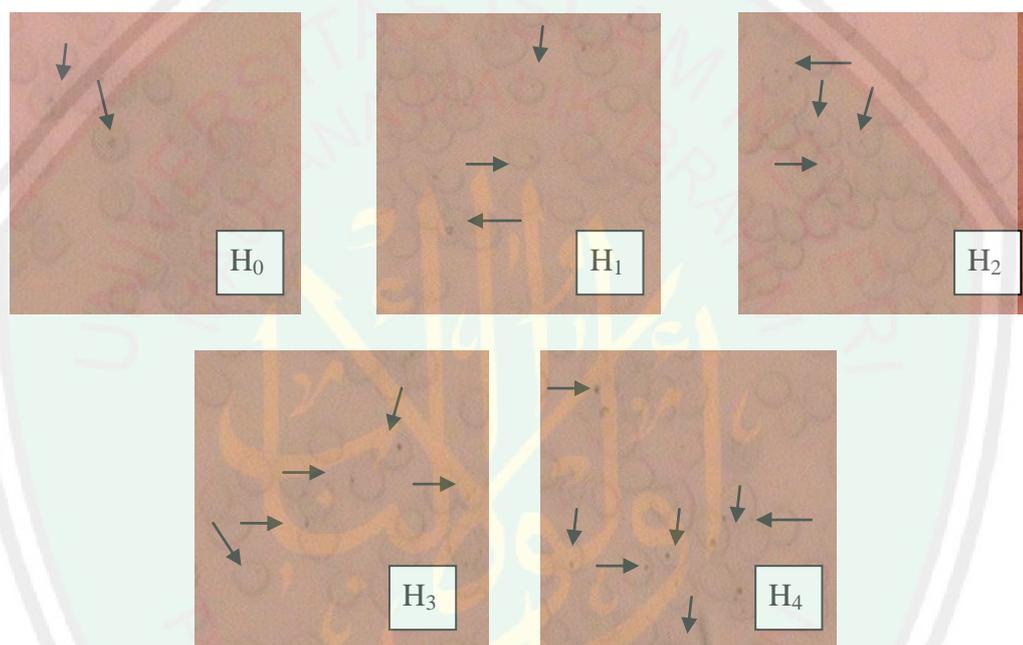
Gambar 4.14 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid VI pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 sebelum terapi (G_0), hari ke-1 pasca terapi (G_1), hari ke-2 pasca terapi (G_2), hari ke-3 pasca terapi (G_3) dan hari ke-4 pasca terapi (G_4). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.14 terlihat terdapat penghambatan *Plasmodium berghei* dibandingkan kontrol positif yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit terinfeksi pada hari ke-3 dan ke-4 pasca terapi. Pada hari ke-2 pasca terapi didapat rata-rata derajat parasitemia sebesar 12,7 %, terlihat adanya skizon dan tropozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah. Terjadi penurunan rata-rata derajat parasitemia pada hari ke-3 (G_3) pasca terapi sebesar 12,1 % dan hari ke-4

(G₃) pasca terapi sebesar 10,4 %, yang ditandai dengan berkurangnya skizon dan trofozoid bentuk cincin yang ditunjukkan oleh tanda panah dari pada G₂.

Hasil pengamatan hapusan darah perlakuan terapi Isolat Alkaloid VII disajikan pada Gambar 4.15 di bawah ini.



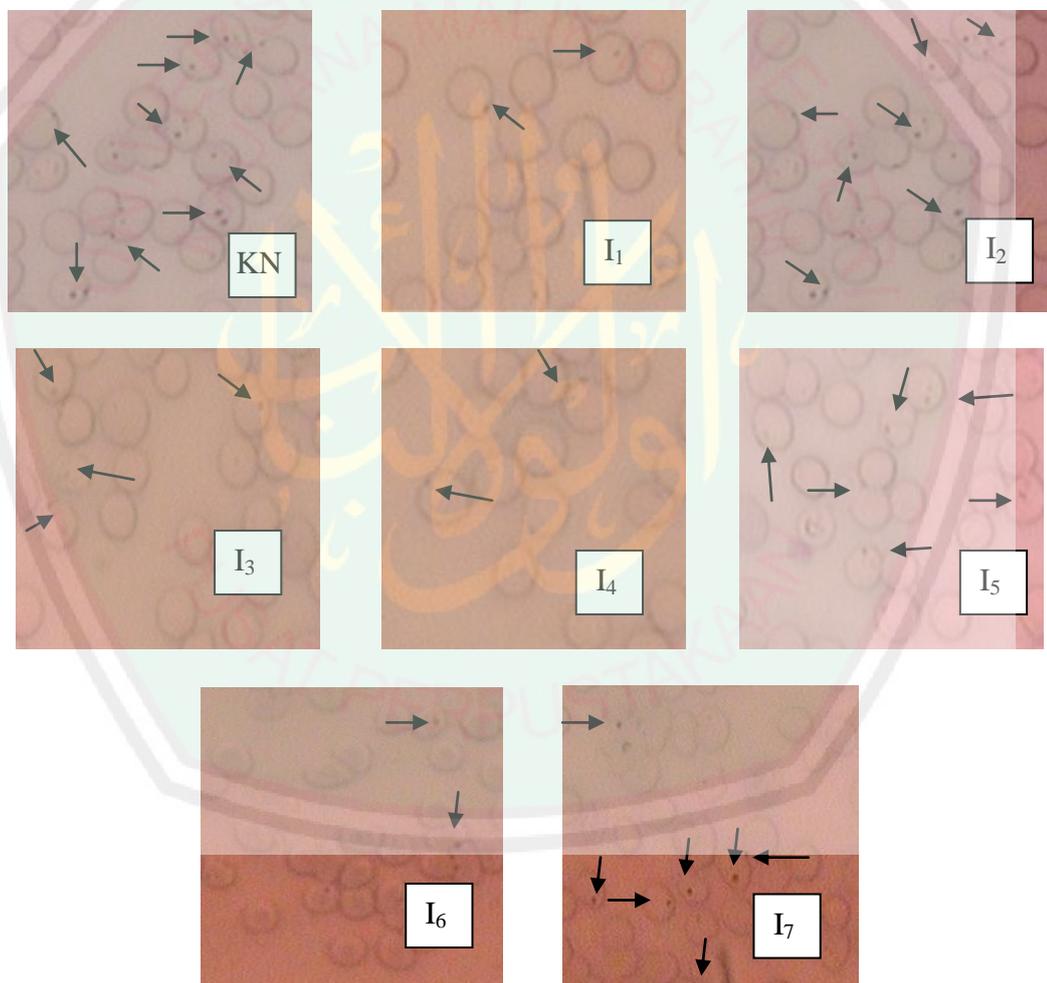
Gambar 4.15 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok perlakuan terapi Isolat Alkaloid VII pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa tanpa terapi hari ke-0 sebelum terapi (H₀), hari ke-1 pasca terapi (H₁), hari ke-2 pasca terapi (H₂), hari ke-3 pasca terapi (H₃) dan hari ke-4 pasca terapi (H₄). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x.

Gambar 4.15 terlihat terdapat peningkatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* yang ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit terinfeksi *Plasmodium berghei* berturut-turut pada hari ke-1 (H₁), hari ke-2 (H₂), hari ke-3 (H₃) dan hari ke-4 (H₄) dengan rata-rata derajat parasitemia sebesar 12,3 %, 15,3 %, 18,5 %, dan 25,6 % yang ditandai dengan masih adanya skizon dan trofozoit bentuk

cincin yang ditunjukkan dengan tanda panah. Sedangkan hari sebelum terapi (H_0) didapatkan rata-rata derajat parasitemia sebesar 9,2 %, terlihat adanya tropozoit bentuk cincin yang ditunjukkan dengan tanda panah.

Hasil pengamatan hapusan darah perbandingan ketujuh isolat pada hari ke-4 disajikan pada Gambar 4.16 di bawah ini.



Gambar 4.16 Gambaran eritrosit terinfeksi kontrol negatif dan ketujuh kelompok perlakuan pada hari ke-4

Keterangan: Hapusan darah tipis mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pengecatan Giemsa pada hari ke-4 pasca terapi (H_4). Gambar pada mikroskop perbesaran 1000x

Tabel 4.16 menunjukkan bahwa pada hari ke-4 pada isolat 4 dan isolat 6 memiliki hasil rata-rata derajat parasitemia yang lebih rendah daripada kelompok kontrol positif yang ditandai dengan lebih sedikitnya skizon dan tropozoit bentuk cincin isolat 4 dan isolat 6 daripada skizon dan tropozoit bentuk cincin kelompok kontrol positif yang ditunjukkan dengan tanda panah.

Berdasarkan nilai rata-rata derajat parasitemia pada isolat alkaloid menunjukkan bahwa isolat alkaloid tanaman Anting-anting memiliki potensi antimalaria yang lebih rendah dalam menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium berghei* dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak kasar alkaloid dan ekstrak kasar tanaman Anting-anting yang ditandai dengan nilai rata-rata derajat parasitemia beberapa isolat alkaloid yang lebih tinggi daripada nilai rata-rata derajat parasitemia kontrol klorokuin. Hal ini diduga bahwa senyawa alkaloid bekerja secara sinergis dengan senyawa lain yang terdapat pada ekstrak kasar. Selain itu, beberapa kandungan senyawa kimia pada ekstrak kasar mempunyai sifat fisika, kimia dan bioaktivitas yang berbeda. Sifat kandungan senyawa aktif tersebut sangat berpengaruh terhadap efek penghambatan parasit malaria.

Dalam kondisi yang hampir sama, yakni pada hari ke-0 nilai rerata derajat parasitemia kelompok perlakuan sebesar 6,5 %-8,7 % Kusumarini (2013) menyatakan bahwa ekstrak kasar etil asetat memiliki potensi yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium berghei* dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak kasar alkaloid yang ditandai dengan pada hari ke-4 nilai rata-rata derajat parasitemia ekstrak kasar alkaloid yang memiliki

nilai rata-rata derajat parasitemia sebesar 7,20 % lebih tinggi daripada nilai rata-rata derajat parasitemia ekstrak kasar etil asetat yang memiliki nilai rata-rata derajat parasitemia sebesar 4,00 %.

Persentase penghambatan isolat alkaloid tanaman Anting-anting terhadap *Plasmodium berghei* diperoleh melalui rumus berikut ini:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\% \text{ Derajat parasitemia kontrol negatif} - \% \text{ derajat parasitemia obat}}{\% \text{ Derajat parasitemia kontrol negatif}} \times 100 \%$$

“Derajat parasitemia kontrol negatif” diperoleh dari rata-rata derajat parasitemia kelompok perlakuan yang diinfeksi *Plasmodium berghei* tanpa perlakuan terapi isolat alkaloid tanaman Anting-anting. “Derajat parasitemia obat” diperoleh dari derajat parasitemia kelompok perlakuan yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi isolat alkaloid tanaman Anting-anting. Suatu ekstrak/isolat memiliki potensi antimalaria yang baik jika nilai persen penghambatan terhadap *Plasmodium berghei* sebesar atau mendekati 100 %.

Hasil perhitungan persentase penghambatan pertumbuhan parasit rata-rata isolat alkaloid tanaman Anting-anting pada hari ke-4 pasca terapi disajikan dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Persen penghambatan pertumbuhan parasit rata-rata isolat alkaloid tanaman Anting-anting hari ke-4

Kelompok Perlakuan	Persen penghambatan pertumbuhan parasit
Isolat 4	21,2 %
Isolat 6	11,9 %

Efek penghambatan dapat diketahui dari hasil analisis statistika data derajat parasitemia menggunakan program SPSS 16.00 dengan Uji *One Way* ANOVA. Uji *One Way* ANOVA digunakan untuk mengetahui signifikansi rata-rata derajat parasitemia perlakuan terhadap kontrol. Selanjutnya untuk mengetahui signifikansi perbedaan tiap-tiap kelompok perlakuan dilakukan Uji Tukey.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata derajat parasitemia antar perlakuan pada masing-masing hari (hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4) digunakan uji perbandingan berganda Tukey seperti yang disajikan pada Tabel 4.5 di bawah ini dengan hasil analisis disajikan pada Lampiran 15.2.

Tabel 4.5 Hasil uji Tukey derajat parasitemia hari ke-4

Kelompok Perlakuan	Dibandingkan dengan kelompok perlakuan	Nilai p	Makna
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 1	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 2	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 3	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 4	0,192	Tidak ada perbedaan
	Isolat 5	0,266	Tidak ada perbedaan
	Isolat 6	0,864	Tidak ada perbedaan
Kontrol positif	Isolat 7	0,000	Ada perbedaan
	Kontrol negatif	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 1	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 2	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 3	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 4	0,000	Ada perbedaan
	Isolat 5	0,000	Ada perbedaan
Isolat 6	0,000	Ada perbedaan	
Isolat 7	0,000	Ada perbedaan	

Keterangan:

p adalah signifikansi, jika $p < 0,01$ artinya ada perbedaan; $p > 0,01$ artinya tidak ada perbedaan

Kontrol negatif : infeksi *P. berghei* tanpa terapi

Kontrol positif : pemberian Klorokuin 5,71 mg/kg BB

- Isolat 1 : pemberian terapi isolat 1 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari
- Isolat 2 : pemberian terapi isolat 2 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari
- Isolat 3 : pemberian terapi isolat 3 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari
- Isolat 4 : pemberian terapi isolat 4 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari
- Isolat 5 : pemberian terapi isolat 5 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari
- Isolat 6 : pemberian terapi isolat 6 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari
- Isolat 7 : pemberian terapi isolat 7 alkaloid metanol anting-anting sebanyak 5 ml sekali sehari

Analisis statistika dilakukan pada isolat yang memiliki penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* dan pada isolat yang tidak memiliki penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Berdasarkan Tabel 4.6 hasil analisis statistika kelompok kontrol negatif dibandingkan kelompok perlakuan kontrol positif, Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3 dan Isolat 7 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$). Hal tersebut menunjukkan bahwa kontrol positif dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* sangat baik. Sedangkan pada perbandingan antara kontrol negatif dengan Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3 dan Isolat 7 memiliki perbedaan yang menunjukkan bahwa Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3 dan Isolat 7 dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* lebih buruk daripada kontrol negatif.

Untuk hasil analisis statistika kelompok kontrol negatif dibandingkan kelompok perlakuan Isolat 4, Isolat 5 dan Isolat 6 menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p > 0,01$). Hal ini secara statistika menunjukkan bahwa kelompok Isolat 4, Isolat 5 dan Isolat 6 dapat menghambat pertumbuhan

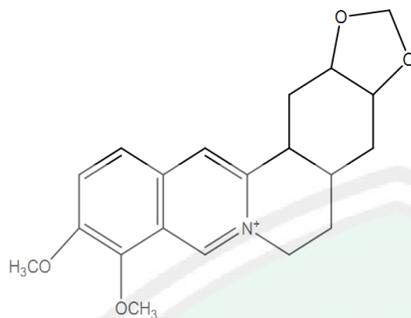
Plasmodium berghei akan tetapi penghambatan yang didapatkan tidak terlalu besar.

Untuk hasil analisis statistika kelompok Klorokuin (kontrol positif) dibandingkan kelompok perlakuan kontrol negatif, Isolat 1, Isolat 2, Isolat 3, Isolat 4, Isolat 5, Isolat 6 dan Isolat 7 menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,01$) untuk perlakuan 1, Isolat 2, Isolat 3, Isolat 4, Isolat 5, Isolat 6 dan Isolat 7 terhadap Klorokuin. Hal ini menunjukkan penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* yang dihasilkan oleh kelompok Klorokuin adalah lebih baik dibandingkan dengan penghambatan pertumbuhan *P. berghei* yang dihasilkan oleh perlakuan 1, Isolat 2, Isolat 3, Isolat 4, Isolat 5, Isolat 6 dan Isolat 7.

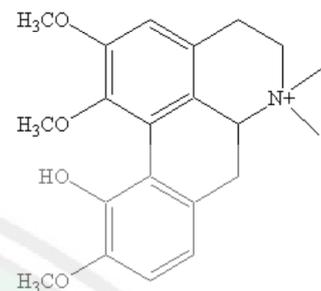
4.6 Dugaan Mekanisme Penghambatan Parasit Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.)

Penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada penelitian ini diduga karena isolat senyawa alkaloid Anting-anting mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan parasit yaitu kandungan senyawa golongan alkaloid (*berberin*, *menisperin*) (Husna, 2011).

Struktur *berberin* dan *menisperin* ditunjukkan pada Gambar 4.17 dan Gambar 4.18 (Li, Zhang, Zhang, Xu, Liu, 2010):



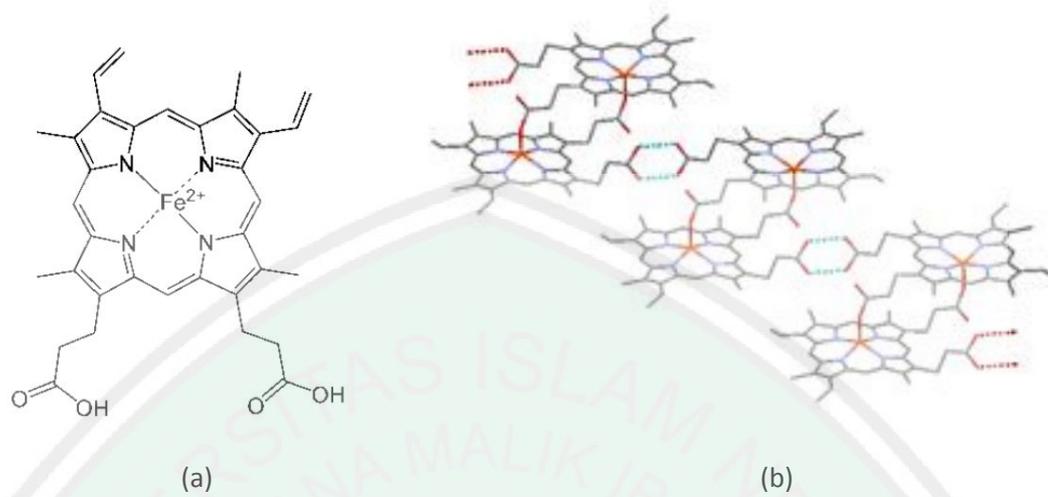
Gambar 4.17 Struktur berberine



Gambar 4.18 Struktur Menisperin

Senyawa golongan alkaloid *berberin* (alkaloid kuartener) merupakan struktur senyawa yang mengandung nitrogen kuartener yang telah diketahui dapat menghambat pertumbuhan parasit dengan cara menghalangi pertumbuhan parasit melalui transport intraseluler kolin. Senyawa kolin diperlukan untuk biosintesis fosfolipid dalam pembentukan membran parasit untuk menutup dan melindungi *parasitophorus vacuola*, sitosol dan berbagai *subcellular compartemet* (Rosenthal, 2003 dalam Muti'ah, 2012).

Menisperin ($C_{21}H_{26}NO_4$) dan berberin merupakan senyawa alkaloid golongan quinolin. Klorokuin juga digolongkan ke dalam senyawa quinolin. Struktur inti quinolin memiliki 2 cincin karbon dengan 1 atom nitrogen. Quinolin telah diketahui memiliki potensi sebagai antimalaria dengan mekanisme kerja pada vakuola makanan parasit yaitu heme *polymerase* sehingga hemozoin tidak terbentuk dan parasit akan mati (Rosenthal, 2003 dalam Muti'ah, 2010).

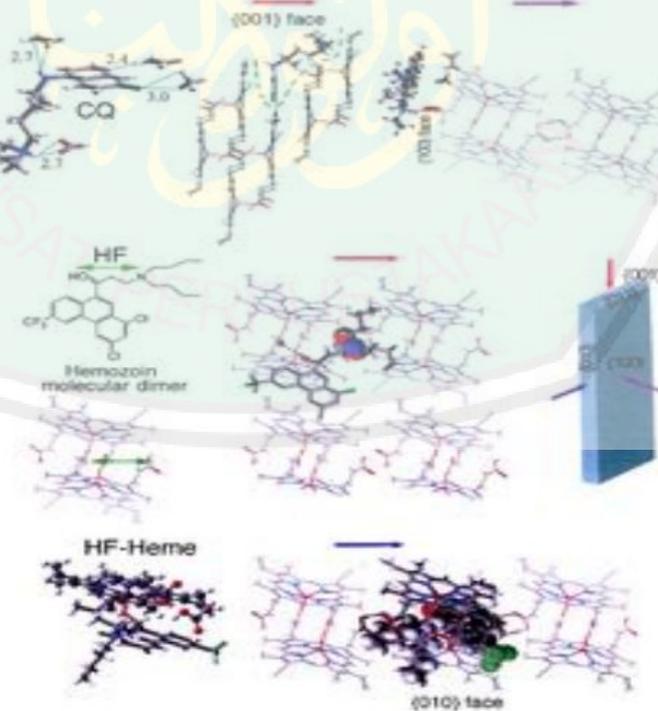


Gambar 4.19 Struktur heme dan struktur hemozoin

Keterangan:

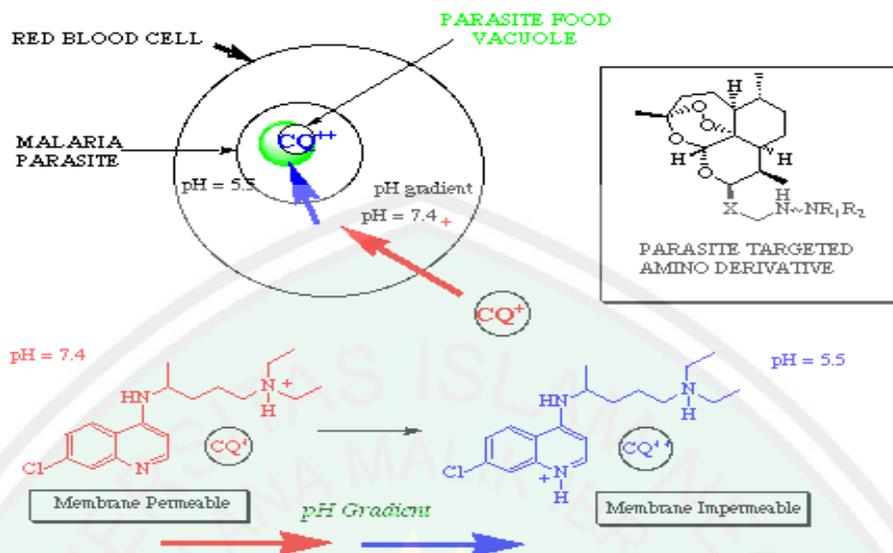
(a) Heme

(b) Hemozoin. Menunjukkan adanya ikatan hemaatin yang ditunjukkan oleh garis putus-putus dan ikatan koordinasi antara atom besi dengan karboksilat pada garis berwarna merah



Gambar 4.20 Senyawa obat berikatan dengan hemozoin

Untuk kelangsungan hidup *P. Falciparum* memerlukan zat makanan yang diperoleh dengan cara mencerna hemoglobin dan vakuola makanan yang bersifat asam. Hemoglobin yang dicerna selain menghasilkan asam amino yang menjadi nutrisi bagi parasit, juga menghasilkan zat toksik yang disebut ferritytoporphyrin (FP IX). Berberin, menisperin, klorokuin dan antimalaria yang memiliki struktur dasar quinolin membentuk kompleks dengan FP IX dalam vakuola makanan. Kompleks obat-FP IX tersebut sangat toksik sehingga dapat meracuni vakuola menghambat ambilan (*intake*) makanan sehingga parasit mati kelaparan. Kompleks senyawa aktif-FP IX juga mengganggu permeabilitas membran parasit dan pompa proton membran. Senyawa aktif antimalaria alkaloid (menisperin dan berberin) serta klorokuin juga bersifat basa lemah sehingga masuknya Klorokuin ke dalam vakuola makanan yang bersifat asam akan meningkatkan pH organel tersebut. Perubahan pH akan menghambat aktivitas aspartase dan cysteinase protease yang terdapat di dalam vakuola makanan sehingga metabolisme parasit terganggu (Fitch, 1986 dalam Syamsudin, 2005).



Gambar 4.21 Mekanisme aksi Klorokuin dalam menghambat parasit malaria (Okpako, 1991 dalam Syamsudin, 2005)

4.7 Pemanfaatan Tumbuhan Berkhasiat Obat dalam Perspektif Islam

Keberadaan berbagai penyakit termasuk sunnah kauniyyah yang diciptakan oleh Allah SWT. Penyakit-penyakit itu merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan Allah SWT kepada hamba-Nya. Termasuk keutamaan Allah SWT yang diberikan kepada kaum mukminin, Dia menjadikan sakit yang menimpa seorang mukmin sebagai penghapus dosa dan dalam rangka meningkatkan derajat seorang hamba. Selain menurunkan penyakit, Allah SWT pun menurunkan obat bersama penyakit itu. Obat itupun menjadi rahmat dan keutamaan dari Allah untuk hamba-hamba-Nya, baik yang mukmin maupun yang kafir.

Rasulullah SAW bersabda,

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya:

“Setiap penyakit ada obatnya maka bila ditemukan dengan tepat obat suatu penyakit, niscaya akan sembuh dengan izin Allah Azza wa Jalla.” (HR. Muslim).

Hadits di atas menjelaskan bahwa Allah SWT yang memberikan penyakit sekaligus obatnya, sehingga bagi manusia harus berusaha mencari solusi atas masalah-masalah yang dihadapi dengan memanfaatkan segala sesuatu yang diciptakan di bumi ini.

Allah memerintahkan kepada kita untuk terus menerus mempelajari kandungan al Quran, menelaah keterangan dan tujuan dalam firman-Nya, sehingga kita bisa mendapatkan kejelasan ilmu pengetahuan dari-Nya dan kita mendapat petunjuk untuk menentukan langkah-langkah penelitian dan tujuannya. Banyak ayat al Qur'an yang mengajak manusia untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan agar mendapat manfaat yang lebih banyak.

Allah berfirman dalam surat asy Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

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

Artinya :

“dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”.

Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat

berbagai penyakit. Bahkan tumbuhan yang liar pun memiliki potensi dalam bidang farmakologi (Mahran dan Mubasyir, 2006). Salah satu tanaman obat yang berkhasiat untuk obat adalah *Acalypha indica* Linn atau lebih dikenal dengan nama tanaman Anting-anting.

Tanaman Anting-anting merupakan gulma yang sangat umum ditemukan tumbuh liar di pinggir jalan, lapangan rumput maupun di lereng gunung. Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) adalah sejenis herba yang menghasilkan senyawa kimia yang berguna dalam pengobatan, diantaranya mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, acalyphin dan minyak atsiri yang salah satu fungsinya sebagai antimalaria (Kartika, 2009). Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian uji aktivitas antimalaria tanaman Anting-anting yang memiliki potensi yang sangat bagus dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* dengan persentase penghambatan antara 85% hingga 87 % (Husna, 2012).

Namun tentunya, berkaitan dengan kesembuhan suatu penyakit, seorang hamba tidak boleh bersandar semata dengan pengobatan tertentu serta tidak boleh meyakini bahwa obatlah yang menyembuhkan sakitnya. Namun seharusnya ia bersandar dan bergantung kepada Dzat yang memberikan penyakit dan menurunkan obatnya sekaligus, yakni Allah SWT. Seorang hamba hendaknya selalu bersandar kepada-Nya dalam segala keadaannya. Hendaknya ia selalu berdoa memohon kepada-Nya agar menghilangkan segala kemudharatan yang tengah menyimpannya.

Sungguh tidak ada yang dapat memberikan kesembuhan kecuali Allah SWT semata. Karena itulah, Nabi Ibrahim as berkata memuji Rabbnya:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya:

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku” (asy Syu'ara` : 80).

Shihab (2002) menjelaskan bahwa kata *وَإِذَا مَرَضْتُ* (*wa idza maridhtu* /apabila aku sakit) berbeda dengan redaksi lainnya. Perbedaan pertama adalah penggunaan kata *idza/apabila* dan mengandung besarnya kemungkinan atau bahkan kepastian terjadinya apa yang dibicarakan, dalam hal ini adalah sakit. Ini mengisyaratkan bahwa sakit berat atau ringan, fisik atau mental merupakan suatu keniscayaan hidup manusia. Perbedaan kedua adalah redaksinya yang menyatakan “Apabila aku sakit” bukan “Apabila Allah menjadikan aku sakit”. Namun demikian, dalam hal penyembuhan-seperti juga dalam pemberian hidayah, makan dan minum- secara tegas beliau menyatakan bahwa yang melakukannya adalah Dia (Allah SWT).

Sedangkan kata *يَشْفِينِ* (*yasfiin/menyembuhkan*) didahului oleh kata *فَهُوَ* (*fa huwa/maka Dia*). Kata yang mendahuluinya berfungsi mengkhususkan apa yang diinformasikan itu, hanya kepada Dia semata-mata. Tidak selain-Nya, dalam arti hidayah, pemberian makan dan penyembuhan tidak dapat dilakukan kecuali Allah SWT. Ini perlu ditekankan, apalagi di hadapan mereka yang tidak mengakui keesaan Allah SWT. Di sisi lain penggunaan kata *mudhari'* (masa kini dan datang), pada ayat tersebut mengisyaratkan bahwa hal itu dilakukan Allah SWT berkesinambungan dan terjadi setiap saat.

Dengan demikian, terlihat jelas bahwa berbicara tentang nikmat adalah sesuatu yang terpuji maka sumbernya adalah Allah SWT, berbeda ketika berbicara dengan penyakit (sesuatu yang dapat dikatakan buruk) yang dinyatakan tidak bersumber dari Allah SWT, akan tetapi terlebih dahulu dicari penyebabnya pada diri sendiri. Perlu dicatat penyembuhan seperti apa yang diungkapkan nabi Ibrahim ini, bukan berarti usaha manusia untuk meraih kesembuhan tidak diperlukan lagi. Sekian banyak hadist Nabi Muhammad yang memerintahkan untuk berobat dan mencari obat.

Dalam Islam, telah ditekankan bahwa yang menyembuhkan semua penyakit adalah Allah SWT, akan tetapi hal tersebut dilakukan melalui proses-proses yang dilakukan manusia dengan cara mencari obat dan upaya. Salah satunya adalah penelitian manusia tentang alkaloid pada tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) yang digunakan sebagai obat antimalaria.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Eluen yang paling baik dalam pemisahan ekstrak kasar alkaloid dari tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) analitik adalah eluen kloroform:metanol dengan perbandingan (9,5:0,5) (v/v) dengan jumlah noda sebanyak 7 spot dan nilai range Rf sebesar 0,21-0,92.
2. Penghambatan pertumbuhan parasit *Plasmodium berghei* seluruh kelompok perlakuan isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) lebih rendah daripada penghambatan pertumbuhan parasit *Plasmodium berghei* kelompok kontrol negatif. Kecuali pada kelompok perlakuan isolat alkaloid 4 dan 6 yang memiliki persen penghambatan parasit berturut-turut sebesar 21,2 % (b/b) dan 11,9 % (b/b).

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan uji aktivitas antimalaria isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dengan dosis yang lebih tinggi, untuk menghasilkan persen penghambatan parasit yang lebih baik.
- b. Perlu dilakukan pemisahan dan pemurnian ke tahapan selanjutnya, misalnya dengan KLT dua dimensi dilanjutkan dengan kromatografi kolom sehingga didapatkan isolat yang lebih murni.

- c. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut pada isolat alkaloid tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) sehingga bisa ditentukan jenis senyawa alkaloid pada tanaman tersebut yang mempunyai aktivitas farmakologi dengan metode spektrofotometer UV Vis, FTIR serta MS dan NMR.



DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, R. D., 2009. Aktivitas Antiplasmodium Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Secara *In Vivo*. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Afriardhini, K. 2004. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ubur-Ubur (*Bougainvillia sp.*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.
- Ahmad, M. M. 2006. Anti Inflammatory Aetivities of *Nigella Sativa* Linn. (kalogi, black seed), (online), (<http://lailanurhayati.Multiply.com/jurnal>) (diunduh pada tanggal 29 Juni 2012).
- Anonymous. 2008. Identifikasi Senyawa Isoflavon Pada Limbah Cair Tahu, <http://tahujegrot.blogspot.com>. Diakses tanggal 28 September 2011.
- _____. 2009. Alkaloid. <http://nadeeb.files.wordpress.com/2009/03/alkaloid.pdf>. Diakses tanggal 24 Februari 2012.
- Arisandi, Y. dan Andriani, Y. 2008. *Khasiat Tanaman Obat*. Jakarta: Pustaka Buku Murah.
- Baeti, D. N. 2010. Efek Terapi Kombinasi Klorokuin dan Serbuk *Lumbricus rubellus* Terhadap Ekspresi Gen Icam-1 pada Mencit Swiss yang Diinfeksi *Plasmodium berghei* Anka. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Coutrier, Farah. 2008. *Propagasi Malaria in vivo Penggunaan Hewan Coba dalam Penelitian Malaria*. Jakarta: Pelatihan Propagasi Malaria-Lembaga Biologi Molekul Eijkman.
- Cholis, I.N. 2009. Aktivitas Antiplasmodium Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) terhadap *Plasmodium berghei* Secara *In Vivo*. *Skripsi* Ditebitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi UNMUH.
- Darwis, A. 2000. Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Bahan Hayati. Workshop Pengembangan SDA Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. Padang: Fak MIPA. Universitas Andalas Padang.

- Djarwis, D. 2004. Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta.
- Evans. 2009. Pharmacopoeial and Related Drugs of Biological Origin-Alkaloids. http://www.us.elsevierhealth.com/media/us/samplechapters/9780702029332/9780702029332_2.pdf. Diakses tanggal 2 Januari 2012.
- Fauziah, L. 2010. *Isolasi Glikosida Flavonoid Dari Daun Ketela Pohon (manihot utilissiima pohl)*. <http://miss-purplepharmacy.blogspot.com>. Diakses tanggal 20 Desember 2013.
- Felicia. 2004. Efek Neuroterapi Ekstrak Akar *Acalypha indica* L. Terhadap Katak Bufo Dosis 20 mg dan 25 mg. *Skripsi* Diterbitkan. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gritter, R. J. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Terjemahan Ketaren S. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Handani, 2010. Farmakognosi Alkaloid. <http://handani90anien.blogspot.com/>. Diakses tanggal 24 Februari 2012.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penj. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harijanto, P. N. 2007. Malaria. Dalam : *Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Keempat. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pp: 1732- 1744.
- Hasibuan, P. A. dan Marline A. 2007. Penentuan Sifat Kimia Fisika Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn). Fakultas Farmasi USU: Jurnal Penelitian MIPA. Vol 1, No 1.
- Hilou, A., Nacoulma, O.G., and Gwguemole, T.R. 2006. In Vitro Antimalarial Activities of Extracts *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erects* L. in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 103 (236-240).
- Husna, A. N. 2011. Uji Identifikasi dan Uji Efektifitas 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.
- Inayah, F. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- IPTEKnet. 2010. Anting-anting (*Acalypha australis* Linn.) Dalam : TanamanObat Indonesia.http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=. Diakses tanggal 29 September 2011.
- Kartesz, J. 2000. *Acalypha indica*. The Plants Database, database (version 5.1.1), National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. <http://plants.usda.gov>.(diunduh pada tanggal 30 April 2012).
- Kartika, R. P. T. 2009. Perbandingan Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Ekor Kucing (*Acalyphahispida* Brum F.) dan Daun Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *Naskah* Publikasi. Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan A. Saptorahardjo. Jakarta: UI Press.
- Kusumarini, R. 2013. Uji Efektivitas Antimalaria Senyawa Ekstrak Kasar Etil Asetat dan Ekstrak Kasar Alkaloid Tanaman Anting-anting ((*Acalypha indica* Linn.)) Secara *In Vivo* Pada Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Lenny, S. 2006. *Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp*. Medan: USU
- Li, Yubo, Zhang, Tiejun, Zhang, Xialon, Xu, Haiyo, Liu, Changxiao. 2010. Chemical Fingerprint Analysis of Phellodendri Amurensis Cortex by Ultra Performance LC/Q/-TOF-MS Methods Combined With Chemometrics. *Jurnal diterbitkan*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GMBH Co. KGaA.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara *In Vitro*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Mahrani, J. dan Mubasyir, A.A.H. 2006. *Al Quran Bertutur tentang Makanan dan Obat-obatan*. Yogyakarta: Mitra Pustaka.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.

- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda. Volume 1, No.1.
- Method in Malaria Research. 2008. *Pelatihan Propagasi Malaria*. Lembaga Biologi Eijkmen.
- Muhtadi. 2008. Pemisahan Fraksi dan Senyawa-Senyawa yang Berkhasiat Antiplasmodium dari Ekstrak Metanol Kulit Kayu Mimba (*Azadirachta indica* Juss). Surakarta: Fakultas Farmasi. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* Vol. 9, No. 2 Hal. 117-136.
- Muti'ah, R. 2010. Aktivitas Antimalaria Ekstrak Batang Talikuning (*Anamirta coccolus*) dan kombinasinya dengan Artemisin pada Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Tesis Tidak Diterbitkan. Malang: Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Nadia, Irma. 2012. Aktivitas Antimalaria Secara *In Vivo* dari Senyawa Triterpenoid Ekstrak Diklorometana Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dan Penentuan Identifikasinya Menggunakan Spektrofotomer Infra Merah dan Uv-Vis. *Skripsi* Diterbitkan. Malang: UIN.
- Nassel, F. M. 2008. *Isolasi Alkaloid Utama dari Tumbuhan Lerchea interrupta Korth*. Jambi: BPOM Hal 57-66.
- Ncokazi, K. K and Egan, T. J. 2005. A colorimetric high-throughput β -hematin inhibition screening assay for use in the search for antimalarial compounds, *Analytical Biochemistry* 338 : 306-319.
- Ndoen, E.M. 2006. *Penyakit Menular & Kualitas Lingkungan* . <http://kesehatanlingkungan.wordpress.com/penyakit-menular/malaria-pembunuh-terbesar-sepanjang-abad/>. Diakses tanggal 24 Februari 2012.
- Ocktarini, R. 2010 Pengaruh Ekstrak Herba Anting-anting (*Acalypha australis* L.) terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Balb/C Induksi Streptozotocin. *Skripsi* Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- O' Neill, Paul M., Barton, Victoria E., Ward, Stephen A. and Chadwick , James. 2012. *4-Aminoquinolines: Chloroquine, Amodiaquine and Next-Generation Analogues*.
- Phillipson J. D., and Wrigth CW., 1991. *Antiprotozoal Agents from Plant Souch*, *Planta Medica*, 57 (Supl.1), p.53-59.

- Pratiwi, M. H. dan Chairul. 2007. Uji Aktivitas Antimalaria Secara *In Vivo* Ekstrak Ki Pahit (*Picrasma javanica*) Pada Mencit Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. Bogor: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Vol 8, No 2 Hal: 111-113.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Prof . Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Saputra, 2011. Pengaruh Lingkungan Terhadap Nyamuk Anopheles pada Proses Transmisi Malaria. <http://uripsantoso.wordpress.com/2011/01/13/pengaruh-lingkungan-terhadap-nyamuk-anopheles-pada-proses-transmisi-malaria/>. Diakses tanggal 24 Februari 2012.
- Sardjono T. W., dan Fitri L. E. 2007. *Malaria, Mekanisme terjadinya Penyakit dan Pedoman Penanganannya*. Malang: Lab Parasit FKUB.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Septiningrum, K dan Maelita R. Moeis. 2009. Isolasi dan Karakterisasi Xilanase Dari *Bacillus circulans*. Bandung: ekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB. BS, Vol. 44, No. 1, Juni 2009 : 31- 40
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Simanjuntak, P., dan Bustanussalam. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Kuinolin dari Kelampayan *Anthocephalus chinensis* (Rubiaceae). Cibinong: Puslitbang Bioteknologi-LIPI Cibinong. Alchemy, Vol.4,No.1, Maret 2005: 61-67.
- Sirait, Median. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Soebagio, dkk. 2002. *Kimia Analitik II*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). *Skripsi* Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sudarmadji, S. 1996. *Teknik Analisis Biokimia*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B.Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudjaji. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suyoso, H. C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Penerjemah: Setiono, L. dan A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: PT Kalman Media Pusaka.
- Syamsudin. 2005. Mekanisme Kerja Obat Antimalaria. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 3(1): 37 – 40.
- Tobing, R. 1989. *Kimia Bahan Alam (Suatu Penelitian Kepustakaan)*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Voight, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandhi, Apt. Yogyakarta: UGM Press.
- Wei-Feng, D., L. Zhong-Wen dan S. Han-Dong. 1994. A New Compound from *Acalypha australis*, Laboratory of Phytochemistry. Kunming Institute of Botany. Kunming 650204: *Chiese Academy of Sciences*. 16 (4): 413-416.
- Widi, R. S. dan Titin I. 2007. Penjaringan dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava* Merr). Surabaya : Departemen Kimia FMIPA Universitas Surabaya dan Alumnus Jurusan Kimia FMIPA UGM. *Jurnal Ilmu Dasar* Vol. 8 No. I Hal 24-29.
- Widodo, N. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Skripsi* Diterbitkan. Semarang. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.
- Widyowati, dkk. 2003. Uji *In Vitro* Aktivitas Antimalaria Isolat Dari *Androgrphis paniculata* Terhadap *Plasmodium Falciparum* Pada Stadium Gametosit. *Jurnal Farmasi Universitas Airlangga, Vol.3 No.3*.
- Wijayakusuma, H. 2006. *Atasi Asam Urat dan Rematik Ala Hembing*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Wulandari, D. 2010. Pengaruh Terapi Kombinasi Klorokuin dan Serbuk *Lumbricus rubellus* Terhadap Ekspresi Gen TNF- α pada Mencit Swiss yang Diinfeksi *Plasmoodium berghei* ANKA. Surakarta. *Skripsi* Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Yustina. 2008. *Daya Antibakteri Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (Foeniculumvulgare mill) dan Kulit Batang Pulasari (Alyxia reinwardtii bl)*http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/yustina.pdf. (diunduh tanggal 01Desember 2012).
- Zahro, I. M. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak N-Heksana Tanaman Anting-anting (*Acalypha Indica* Linn) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

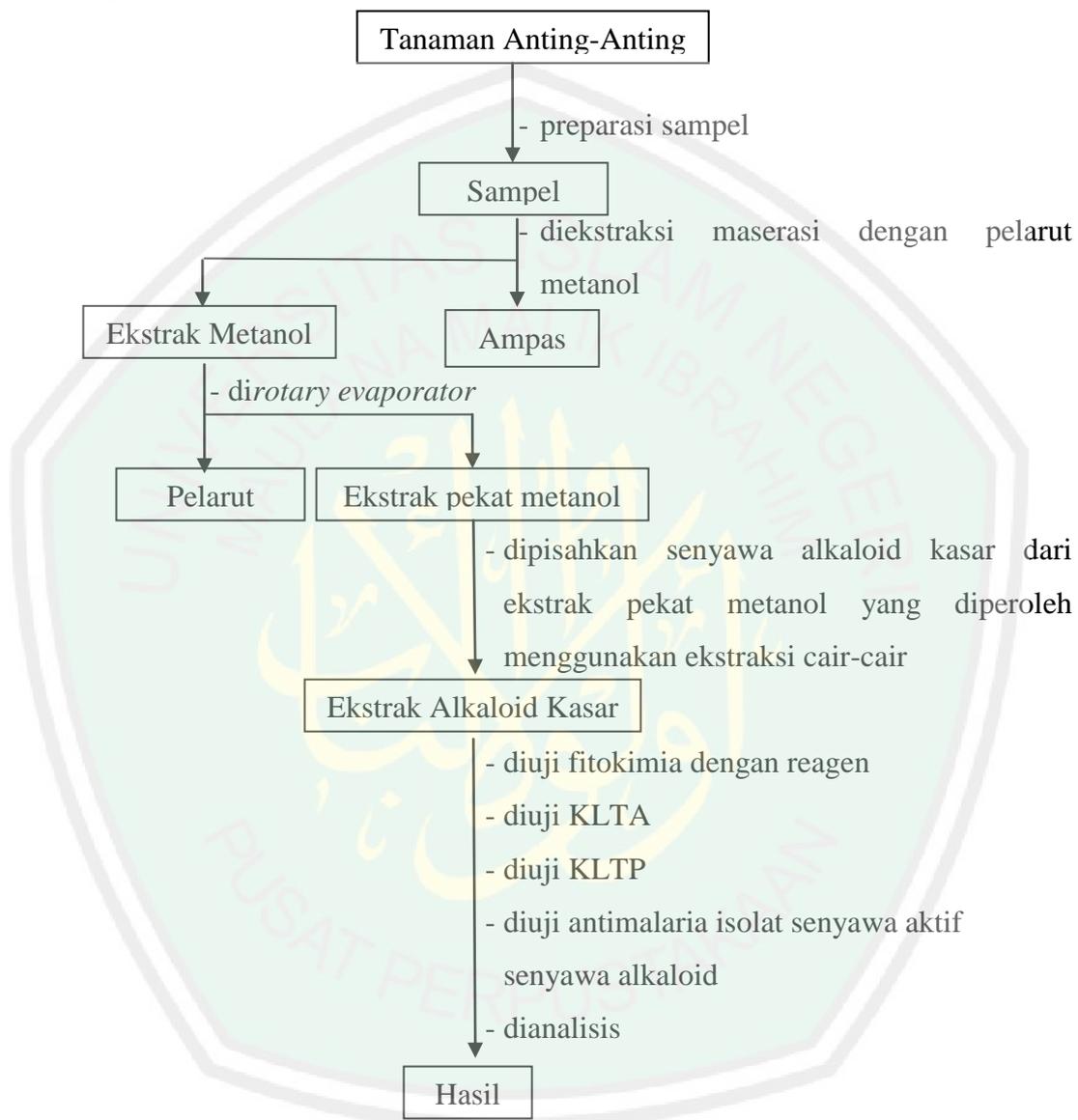
Zamrodi, M. 2011. Uji Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Zulkoni, A. 2010. *Parasitologi*. Yogyakarta: Nuha Medika.

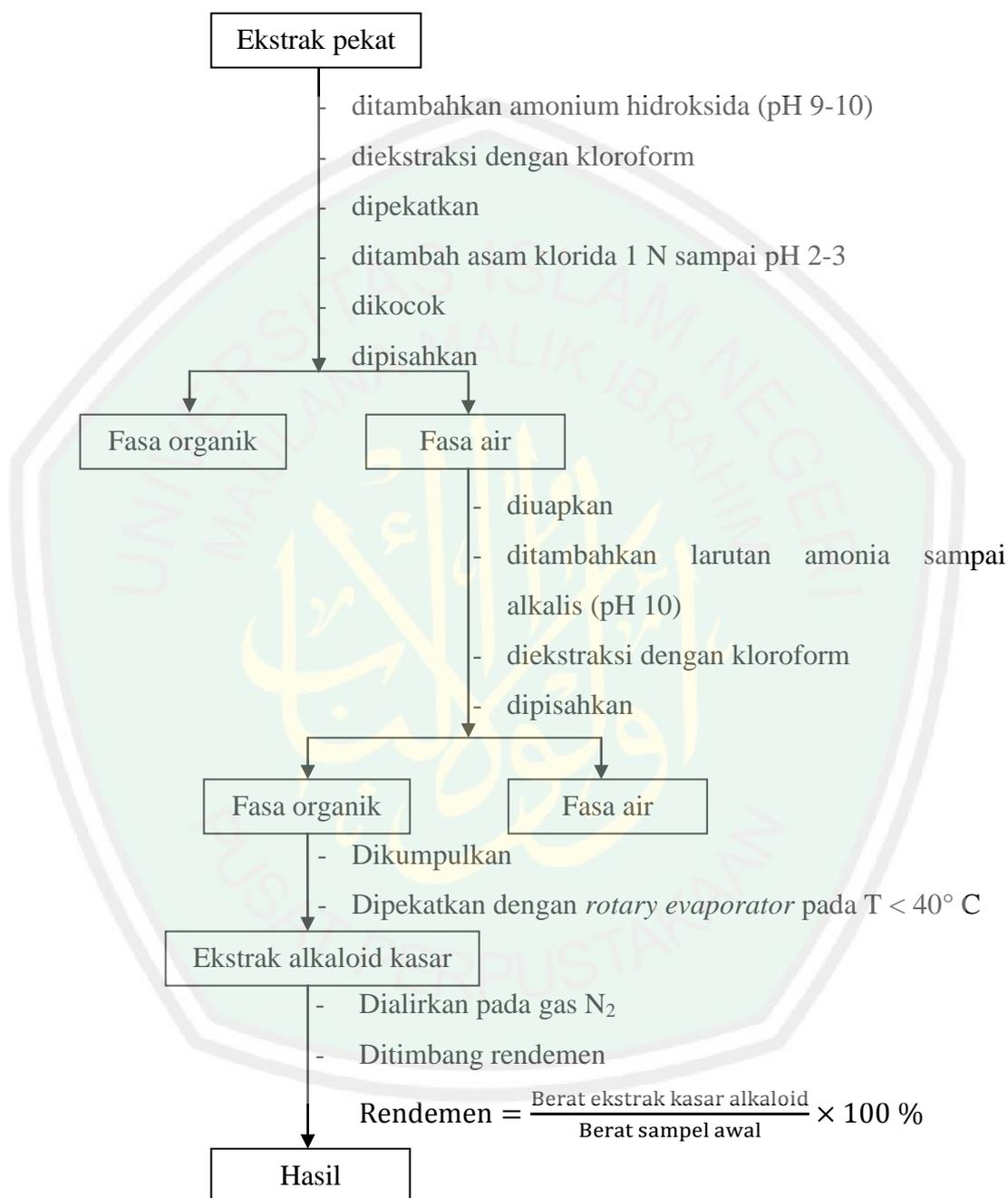


LAMPIRAN

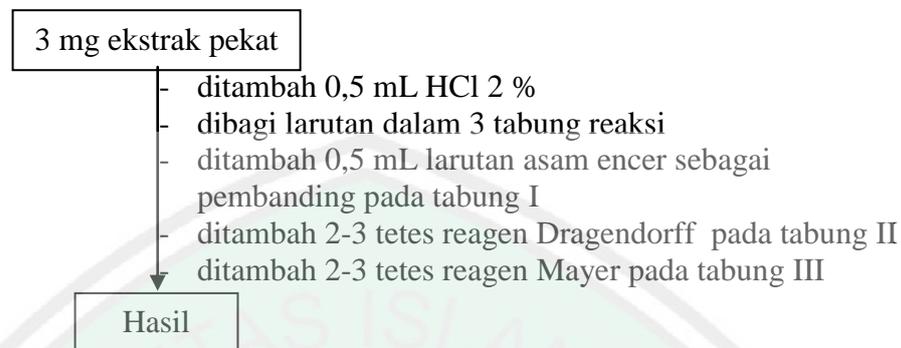
Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian



L.1.3 Ekstraksi Ekstrak Kasar Alkaloid dari Ekstrak Pekat Metanol



L.1.4 Uji Fitokimia Senyawa Kandungan Alkaloid

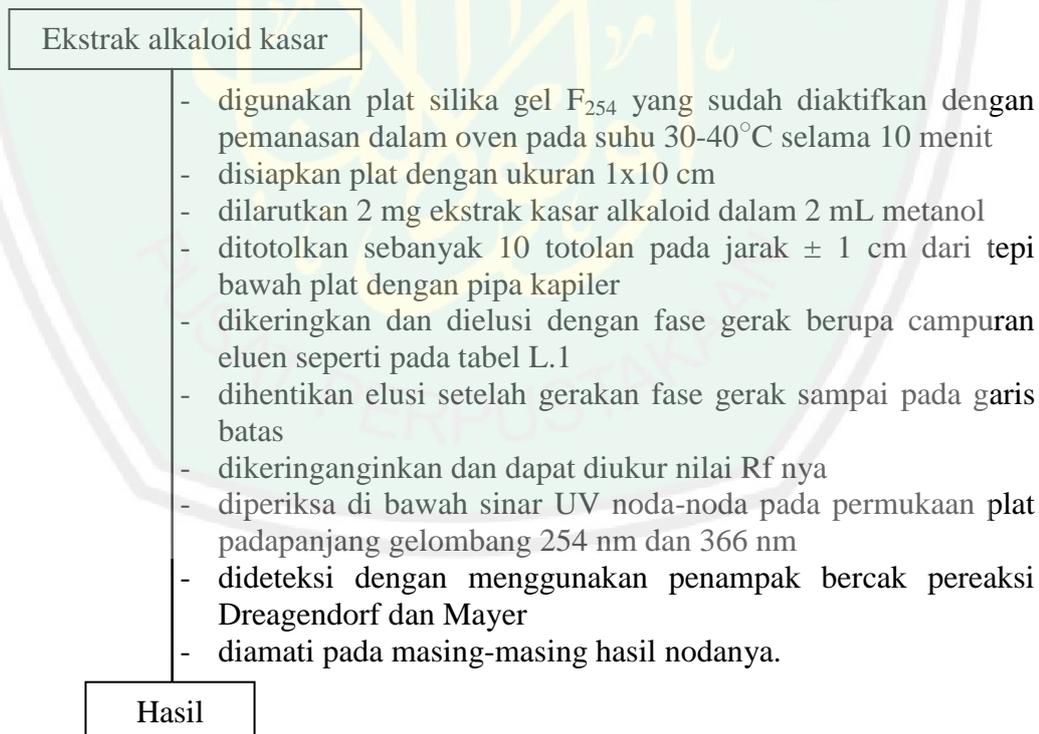


Keterangan:

Jika tabung dua terbentuk endapan jingga dan pada tabung tiga terbentuk endapan kekuningan menunjukkan adanya alkaloid.

L. 1.5 Pemisahan Senyawa Aktif Dengan Menggunakan KLT

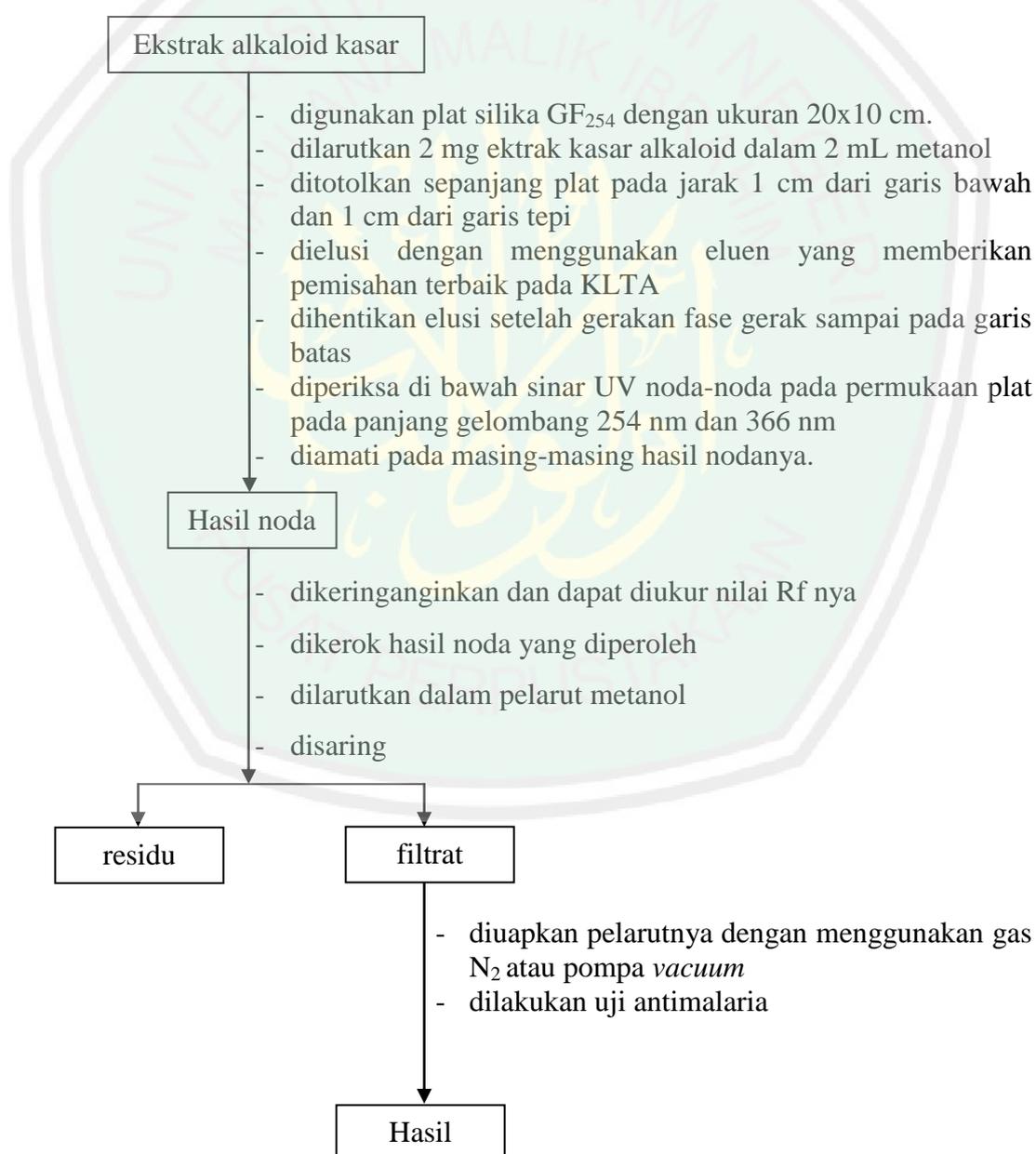
L.1.5.1 KLT Analitik (Indrayani, 2006)



Tabel L.1 Fase Gerak dan Perbandingannya

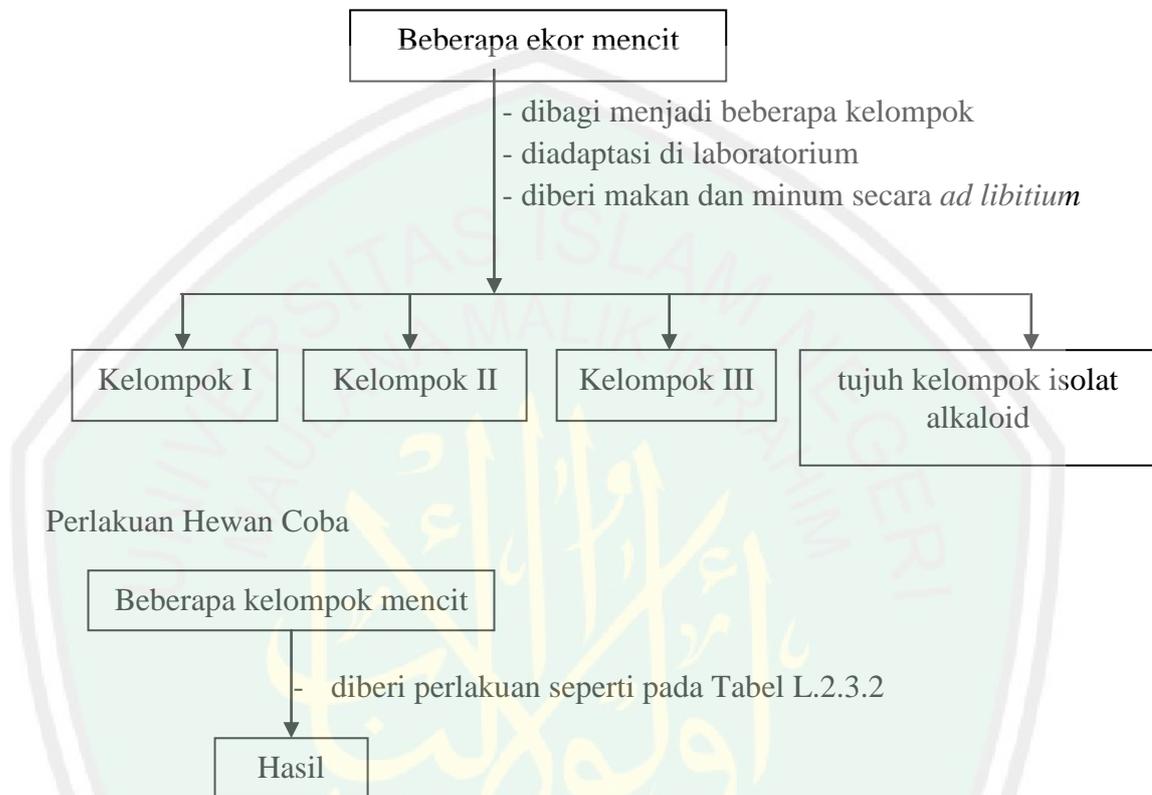
Campuran Eluen	Perbandingan
Kloroform: Metanol	9,5 : 0,5
Kloroform: Metanol : Amoniak	85: 15 : 1
Kloroform : Metanol	1: 4
etil asetat:metanol:air	6:4:2
Kloroform : Etil Asetat	8: 2

L.1.5.2 KLT Preparatif (Indrayani, 2006)



L.1.6 Uji Antimalaria

L.1.6.1.Persiapan Hewan Coba



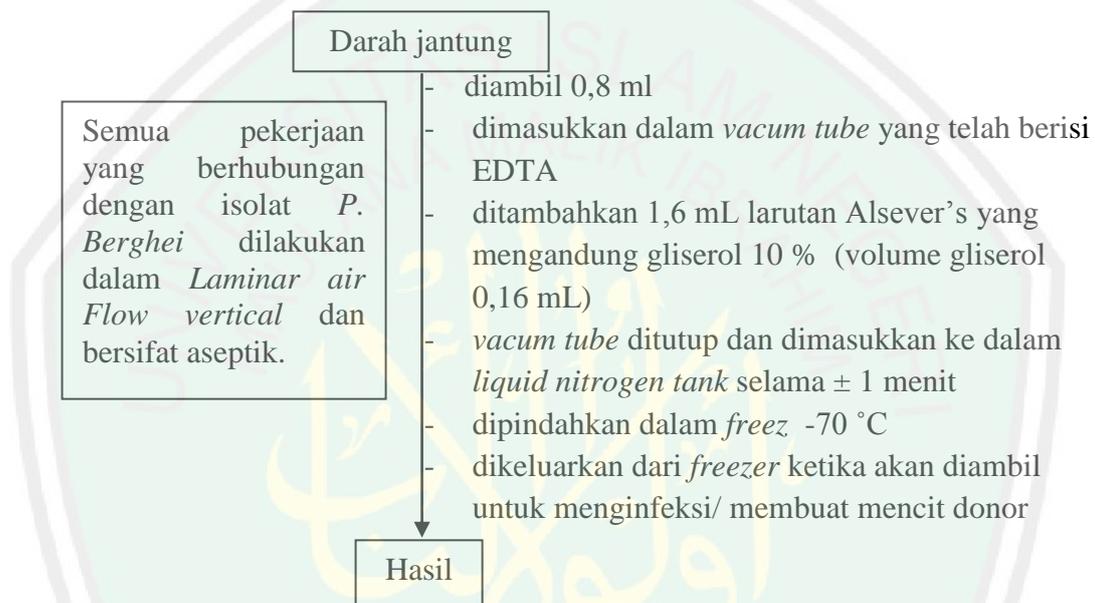
Tabel L.2.3.2 Perlakuan masing-masing kelompok

Kelompok	Perlakuan
Kelompok I (kontrol negatif)	Diberi pelarut CMC-Na 0,5 mL sekali sehari secara per-oral.
Kelompok II (kontrol positif)	Diinfeksi <i>P. Berghei</i>
Kelompok III	Terapi Klorokuin dosis 10 mg/ kg BB sekali sehari secara peroral.
Tujuh Kelompok isolat alkaloid	Diinfeksi <i>P. berghei</i> dan terapi isolat alkaloid Anting-anting 5 mL sehari secara peroral.

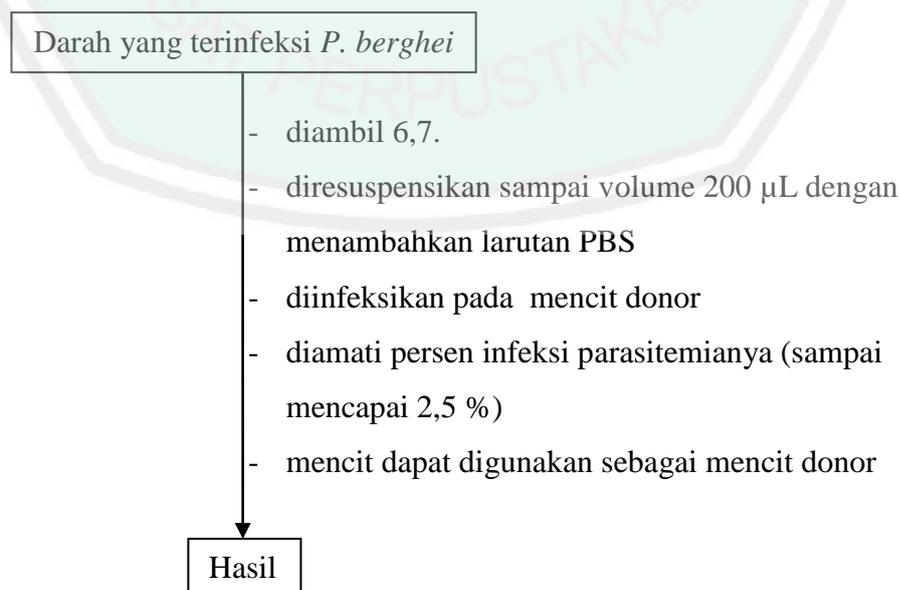
Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991). Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 6-15% yang dihitung sebagai hari ke-0.

Terapi dilakukan setiap hari selama 5 hari. Pengamatan derajat parasitemia dilakukan pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3 dan hari ke-4.

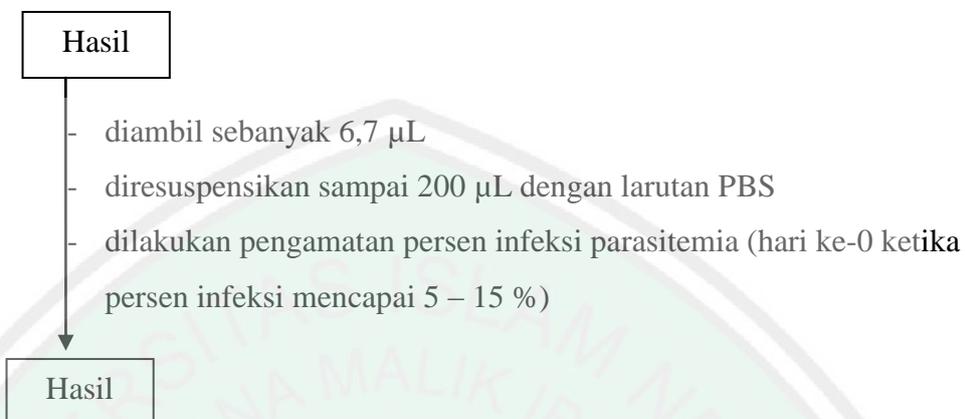
L.1.6.2 Freezing dan Thawing Isolat *P. berghei*



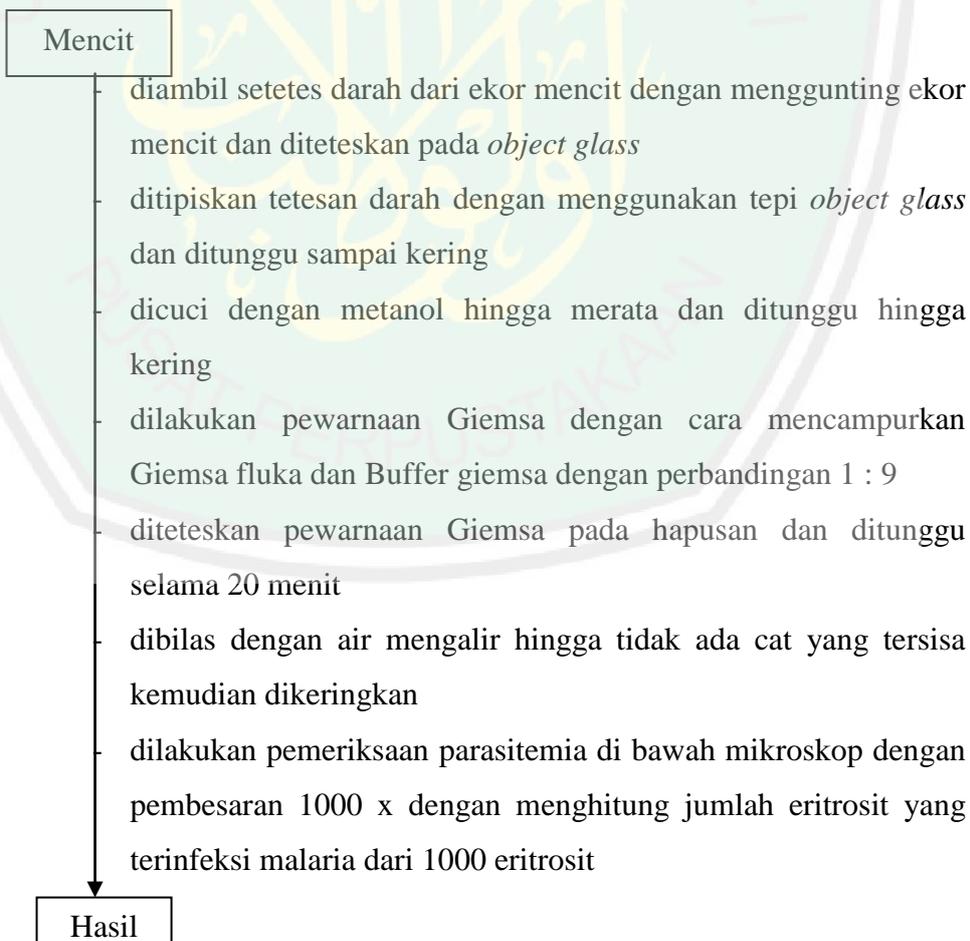
L.1.6.3 Pembuatan donor



L.1.6.4 Inokulasi *P. berghei*



L.1.6.5 Pengukuran Derajat Parasitemia (Sardjono dan Fitri, 2007 dalam Muti'ah, 2010).



Persen derajat parasitemia adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi *P. Berghei* dalam 1000 eritrosit. Persen derajat parasitemia ditentukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Persen derajat parasitemia} = \frac{\text{jumlah eritrosit terinfeksi}}{1000 \text{ eritrosit}} \times 100 \%$$

Sedangkan persen perhambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{\% \text{ derajat parasitemia kontrol positif} - \% \text{ derajat parasitemia obat}}{\% \text{ derajat parasitemia kontrol positif}} \times 100\%$$

Lampiran 3 Pembuatan Larutan

L.3.1 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 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 g KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O (Wagner, 2001).

L.3.2 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 HgCl_2 1,358 g yang dilarutkan dengan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan KI 5 g yang dilarutkan dengan aquades 10 mL. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

L.3.3 Pembuatan CMC-Na 1 %

1 gram serbuk CMC-Na dilarutkan dalam 50 mL aquades mendidih kemudian diaduk sampai homogen. Setelah larut sempurna, larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan kembali aquades sampai

tanda batas 100 mL. Kemudian labu ukur ditutup rapat dan dikocok secara perlahan agar larutan menjadi homogen

L.3.4 Pembuatan Larutan Giemsa

Sebanyak 1 mL Giemsa fluka dipipet dengan menggunakan pipet volume 1 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL. Selanjutnya dipipet 9 mL Buffer pro Giemsa dengan menggunakan pipet ukur 10 mL dan dimasukkan ke dalam beaker glass 25 mL kemudian diaduk sampai homogen.

L.3.5 Pembuatan Larutan Buffer Giemsa

Sebanyak 1 g bubuk giemsa ditimbang dengan menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian ditambahkan dengan 66 mL gliserin dan dimasukkan dalam oven selama 2 jam 60 °C. Setelah diinkubasi, ditambahkan 66 mL metanol absolut dan diaduk (R.D Lillie dalam Mc Laughlin, 2004).

L.3.6 Pembuatan HCl 2 %

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$37 \% \times V1 = 2 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah:

Dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan

aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen. Proses pengenceran tersebut dilakukan di dalam lemari asam.

L.3.7 Pembuatan HCl 1 N

Larutan HCl 37 % sebanyak 8,3 mL diencerkan dengan H₂O sampai volume 100 mL. Perhitungannya adalah sebagai berikut:

HCl 37% (v/v) mempunyai $\rho = 1,19 \text{ g/ mL}$

$$\text{BM} = 36,5 \text{ g/mol}$$

Dalam 100 mL larutan HCl 37 % :

$$\begin{aligned} \text{Massa HCl 37 \%} &= \rho \times V \\ &= 1,19 \text{ g/ mL} \times 37 \text{ mL} \\ &= 44,03 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol HCl 37 \%} &= \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \\ &= \frac{44,03 \text{ g}}{36,5 \text{ g/mol}} \\ &= 1,206 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{N HCl 37 \%} &= \frac{\text{mol} \times \text{ekuivalen}}{V} \\ &= \frac{1,206 \text{ mol} \times 1}{0,1 \text{ L}} = 12,06 \text{ N} \end{aligned}$$

Pengenceran :

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

$$12,06 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

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

L.3.8 Pembuatan Larutan PBS (*Phosphat Buffered Saline*)

Sebanyak 14.4 g natrium diposfat (Na_2HPO_4), 80 g natrium klorida, 2 g kalium klorida, 2,4 g kalium monofosfat (KH_2PO_4) dan asam klorida secukupnya. Dicampurkan semua bahan dan dilarutkan dalam 800 mL aquades hingga tercampur dan ditambahkan asam klorida untuk membuat pH 7,4. Kemudian di sterilkan dengan autoklaf (Harlow dan Lane, 2007).

L.3.9 Perhitungan Jumlah Pengambilan 1×10^6 Parasit dari RBC

Parasitemia 2,5 % = 2,5 parasit dalam 100 RBC (*Red Blood Cell*)

$$\begin{aligned} \text{Sehingga } 1 \times 10^6 \text{ parasit} &= \frac{1 \times 10^6 \text{ parasit}}{2,5 \text{ parasit}} \times 100 \text{ RBC} \\ &= 40 \times 10^6 \text{ RBC} \end{aligned}$$

Jadi, 1×10^6 parasit ini bisa diperoleh dalam 40×10^6 RBC. Kemudian diketahui bahwa dalam 1 mL darah terdapat 6×10^9 RBC, maka untuk menentukan berapa mL darah yang harus diambil untuk memperoleh 40×10^6 RBC adalah:

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

Sehingga untuk mengambil 1×10^6 parasit, dapat dilakukan dengan mengambil darah sebanyak 6,7 μL (untuk setiap mencit) dengan menggunakan mikropipet.

Lampiran 4 Penentuan dan Perhitungan Dosis

L.4.1 Penentuan Dosis

L.4.1.1 Dosis Isolat Alkaloid Tanaman Anting-anting

Penentuan dosis isolat alkaloid tanaman anting-anting untuk mencit adalah sebagai berikut:

Misalnya berat badan manusia 70 kg, maka dosis mencit adalah:

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

$$\text{Dosis Isolat 1} = 0,0016 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,112 \text{ mg}$$

$$0,112 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0003 \text{ mg/20 g BB} = 0,000015 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis Isolat 2} = 0,00033 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,0231 \text{ mg}$$

$$0,0231 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,00006 \text{ mg/20 g BB} = 0,000003 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis Isolat 3} = 0,00011 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,0077 \text{ mg}$$

$$0,0077 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,00002 \text{ mg/20 g BB} = 0,000001 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis Isolat 4} = 0,0016 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,1154 \text{ mg}$$

$$0,1154 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0003 \text{ mg/20 g BB} = 0,000015 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis Isolat 5} = 0,00088 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,062 \text{ mg}$$

$$0,062 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,00016 \text{ mg/20 g BB} = 0,000008 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis Isolat 6} = 0,0016 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,1154 \text{ mg}$$

$$0,1154 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,0003 \text{ mg/20 g BB} = 0,000015 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis Isolat 7} = 0,0079 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 0,554 \text{ mg}$$

$$0,554 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,00144 \text{ mg/20 g BB} = 0,000072 \text{ mg/g BB}$$

L.4.1.4 Dosis Klorokuin

Penentuan dosis klorokuin adalah sebagai berikut:

Dosis klorokuin untuk manusia adalah 5,71 mg/kg BB maka: $5,71 \text{ mg} \times 70 \text{ kg} = 400 \text{ mg}$

Dosis untuk mencit = $400 \text{ mg} \times 0,0026$
 $= 1,04 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$
 $= 0,052 \text{ mg/g BB} = 0,05 \text{ mg/g BB}$

L.4.2 Perhitungan Dosis

L.4.2.1 Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol 80 % Daun Bunga Matahari

Rumus: Dosis x berat badan mencit

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x Dosis x 4 hari

Ket: Berat badan mencit rata-rata yang digunakan sebagai hewan uji = 22 g

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 6

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

Dosis Isolat 1 = $0,000015 \text{ mg/g BB}$

$0,000015 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,00032 \text{ mg}$

$6 \times 0,00032 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,0077 \text{ mg}/12 \text{ mL}$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,0077 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %.

Dosis Isolat 2 = 0,000003 mg/g BB

$$0,000003 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,00007 \text{ mg}$$

$$6 \times 0,00007 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,0017 \text{ mg/12 mL}$$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,0017 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %

Dosis Isolat 3 = 0,000001 mg/g BB

$$0,000001 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,00003 \text{ mg}$$

$$6 \times 0,00003 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,0007 \text{ mg/12 mL}$$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,0007 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %

Dosis Isolat 4 = 0,000015 mg/g BB

$$0,000015 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,00033 \text{ mg}$$

$$6 \times 0,00033 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,0078 \text{ mg/12 mL}$$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,0078 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %

Dosis Isolat 5 = 0,000008 mg/g BB

$$0,000008 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,00017 \text{ mg}$$

$$6 \times 0,00017 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,004 \text{ mg/12 mL}$$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,004 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %

Dosis Isolat 6 =0,000015 mg/g BB

$$0,000015 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,00032 \text{ mg}$$

$$6 \times 0,00032 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,0077 \text{ mg/12 mL}$$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,0077 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %.

Dosis Isolat 7 = 0,000072 mg/g BB

$$0,000072 \text{ mg/BB} \times 22 \text{ g} = 0,0016 \text{ mg}$$

$$6 \times 0,0016 \text{ mg/mL} \times 4 = 0,0038 \text{ mg/12 mL}$$

maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,0038 mg kemudian dilarutkan ke dalam 12 mL CMC-Na 1 %

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen

L.5.1 Ekstrak Metanol

$$\text{Berat botol kosong} = 24,4270 \text{ g}$$

$$\text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} = 36,5434 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \text{ekstrak pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\ &= 36,5434 \text{ g} - 24,4270 \text{ g} = 12,1164 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{12,1164 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 12,1164\% \text{ (b/b)} \end{aligned}$$

L.5.2 Ekstrak Kasar Alkaloid

$$\text{Berat botol kosong} = 9,7310 \text{ g}$$

$$\text{Berat botol kosong + ekstrak pekat} = 9,7674 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak pekat} &= (\text{Berat botol kosong} + \text{ekstrak pekat}) - \text{Berat botol kosong} \\ &= 9,7674 \text{ g} - 9,7310 \text{ g} = 0,0364 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{0,0364 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,0364\% \text{ (b/b)} \end{aligned}$$

Lampiran 6 Perhitungan Nilai Rf

L.6.1 Perhitungan nilai Rf hasil pemisahan KLTA senyawa alkaloid dengan menggunakan eluen kloroform:metanol (9,5:0,5)

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{1,8}{8,5} = 0,21$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{2,5}{8,5} = 0,30$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{3,1}{8,5} = 0,36$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{3,5}{8,5} = 0,41$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{5,3}{8,5} = 0,77$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{6,9}{8,5} = 0,81$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{7,8}{8,5} = 0,92$$

L.6.2 Perhitungan nilai Rf hasil pemisahan KLTP senyawa alkaloid dengan menggunakan eluen kloroform:metanol (9,5:0,5)

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak tempuh senyawa}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{1}{8,5} = 0,12$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{1,6}{8,5} = 0,19$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{4,5}{8,5} = 0,53$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{5,4}{8,5} = 0,64$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{6}{8,5} = 0,71$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{7,1}{8,5} = 0,83$$

$$\text{Harga Rf} = \frac{8}{8,5} = 0,94$$



Lampiran 7 Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria

L.7.1 Hasil Pengujian % Parasit dalam 4 Hari Perlakuan

No	Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Parasitemia (%)				
			Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
1	Kontrol Negatif	1	8,3	9,4	9,5	9,9	12,3
		2	8,0	9,5	11,2	13,6	15,5
		3	6,2	7,0	8,9	9,3	8,6
		4	7,0	8,3	8,8	8,7	10,7
	Rata-rata		7,4	8,6	9,6	10,4	11,8
2	Kontrol Positif (Klorokuin)	1	7,3	5,9	4,0	2,4	0,7
		2	7,5	6,0	5,3	3,9	1,5
		3	6,6	5,5	4,3	2,0	0,5
		4	7,7	7,0	6,6	3,3	0,9
	Rata-rata		7,3	6,1	5,1	2,9	0,9
3	Isolat 1	1	8,3	13,1	11,2	15,1	19,3
		2	7,00	12,0	9,2	13,0	17,1
		3	8,4	14,6	10,1	14,9	16,0
		4	9,7	11,2	9,9	14,7	17,9
	Rata-rata		8,4	12,8	10,1	14,4	17,5
4	Isolat 2	1	9,8	17,8	17,7	18,0	21,0
		2	9,1	16,3	18,0	20,1	22,1
		3	9,7	19,8	19,8	19,1	21,3
		4	9,3	17,0	17,5	18,9	22,0
	Rata-rata		9,2	17,7	18,2	19,0	21,6
5	Isolat 3	1	9,6	18,4	20,0	23,4	25,0
		2	9,0	18,0	21,6	22,5	23,9
		3	8,0	20,0	19,3	20,0	23,4
		4	9,6	19,3	20,8	23,0	24,6
	Rata-rata		9,1	19,0	20,4	22,2	24,2
6	Isolat 4	1	8,9	12,6	11,0	12,0	8,4
		2	9,9	12,0	12,0	13,2	9,4
		3	8,3	12,9	10,8	12,6	10,2
		4	7,5	13,5	12,3	13,3	8,9
	Rata-rata		8,7	12,7	11,5	12,8	9,3
7	Isolat 5	1	8,7	13,6	15,2	13,0	15,4
		2	9,3	14,5	13,0	12,5	13,3
		3	8,0	12,7	16,1	12,9	13,0
		4	7,9	12,9	13,9	11,4	14,9
	Rata-rata		8,4	13,4	14,6	12,4	14,1
8	Isolat 6	1	8,2	10,1	12,5	11,2	9,5
		2	9,5	12,0	13,4	12,0	11,8
		3	8,9	12,8	13,8	13,0	9,9
		4	6,9	9,0	11,4	12,5	10,4

	Rata-rata	8,3	10,9	12,7	12,1	10,4	
9	Isolat 7	1	9,2	11,7	16,3	17,9	27,2
		2	9,5	13,9	15,1	23,5	24,4
		3	8,9	12,0	15,9	20,2	26,2
		4	9,3	11,9	14,0	22,5	24,9
	Rata-rata	9,2	12,3	15,3	18,5	25,6	

Keterangan:

- Kontrol negatif : infeksi *P. berghei* tanpa terapi
 Kontrol positif (Klorokuin) : pemberian Klorokuin 5,71 mg/kg BB
 I 1 : pemberian terapi isolat alkaloid 1
 I 2 : pemberian terapi isolat alkaloid 2
 I 3 : pemberian terapi isolat alkaloid 3
 I 4 : pemberian terapi isolat alkaloid 4
 I 5 : pemberian terapi isolat alkaloid 5
 I 6 : pemberian terapi isolat alkaloid 6
 I 7 : pemberian terapi isolat alkaloid 7

L.7.2 Rata-rata % Parasit dalam 4 Hari Perlakuan

No	Perlakuan	Pengamatan parasitemia (%)				
		H0	H1	H2	H3	H4
1	Kontrol negatif	7,4	8,6	9,6	10,4	11,8
2	Klorokuin	7,3	6,1	5,1	2,9	0,9
3	Isolat 1	8,4	12,8	10,1	14,4	17,5
4	Isolat 2	9,2	17,7	18,2	19,0	21,6
5	Isolat 3	9,1	19,0	20,4	22,2	24,2
6	Isolat 4	8,7	12,7	11,5	12,8	9,3
7	Isolat 5	8,4	13,4	14,6	12,4	14,1
8	Isolat 6	8,3	10,9	12,7	12,1	10,4
9	Isolat 7	9,2	12,3	15,3	18,5	25,6

Lampiran 8 Perhitungan Persen Penghambatan Pada Semua Hari Perlakuan

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

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\% \text{ Derajat parasitemia kontrol negatif} - \% \text{ derajat parasitemia obat}}{\% \text{ Derajat parasitemia kontrol negatif}} \times 100 \%$$

Perlakuan	% penghambatan			
	H1	H2	H3	H4
Klorokuin	29,1 %	46,9 %	72,1 %	92,4 %
Isolat 1	-	-	-	-
Isolat 2	-	-	-	-
Isolat 3	-	-	-	-
Isolat 4	-	-	-	21,2 %
Isolat 5	-	-	-	-
Isolat 6	-	-	-	11,9 %
Isolat 7	-	-	-	-

Keterangan :

- Kontrol negatif : infeksi *P. berghei* tanpa terapi
 Kontrol Klorokuin : pemberian Klorokuin 5,71 mg/kg BB
 I 1 : pemberian terapi isolat alkaloid 1
 I 2 : pemberian terapi isolat alkaloid 2
 I 3 : pemberian terapi isolat alkaloid 3
 I 4 : pemberian terapi isolat alkaloid 4
 I 5 : pemberian terapi isolat alkaloid 5
 I 6 : pemberian terapi isolat alkaloid 6
 I 7 : pemberian terapi isolat alkaloid 7

Lampiran 9 Persentase Penghambatan Parasitemia Mencit

Persentase penghambatan parasitemia mencit dilakukan pengamatan pada hari ke-4

Perlakuan	% penghambatan H4
Klorokuin	92,4 %
Isolat 4	21,2 %
Isolat 6	11,9 %

Keterangan :

Kontrol Klorokuin : pemberian Klorokuin 5,71 mg/kg BB

I 4 : pemberian terapi isolat alkaloid 4

I 6 : pemberian terapi isolat alkaloid 6

Lampiran 10 Hasil Analisis Statistika Program SPSS

L.10.1 Uji OneWay ANOVA

Multiple Comparisons

Tukey HSD

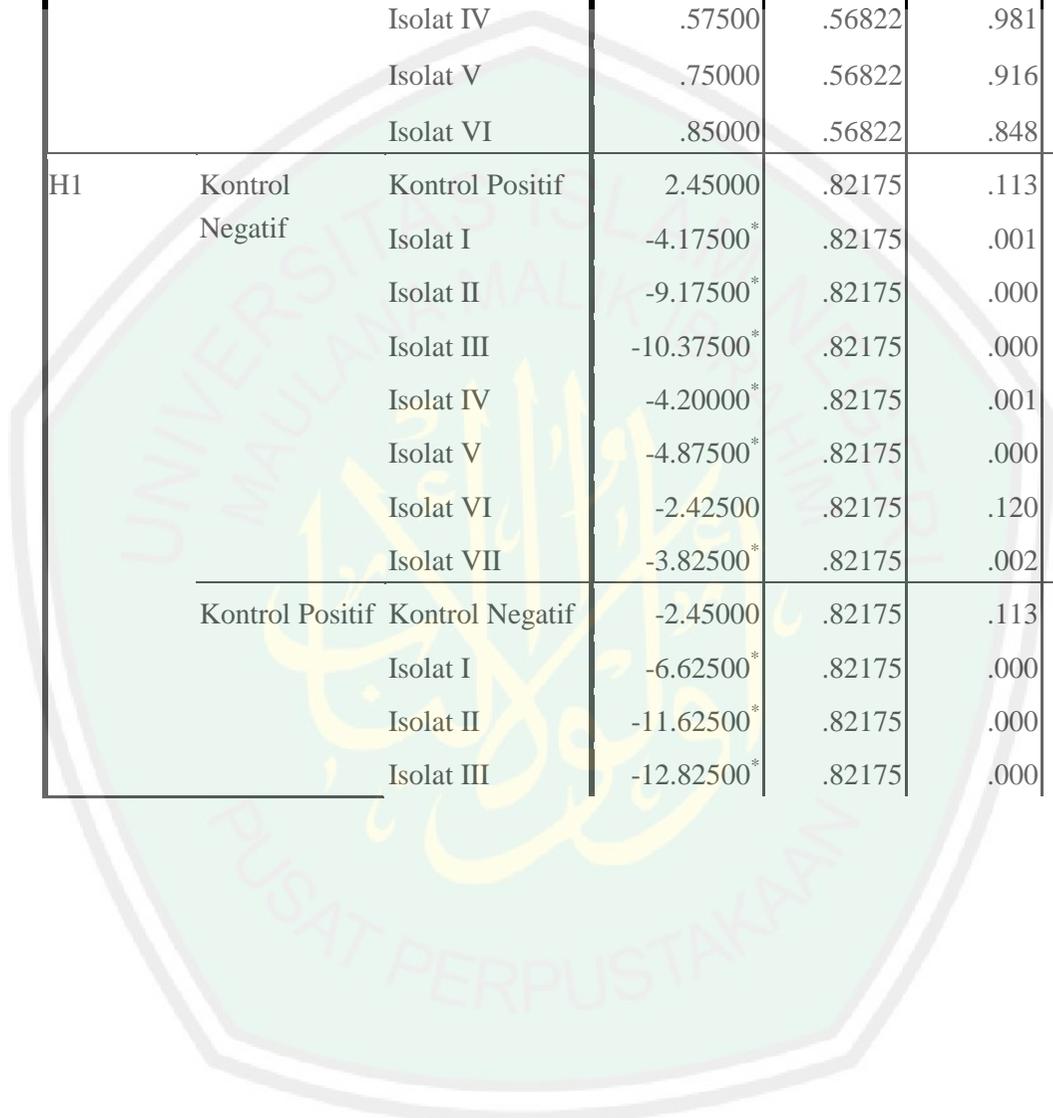
Dependent Variable	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
H0	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	.10000	.56822	1.000	-1.8119	2.0119	
		Isolat I	-.97500	.56822	.732	-2.8869	.9369	
	Isolat II	-2.10000*	.56822	.023	-4.0119	-.1881		
	Isolat III	-1.67500	.56822	.121	-3.5869	.2369		
	Isolat IV	-1.27500	.56822	.408	-3.1869	.6369		
	Isolat V	-1.10000	.56822	.597	-3.0119	.8119		
	Isolat VI	-1.00000	.56822	.706	-2.9119	.9119		
	Isolat VII	-1.85000	.56822	.064	-3.7619	.0619		
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif		-.10000	.56822	1.000	-2.0119	1.8119
			Isolat I	-1.07500	.56822	.625	-2.9869	.8369
Isolat II			-2.20000*	.56822	.015	-4.1119	-.2881	

	Isolat III	-1.77500	.56822	.084	-3.6869	.1369
	Isolat IV	-1.37500	.56822	.314	-3.2869	.5369
	Isolat V	-1.20000	.56822	.486	-3.1119	.7119
	Isolat VI	-1.10000	.56822	.597	-3.0119	.8119
	Isolat VII	-1.95000*	.56822	.043	-3.8619	-.0381
Isolat I	Kontrol Negatif	.97500	.56822	.732	-.9369	2.8869
	Kontrol Positif	1.07500	.56822	.625	-.8369	2.9869
	Isolat II	-1.12500	.56822	.569	-3.0369	.7869
	Isolat III	-.70000	.56822	.942	-2.6119	1.2119
	Isolat IV	-.30000	.56822	1.000	-2.2119	1.6119
	Isolat V	-.12500	.56822	1.000	-2.0369	1.7869
	Isolat VI	-.02500	.56822	1.000	-1.9369	1.8869
	Isolat VII	-.87500	.56822	.827	-2.7869	1.0369
Isolat II	Kontrol Negatif	2.10000*	.56822	.023	.1881	4.0119
	Kontrol Positif	2.20000*	.56822	.015	.2881	4.1119
	Isolat I	1.12500	.56822	.569	-.7869	3.0369
	Isolat III	.42500	.56822	.997	-1.4869	2.3369
	Isolat IV	.82500	.56822	.867	-1.0869	2.7369

	Isolat V	1.00000	.56822	.706	-.9119	2.9119
	Isolat VI	1.10000	.56822	.597	-.8119	3.0119
	Isolat VII	.25000	.56822	1.000	-1.6619	2.1619
Isolat III	Kontrol Negatif	1.67500	.56822	.121	-.2369	3.5869
	Kontrol Positif	1.77500	.56822	.084	-.1369	3.6869
	Isolat I	.70000	.56822	.942	-1.2119	2.6119
	Isolat II	-.42500	.56822	.997	-2.3369	1.4869
	Isolat IV	.40000	.56822	.998	-1.5119	2.3119
	Isolat V	.57500	.56822	.981	-1.3369	2.4869
	Isolat VI	.67500	.56822	.952	-1.2369	2.5869
	Isolat VII	-.17500	.56822	1.000	-2.0869	1.7369
Isolat IV	Kontrol Negatif	1.27500	.56822	.408	-.6369	3.1869
	Kontrol Positif	1.37500	.56822	.314	-.5369	3.2869
	Isolat I	.30000	.56822	1.000	-1.6119	2.2119
	Isolat II	-.82500	.56822	.867	-2.7369	1.0869
	Isolat III	-.40000	.56822	.998	-2.3119	1.5119
	Isolat V	.17500	.56822	1.000	-1.7369	2.0869
	Isolat VI	.27500	.56822	1.000	-1.6369	2.1869

	Isolat VII	-.57500	.56822	.981	-2.4869	1.3369
Isolat V	Kontrol Negatif	1.10000	.56822	.597	-.8119	3.0119
	Kontrol Positif	1.20000	.56822	.486	-.7119	3.1119
	Isolat I	.12500	.56822	1.000	-1.7869	2.0369
	Isolat II	-1.00000	.56822	.706	-2.9119	.9119
	Isolat III	-.57500	.56822	.981	-2.4869	1.3369
	Isolat IV	-.17500	.56822	1.000	-2.0869	1.7369
	Isolat VI	.10000	.56822	1.000	-1.8119	2.0119
	Isolat VII	-.75000	.56822	.916	-2.6619	1.1619
Isolat VI	Kontrol Negatif	1.00000	.56822	.706	-.9119	2.9119
	Kontrol Positif	1.10000	.56822	.597	-.8119	3.0119
	Isolat I	.02500	.56822	1.000	-1.8869	1.9369
	Isolat II	-1.10000	.56822	.597	-3.0119	.8119
	Isolat III	-.67500	.56822	.952	-2.5869	1.2369
	Isolat IV	-.27500	.56822	1.000	-2.1869	1.6369
	Isolat V	-.10000	.56822	1.000	-2.0119	1.8119
	Isolat VII	-.85000	.56822	.848	-2.7619	1.0619
Isolat VII	Kontrol Negatif	1.85000	.56822	.064	-.0619	3.7619

		Kontrol Positif	1.95000*	.56822	.043	.0381	3.8619
		Isolat I	.87500	.56822	.827	-1.0369	2.7869
		Isolat II	-.25000	.56822	1.000	-2.1619	1.6619
		Isolat III	.17500	.56822	1.000	-1.7369	2.0869
		Isolat IV	.57500	.56822	.981	-1.3369	2.4869
		Isolat V	.75000	.56822	.916	-1.1619	2.6619
		Isolat VI	.85000	.56822	.848	-1.0619	2.7619
H1	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	2.45000	.82175	.113	-.3149	5.2149
		Isolat I	-4.17500*	.82175	.001	-6.9399	-1.4101
		Isolat II	-9.17500*	.82175	.000	-11.9399	-6.4101
		Isolat III	-10.37500*	.82175	.000	-13.1399	-7.6101
		Isolat IV	-4.20000*	.82175	.001	-6.9649	-1.4351
		Isolat V	-4.87500*	.82175	.000	-7.6399	-2.1101
		Isolat VI	-2.42500	.82175	.120	-5.1899	.3399
		Isolat VII	-3.82500*	.82175	.002	-6.5899	-1.0601
		Kontrol Positif Kontrol Negatif	-2.45000	.82175	.113	-5.2149	.3149
		Isolat I	-6.62500*	.82175	.000	-9.3899	-3.8601
		Isolat II	-11.62500*	.82175	.000	-14.3899	-8.8601
		Isolat III	-12.82500*	.82175	.000	-15.5899	-10.0601



	Isolat IV	-6.65000*	.82175	.000	-9.4149	-3.8851
	Isolat V	-7.32500*	.82175	.000	-10.0899	-4.5601
	Isolat VI	-4.87500*	.82175	.000	-7.6399	-2.1101
	Isolat VII	-6.27500*	.82175	.000	-9.0399	-3.5101
Isolat I	Kontrol Negatif	4.17500*	.82175	.001	1.4101	6.9399
	Kontrol Positif	6.62500*	.82175	.000	3.8601	9.3899
	Isolat II	-5.00000*	.82175	.000	-7.7649	-2.2351
	Isolat III	-6.20000*	.82175	.000	-8.9649	-3.4351
	Isolat IV	-.02500	.82175	1.000	-2.7899	2.7399
	Isolat V	-.70000	.82175	.994	-3.4649	2.0649
	Isolat VI	1.75000	.82175	.476	-1.0149	4.5149
	Isolat VII	.35000	.82175	1.000	-2.4149	3.1149
Isolat II	Kontrol Negatif	9.17500*	.82175	.000	6.4101	11.9399
	Kontrol Positif	11.62500*	.82175	.000	8.8601	14.3899
	Isolat I	5.00000*	.82175	.000	2.2351	7.7649
	Isolat III	-1.20000	.82175	.864	-3.9649	1.5649
	Isolat IV	4.97500*	.82175	.000	2.2101	7.7399
	Isolat V	4.30000*	.82175	.000	1.5351	7.0649
	Isolat VI	6.75000*	.82175	.000	3.9851	9.5149

	Isolat VII	5.35000*	.82175	.000	2.5851	8.1149
Isolat III	Kontrol Negatif	10.37500*	.82175	.000	7.6101	13.1399
	Kontrol Positif	12.82500*	.82175	.000	10.0601	15.5899
	Isolat I	6.20000*	.82175	.000	3.4351	8.9649
	Isolat II	1.20000	.82175	.864	-1.5649	3.9649
	Isolat IV	6.17500*	.82175	.000	3.4101	8.9399
	Isolat V	5.50000*	.82175	.000	2.7351	8.2649
	Isolat VI	7.95000*	.82175	.000	5.1851	10.7149
	Isolat VII	6.55000*	.82175	.000	3.7851	9.3149
Isolat IV	Kontrol Negatif	4.20000*	.82175	.001	1.4351	6.9649
	Kontrol Positif	6.65000*	.82175	.000	3.8851	9.4149
	Isolat I	.02500	.82175	1.000	-2.7399	2.7899
	Isolat II	-4.97500*	.82175	.000	-7.7399	-2.2101
	Isolat III	-6.17500*	.82175	.000	-8.9399	-3.4101
	Isolat V	-.67500	.82175	.995	-3.4399	2.0899
	Isolat VI	1.77500	.82175	.457	-.9899	4.5399
	Isolat VII	.37500	.82175	1.000	-2.3899	3.1399
Isolat V	Kontrol Negatif	4.87500*	.82175	.000	2.1101	7.6399
	Kontrol Positif	7.32500*	.82175	.000	4.5601	10.0899

	Isolat I	.70000	.82175	.994	-2.0649	3.4649
	Isolat II	-4.30000*	.82175	.000	-7.0649	-1.5351
	Isolat III	-5.50000*	.82175	.000	-8.2649	-2.7351
	Isolat IV	.67500	.82175	.995	-2.0899	3.4399
	Isolat VI	2.45000	.82175	.113	-.3149	5.2149
	Isolat VII	1.05000	.82175	.929	-1.7149	3.8149
Isolat VI	Kontrol Negatif	2.42500	.82175	.120	-.3399	5.1899
	Kontrol Positif	4.87500*	.82175	.000	2.1101	7.6399
	Isolat I	-1.75000	.82175	.476	-4.5149	1.0149
	Isolat II	-6.75000*	.82175	.000	-9.5149	-3.9851
	Isolat III	-7.95000*	.82175	.000	-10.7149	-5.1851
	Isolat IV	-1.77500	.82175	.457	-4.5399	.9899
	Isolat V	-2.45000	.82175	.113	-5.2149	.3149
	Isolat VII	-1.40000	.82175	.739	-4.1649	1.3649
Isolat VII	Kontrol Negatif	3.82500*	.82175	.002	1.0601	6.5899
	Kontrol Positif	6.27500*	.82175	.000	3.5101	9.0399
	Isolat I	-.35000	.82175	1.000	-3.1149	2.4149
	Isolat II	-5.35000*	.82175	.000	-8.1149	-2.5851
	Isolat III	-6.55000*	.82175	.000	-9.3149	-3.7851

		Isolat IV	-.37500	.82175	1.000	-3.1399	2.3899
		Isolat V	-1.05000	.82175	.929	-3.8149	1.7149
		Isolat VI	1.40000	.82175	.739	-1.3649	4.1649
H2	Kontrol	Kontrol Positif	4.55000*	.72210	.000	2.1203	6.9797
	Negatif	Isolat I	-.50000	.72210	.998	-2.9297	1.9297
		Isolat II	-8.47500*	.72210	.000	-10.9047	-6.0453
		Isolat III	-10.82500*	.72210	.000	-13.2547	-8.3953
		Isolat IV	-1.92500	.72210	.207	-4.3547	.5047
		Isolat V	-4.95000*	.72210	.000	-7.3797	-2.5203
		Isolat VI	-3.17500*	.72210	.004	-5.6047	-.7453
		Isolat VII	-5.72500*	.72210	.000	-8.1547	-3.2953
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-4.55000*	.72210	.000	-6.9797	-2.1203
		Isolat I	-5.05000*	.72210	.000	-7.4797	-2.6203
		Isolat II	-13.02500*	.72210	.000	-15.4547	-10.5953
		Isolat III	-15.37500*	.72210	.000	-17.8047	-12.9453
		Isolat IV	-6.47500*	.72210	.000	-8.9047	-4.0453
		Isolat V	-9.50000*	.72210	.000	-11.9297	-7.0703
		Isolat VI	-7.72500*	.72210	.000	-10.1547	-5.2953
		Isolat VII	-10.27500*	.72210	.000	-12.7047	-7.8453

Isolat I	Kontrol Negatif	.50000	.72210	.998	-1.9297	2.9297
	Kontrol Positif	5.05000*	.72210	.000	2.6203	7.4797
	Isolat II	-7.97500*	.72210	.000	-10.4047	-5.5453
	Isolat III	-10.32500*	.72210	.000	-12.7547	-7.8953
	Isolat IV	-1.42500	.72210	.573	-3.8547	1.0047
	Isolat V	-4.45000*	.72210	.000	-6.8797	-2.0203
	Isolat VI	-2.67500*	.72210	.023	-5.1047	-.2453
	Isolat VII	-5.22500*	.72210	.000	-7.6547	-2.7953
Isolat II	Kontrol Negatif	8.47500*	.72210	.000	6.0453	10.9047
	Kontrol Positif	13.02500*	.72210	.000	10.5953	15.4547
	Isolat I	7.97500*	.72210	.000	5.5453	10.4047
	Isolat III	-2.35000	.72210	.064	-4.7797	.0797
	Isolat IV	6.55000*	.72210	.000	4.1203	8.9797
	Isolat V	3.52500*	.72210	.001	1.0953	5.9547
	Isolat VI	5.30000*	.72210	.000	2.8703	7.7297
	Isolat VII	2.75000*	.72210	.018	.3203	5.1797
Isolat III	Kontrol Negatif	10.82500*	.72210	.000	8.3953	13.2547
	Kontrol Positif	15.37500*	.72210	.000	12.9453	17.8047
	Isolat I	10.32500*	.72210	.000	7.8953	12.7547

	Isolat II	2.35000	.72210	.064	-.0797	4.7797
	Isolat IV	8.90000*	.72210	.000	6.4703	11.3297
	Isolat V	5.87500*	.72210	.000	3.4453	8.3047
	Isolat VI	7.65000*	.72210	.000	5.2203	10.0797
	Isolat VII	5.10000*	.72210	.000	2.6703	7.5297
Isolat IV	Kontrol Negatif	1.92500	.72210	.207	-.5047	4.3547
	Kontrol Positif	6.47500*	.72210	.000	4.0453	8.9047
	Isolat I	1.42500	.72210	.573	-1.0047	3.8547
	Isolat II	-6.55000*	.72210	.000	-8.9797	-4.1203
	Isolat III	-8.90000*	.72210	.000	-11.3297	-6.4703
	Isolat V	-3.02500*	.72210	.007	-5.4547	-.5953
	Isolat VI	-1.25000	.72210	.723	-3.6797	1.1797
	Isolat VII	-3.80000*	.72210	.000	-6.2297	-1.3703
Isolat V	Kontrol Negatif	4.95000*	.72210	.000	2.5203	7.3797
	Kontrol Positif	9.50000*	.72210	.000	7.0703	11.9297
	Isolat I	4.45000*	.72210	.000	2.0203	6.8797
	Isolat II	-3.52500*	.72210	.001	-5.9547	-1.0953
	Isolat III	-5.87500*	.72210	.000	-8.3047	-3.4453
	Isolat IV	3.02500*	.72210	.007	.5953	5.4547

		Isolat VI	1.77500	.72210	.295	-.6547	4.2047
		Isolat VII	-.77500	.72210	.973	-3.2047	1.6547
	Isolat VI	Kontrol Negatif	3.17500*	.72210	.004	.7453	5.6047
		Kontrol Positif	7.72500*	.72210	.000	5.2953	10.1547
		Isolat I	2.67500*	.72210	.023	.2453	5.1047
		Isolat II	-5.30000*	.72210	.000	-7.7297	-2.8703
		Isolat III	-7.65000*	.72210	.000	-10.0797	-5.2203
		Isolat IV	1.25000	.72210	.723	-1.1797	3.6797
		Isolat V	-1.77500	.72210	.295	-4.2047	.6547
		Isolat VII	-2.55000*	.72210	.034	-4.9797	-.1203
	Isolat VII	Kontrol Negatif	5.72500*	.72210	.000	3.2953	8.1547
		Kontrol Positif	10.27500*	.72210	.000	7.8453	12.7047
		Isolat I	5.22500*	.72210	.000	2.7953	7.6547
		Isolat II	-2.75000*	.72210	.018	-5.1797	-.3203
		Isolat III	-5.10000*	.72210	.000	-7.5297	-2.6703
		Isolat IV	3.80000*	.72210	.000	1.3703	6.2297
		Isolat V	.77500	.72210	.973	-1.6547	3.2047
		Isolat VI	2.55000*	.72210	.034	.1203	4.9797
H3	Kontrol	Kontrol Positif	7.47500*	.98171	.000	4.1719	10.7781

Negatif	Isolat I	-4.05000*	.98171	.008	-7.3531	-.7469
	Isolat II	-8.65000*	.98171	.000	-11.9531	-5.3469
	Isolat III	-11.85000*	.98171	.000	-15.1531	-8.5469
	Isolat IV	-2.40000	.98171	.301	-5.7031	.9031
	Isolat V	-2.07500	.98171	.485	-5.3781	1.2281
	Isolat VI	-1.80000	.98171	.661	-5.1031	1.5031
	Isolat VII	-10.65000*	.98171	.000	-13.9531	-7.3469
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-7.47500*	.98171	.000	-10.7781	-4.1719
	Isolat I	-11.52500*	.98171	.000	-14.8281	-8.2219
	Isolat II	-16.12500*	.98171	.000	-19.4281	-12.8219
	Isolat III	-19.32500*	.98171	.000	-22.6281	-16.0219
	Isolat IV	-9.87500*	.98171	.000	-13.1781	-6.5719
	Isolat V	-9.55000*	.98171	.000	-12.8531	-6.2469
	Isolat VI	-9.27500*	.98171	.000	-12.5781	-5.9719
Isolat VII	-18.12500*	.98171	.000	-21.4281	-14.8219	
Isolat I	Kontrol Negatif	4.05000*	.98171	.008	.7469	7.3531
	Kontrol Positif	11.52500*	.98171	.000	8.2219	14.8281
	Isolat II	-4.60000*	.98171	.002	-7.9031	-1.2969
	Isolat III	-7.80000*	.98171	.000	-11.1031	-4.4969

	Isolat IV	1.65000	.98171	.752	-1.6531	4.9531
	Isolat V	1.97500	.98171	.549	-1.3281	5.2781
	Isolat VI	2.25000	.98171	.381	-1.0531	5.5531
	Isolat VII	-6.60000*	.98171	.000	-9.9031	-3.2969
Isolat II	Kontrol Negatif	8.65000*	.98171	.000	5.3469	11.9531
	Kontrol Positif	16.12500*	.98171	.000	12.8219	19.4281
	Isolat I	4.60000*	.98171	.002	1.2969	7.9031
	Isolat III	-3.20000	.98171	.063	-6.5031	.1031
	Isolat IV	6.25000*	.98171	.000	2.9469	9.5531
	Isolat V	6.57500*	.98171	.000	3.2719	9.8781
	Isolat VI	6.85000*	.98171	.000	3.5469	10.1531
	Isolat VII	-2.00000	.98171	.533	-5.3031	1.3031
Isolat III	Kontrol Negatif	11.85000*	.98171	.000	8.5469	15.1531
	Kontrol Positif	19.32500*	.98171	.000	16.0219	22.6281
	Isolat I	7.80000*	.98171	.000	4.4969	11.1031
	Isolat II	3.20000	.98171	.063	-.1031	6.5031
	Isolat IV	9.45000*	.98171	.000	6.1469	12.7531
	Isolat V	9.77500*	.98171	.000	6.4719	13.0781
	Isolat VI	10.05000*	.98171	.000	6.7469	13.3531

	Isolat VII	1.20000	.98171	.944	-2.1031	4.5031
Isolat IV	Kontrol Negatif	2.40000	.98171	.301	-.9031	5.7031
	Kontrol Positif	9.87500*	.98171	.000	6.5719	13.1781
	Isolat I	-1.65000	.98171	.752	-4.9531	1.6531
	Isolat II	-6.25000*	.98171	.000	-9.5531	-2.9469
	Isolat III	-9.45000*	.98171	.000	-12.7531	-6.1469
	Isolat V	.32500	.98171	1.000	-2.9781	3.6281
	Isolat VI	.60000	.98171	.999	-2.7031	3.9031
	Isolat VII	-8.25000*	.98171	.000	-11.5531	-4.9469
Isolat V	Kontrol Negatif	2.07500	.98171	.485	-1.2281	5.3781
	Kontrol Positif	9.55000*	.98171	.000	6.2469	12.8531
	Isolat I	-1.97500	.98171	.549	-5.2781	1.3281
	Isolat II	-6.57500*	.98171	.000	-9.8781	-3.2719
	Isolat III	-9.77500*	.98171	.000	-13.0781	-6.4719
	Isolat IV	-.32500	.98171	1.000	-3.6281	2.9781
	Isolat VI	.27500	.98171	1.000	-3.0281	3.5781
	Isolat VII	-8.57500*	.98171	.000	-11.8781	-5.2719
Isolat VI	Kontrol Negatif	1.80000	.98171	.661	-1.5031	5.1031
	Kontrol Positif	9.27500*	.98171	.000	5.9719	12.5781

		Isolat I	-2.25000	.98171	.381	-5.5531	1.0531
		Isolat II	-6.85000*	.98171	.000	-10.1531	-3.5469
		Isolat III	-10.05000*	.98171	.000	-13.3531	-6.7469
		Isolat IV	-.60000	.98171	.999	-3.9031	2.7031
		Isolat V	-.27500	.98171	1.000	-3.5781	3.0281
		Isolat VII	-8.85000*	.98171	.000	-12.1531	-5.5469
Isolat VII		Kontrol Negatif	10.65000*	.98171	.000	7.3469	13.9531
		Kontrol Positif	18.12500*	.98171	.000	14.8219	21.4281
		Isolat I	6.60000*	.98171	.000	3.2969	9.9031
		Isolat II	2.00000	.98171	.533	-1.3031	5.3031
		Isolat III	-1.20000	.98171	.944	-4.5031	2.1031
		Isolat IV	8.25000*	.98171	.000	4.9469	11.5531
		Isolat V	8.57500*	.98171	.000	5.2719	11.8781
		Isolat VI	8.85000*	.98171	.000	5.5469	12.1531
H4	Kontrol	Kontrol Positif	10.87500*	.94190	.000	7.7058	14.0442
	Negatif	Isolat I	-5.80000*	.94190	.000	-8.9692	-2.6308
		Isolat II	-9.82500*	.94190	.000	-12.9942	-6.6558
		Isolat III	-12.45000*	.94190	.000	-15.6192	-9.2808
		Isolat IV	2.55000	.94190	.192	-.6192	5.7192

	Isolat V	-2.37500	.94190	.266	-5.5442	.7942
	Isolat VI	1.37500	.94190	.864	-1.7942	4.5442
	Isolat VII	-13.90000*	.94190	.000	-17.0692	-10.7308
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-10.87500*	.94190	.000	-14.0442	-7.7058
	Isolat I	-16.67500*	.94190	.000	-19.8442	-13.5058
	Isolat II	-20.70000*	.94190	.000	-23.8692	-17.5308
	Isolat III	-23.32500*	.94190	.000	-26.4942	-20.1558
	Isolat IV	-8.32500*	.94190	.000	-11.4942	-5.1558
	Isolat V	-13.25000*	.94190	.000	-16.4192	-10.0808
	Isolat VI	-9.50000*	.94190	.000	-12.6692	-6.3308
	Isolat VII	-24.77500*	.94190	.000	-27.9442	-21.6058
Isolat I	Kontrol Negatif	5.80000*	.94190	.000	2.6308	8.9692
	Kontrol Positif	16.67500*	.94190	.000	13.5058	19.8442
	Isolat II	-4.02500*	.94190	.006	-7.1942	-.8558
	Isolat III	-6.65000*	.94190	.000	-9.8192	-3.4808
	Isolat IV	8.35000*	.94190	.000	5.1808	11.5192
	Isolat V	3.42500*	.94190	.027	.2558	6.5942
	Isolat VI	7.17500*	.94190	.000	4.0058	10.3442
	Isolat VII	-8.10000*	.94190	.000	-11.2692	-4.9308

Isolat II	Kontrol Negatif	9.82500*	.94190	.000	6.6558	12.9942
	Kontrol Positif	20.70000*	.94190	.000	17.5308	23.8692
	Isolat I	4.02500*	.94190	.006	.8558	7.1942
	Isolat III	-2.62500	.94190	.166	-5.7942	.5442
	Isolat IV	12.37500*	.94190	.000	9.2058	15.5442
	Isolat V	7.45000*	.94190	.000	4.2808	10.6192
	Isolat VI	11.20000*	.94190	.000	8.0308	14.3692
	Isolat VII	-4.07500*	.94190	.005	-7.2442	-.9058
Isolat III	Kontrol Negatif	12.45000*	.94190	.000	9.2808	15.6192
	Kontrol Positif	23.32500*	.94190	.000	20.1558	26.4942
	Isolat I	6.65000*	.94190	.000	3.4808	9.8192
	Isolat II	2.62500	.94190	.166	-.5442	5.7942
	Isolat IV	15.00000*	.94190	.000	11.8308	18.1692
	Isolat V	10.07500*	.94190	.000	6.9058	13.2442
	Isolat VI	13.82500*	.94190	.000	10.6558	16.9942
	Isolat VII	-1.45000	.94190	.827	-4.6192	1.7192
Isolat IV	Kontrol Negatif	-2.55000	.94190	.192	-5.7192	.6192
	Kontrol Positif	8.32500*	.94190	.000	5.1558	11.4942
	Isolat I	-8.35000*	.94190	.000	-11.5192	-5.1808

	Isolat II	-12.37500*	.94190	.000	-15.5442	-9.2058
	Isolat III	-15.00000*	.94190	.000	-18.1692	-11.8308
	Isolat V	-4.92500*	.94190	.000	-8.0942	-1.7558
	Isolat VI	-1.17500	.94190	.938	-4.3442	1.9942
	Isolat VII	-16.45000*	.94190	.000	-19.6192	-13.2808
Isolat V	Kontrol Negatif	2.37500	.94190	.266	-.7942	5.5442
	Kontrol Positif	13.25000*	.94190	.000	10.0808	16.4192
	Isolat I	-3.42500*	.94190	.027	-6.5942	-.2558
	Isolat II	-7.45000*	.94190	.000	-10.6192	-4.2808
	Isolat III	-10.07500*	.94190	.000	-13.2442	-6.9058
	Isolat IV	4.92500*	.94190	.000	1.7558	8.0942
	Isolat VI	3.75000*	.94190	.012	.5808	6.9192
	Isolat VII	-11.52500*	.94190	.000	-14.6942	-8.3558
Isolat VI	Kontrol Negatif	-1.37500	.94190	.864	-4.5442	1.7942
	Kontrol Positif	9.50000*	.94190	.000	6.3308	12.6692
	Isolat I	-7.17500*	.94190	.000	-10.3442	-4.0058
	Isolat II	-11.20000*	.94190	.000	-14.3692	-8.0308
	Isolat III	-13.82500*	.94190	.000	-16.9942	-10.6558
	Isolat IV	1.17500	.94190	.938	-1.9942	4.3442



	Isolat V	-3.75000*	.94190	.012	-6.9192	-.5808	
	Isolat VII	-15.27500*	.94190	.000	-18.4442	-12.1058	
	Isolat VII	Kontrol Negatif	13.90000*	.94190	.000	10.7308	17.0692
		Kontrol Positif	24.77500*	.94190	.000	21.6058	27.9442
	Isolat I	8.10000*	.94190	.000	4.9308	11.2692	
	Isolat II	4.07500*	.94190	.005	.9058	7.2442	
	Isolat III	1.45000	.94190	.827	-1.7192	4.6192	
	Isolat IV	16.45000*	.94190	.000	13.2808	19.6192	
	Isolat V	11.52500*	.94190	.000	8.3558	14.6942	
	Isolat VI	15.27500*	.94190	.000	12.1058	18.4442	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 11 Dokumentasi Penelitian

L.11.1 Preparasi Sampel



Gambar 1. Sampel basah yang belum dipotong-potong



Gambar 2. Sampel basah yang telah dipotong-potong



Gambar 3. Sampel kering yang telah dihaluskan

L.11.2 Ekstraksi



Gambar 4. Ekstraksi dengan pelarut metanol



Gambar 5. Pemisahan pelarut dengan *Rotary evaporator*



Gambar 6. Pengocokan menggunakan shaker



Gambar 7. Ekstraksi dengan pelarut kloroform pada tahap 1



Gambar 8. Ekstraksi dengan pelarut kloroform pada tahap 2



Gambar 9. Hasil ekstrak alkaloid

L.11.3 Uji Fitokimia



Gambar 10. Uji alkaloid ekstrak alkaloid dengan pereaksi Mayer



Gambar 11. Uji alkaloid ekstrak alkaloid dengan pereaksi Dragendorff

L. 11.4 Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 12. Elusi Senyawa Alkaloid (KLTA)



Gambar 13. KLTP Senyawa Alkaloid

L.11.5 Uji Antimalaria Isolat Aktif Senyawa Alkaloid



Gambar 28. Pemeliharaan hewan uji



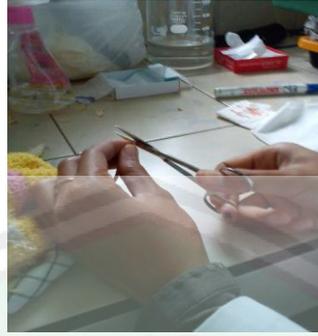
Gambar 29. Pembiusan mencit donor



Gambar 30. Proses pembedahan mencit



Gambar 31.
Pengambilan darah
jantung mencit



Gambar 32.
Pengambilan
darah ujung ekor



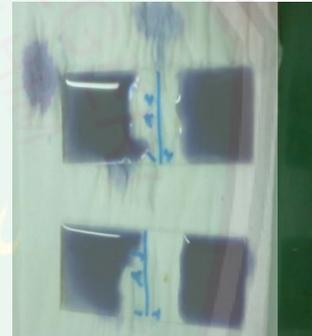
Gambar 33.
Pemberian bahan uji



Gambar 34.
Membuat hapusan preparat



Gambar 35.
Penambahan metanol



Gambar 36.
Pewarnaan dengan
giemsa



Gambar 39.
Proses dikering anginkan



Gambar 40.
Pengamatan di bawah
mikroskop