POTENSI ANTIMALARIA KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN WIDURI *(Calotropis gigantea)* DAN ARTEMISIN PADA MENCIT TERINFEKSI *Plasmodium berghei* SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA

SKRIPSI

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

Oleh :
Asnal Fatati
NIM. 10630052

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

SURAT PERNYATAAN

ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Asnal Fatati

NIM : 10630052

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Potensi Antimalaria Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Widuri *(Calotropis gigantea)* dan Artemisin Pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya

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 Juli 2014

Yang Membuat Pernyataan,

Asnal fatati

NIM. 10630052

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

POTENSI ANTIMALARIA KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN WIDURI *(Calotropis gigantea)* DAN ARTEMISIN PADA MENCIT TERINFEKSI *Plasmodium berghei* SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA

SKRIPSI

Oleh:
ASNAL FATATI
NIM. 10630052

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 7 Juli 2014

Pembimbing I	Pembimbing II
Elok Kamilah Hayati, M.Si	Ach. Nasichuddin, M.Ag
NIP. 19790620 200604 2 002	NIP. 19730705 200003 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains danTeknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

POTENSI ANTIMALARIA KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN WIDURI *(Calotropis gigantea)* DAN ARTEMISIN PADA MENCIT TERINFEKSI *Plasmodium berghei* SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA

SKRIPSI

Oleh:
ASNAL FATATI
NIM. 10630052

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 7 Juli 2014

Penguji Utama	: A.Ghanaim Fasya, M.Si NIP.19820616 200604 1 002	(.....)
Ketua Penguji	: Anik Maunatin NIPT. 20140201 2 412	(.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Anggota Penguji	: Ach. Nasichuddin, M.Ag NIP. 19730705 200003 1 002	(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains danTeknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lembar Persembahan

Kupersembahkan karya terbaikku ini kepada:

Kedua orang tuaku buya Muzammil dan Ibu Asiyah yang telah melahirkan, membesarkan, membimbing, dan mendidikku hingga aku menjadi lebih baik. Semoga Allah selalu melimpahkan kasih sayang-Nya kepada kalian. Amien...

Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu2 yang sangat bermanfaat, terutama kepada Bu Elok dan Bu Ikha yang selalu membimbingku dalam pengerjaan skripsi ini.

Uri unnie Hikmah and Nisa, thanks to you that always give support

Uri cinggu kimia angkatan 2010 and EXOSTAN Thaks for All....

Semoga kalian semua selalu dilindungi Allah ... Amien....

'In memoriam mencit *Mus musculus* terimakasih telah mengorbankan hidup kalian untukku...'

"니가좋아너무좋아내모든걸주고싶어"

a day to remember

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah Swt. karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis mampu menyelesaikan penelitian dengan judul **"Potensi Antimalaria Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Widuri *(Calotropis gigantea)* Dan Artemisin Pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium Berghei* Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya"** ini dengan baik. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku dosen pembimbing tugas akhir yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi terselesainya tugas ini.
2. Ibu Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, selaku dosen konsultan yang telah memberikan masukan demi penyususnan tugas akhir ini.
3. Teman-teman (Fiisyatirodiyah) yang telah banyak membantu dalam pengumpulan referensi di bidang penelitian yang sama.
4. Teman-teman seangkatan Kimia 2010 terutama teman-teman Kimia B yang saling memberikan semangat dalam menyelesaikan tugas ini.
5. Serta pihak-pihak yang telah membantu penulis yang tidak mungkin disebutkan satu per satu.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Penulis menyadari bahwa tugas akhir penelitian ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik serta saran atas kekurangan dari tugas akhir ini akan diterima dengan senang hati. Semoga dengan tersusunnya tugas akhir ini dapat memberikan manfaat dan masukan bagi kita semua.

Malang, Juli 2014

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
SURAT PERNYATAAN ..... **ii**
LEMBAR PERSETUJUAN ..... **iii**
LEMBAR PENGESAHAN ..... **iv**
LEMBAR PERSEMBAHAN ..... **v**
HALAMAN MOTTO ..... **vi**
KATA PENGANTAR ..... **vii**
DAFTAR ISI ..... **ix**
DAFTAR TABEL ..... **xii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xiv**
ABSTRAK ..... **xv**

BAB I PENDAHULUAN
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 5
1.3. Tujuan Penelitian 6
1.4. Batasan Masalah 6
1.5. Manfaat Penelitian 6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA
2.1. Pemanfaatan Tanaman Dalam Al quran 8
2.2. Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) 10
2.2.1. Deskripsi Umum Tanaman Widuri 10
2.2.2. Klasifikasi Umum Tanaman Widuri 11
2.2.3. Morfologi Tanaman Widuri 12
2.2.4. Kandungan Kimia Tanaman Widuri 13
2.3. Malaria 13
2.3.1. Patogenesis Malaria 13
2.3.2. Diagnosis Malaria 14
2.3.3. Jenis-Jenis dan Pencegahan Malaria 15
2.3.4. Efek Penggunaan Obat Malaria Campuran/Kombinasi 16
2.3.5. Resistensi Obat Malaria 19
2.4. *Plasmodium berghei* 18
2.5. Hewan Uji 20
2.6. Ekstraksi Senyawaan Antimalaria 21
2.6.1. Ekstraksi Maserasi 22
2.7. Metabolit Sekunder pada Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) 23
2.7.1. Senyawa Alkaloid 23

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.7.2. Senyawa Flavonoid 24
2.7.3. Senyawa Terpenoid 25
2.7.4. Senyawa Saponin..... 26
2.7.5. Senyawa Tannin 26
2.7.6. Senyawa Steroid 27
2.8. Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis 29

BAB III METODE PENELITIAN
3.1.Waktu dan Tempat Penelitian 31
3.2. Alat dan Bahan Penelitian 31
3.2.1. Alat 31
3.2.2. Bahan..... 32
3.3. Rancangan Penelitian 33
3.4. Tahapan Penelitian 34
3.5. Pelaksanaan Penelitian 34
3.5.1. Analisa Kadar Air 34
3.5.2. Preparasi Sampel 36
3.5.3. Ekstraksi Golongan Senyawa dengan Metode Maserasi 36
3.5.4. Uji Antimalaria 37
3.5.4.1. Persiapan Hewan Coba..... 37
3.5.4.2. Perlakuan Hewan Coba 37
3.5.4.3. *Freezing* dan *Thawing* Isolat *Plasmodium berghei* 40
3.5.4.4. Pembuatan Mencit Donor 40
3.5.4.5. Inokulasi *Plasmodium berghei* 41
3.5.4.6. Pengukuran Derajat Parasitemia 41
3.5.5. Uji Fitokimia..... 43
3.5.5.1. Uji Flavonoid..... 43
3.5.5.2. Uji Alkaloid..... 43
3.5.5.3. Uji Terpenoid 43
3.5.5.4. Uji Tannin..... 44
3.5.5.5. Uji Saponin..... 44
3.5.6. Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLT 44
3.5.6.1. Kromatografi Lapis Tipis Analitik 44
3.6. Analisis Data 47
3.7. Rencana Kerja 49

BAB IV HASIL DAN PEBAHASAN
4.1 Analisis Kadar Air 50
4.2 Preparasi Sampel 52
4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi 54
4.4 Aktivitas Antimalaria Kombinasi Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) dan Artemisin pada Mencit Jantan Galur Balb/C..... 57

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.5 Uji Fitokimia dengan Reagen 70
4.5.1 Steroid..... 70
4.5.2 Tanin 72
4.6 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik 74
4.6.1 Steroid..... 77
4.6.2 Tanin 80
4.7 Pemanfaatan Tanaman Widuri dalam Prespektif Islam 84

BAB V PENUTUP
5.1 Kesimpulan 86
5.2 Saran 86

DAFTAR PUSTAKA 87

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Tabel Pengamatan Derajat Parasitemia 39
Tabel 3.8 Rencana Kerja 49
Tabel 4.1 Hasil Maserasi Serbuk Daun Widuri (*Calotropis gigantea*)..... 56
Tabel 4.2 Rata-Rata Derajat Parasitemia Ekstrak Daun Widuri 58
Tabel 4.3 Rata-Rata Nilai Persen dan Probit Penghambatan Parasit Hari ke-4 Ekstrak Etanol 80% pada Tiap-Tiap Penghambatan 68
Tabel 4.4 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 80% Daun Widuri 70
Tabel 4.5 Variasi Eluen dan Hasil Penampakan Noda pada Pemisahan Senyawa Steroid Ekstrak Etanol 80% Daun Widuri 77
Tabel 4.6 Hasil KLT senyawa steroid eluen heksana : aseton (3,5 : 1,5) 79
Tabel 4.7 Variasi Eluen dan Hasil Penampakan Noda pada Pemisahan Senyawa Tanin Ekstrak Etanol 80% Daun Widuri 81
Tabel 4.8 Hasil KLT senyawa tanin eluen kloroform : metanol : air (7 : 3 : 4)..... 82
Tabel L.1 Perlakuan Masing-Masing Kelompok 97
Tabel L.2 Jenis-Jenis Fase Gerak dan Pendeteksi Uji KLT Untuk Metabolit Sekunder 105
Tabel L.5.1 Kadar Air Basah 124
Tabel L.5.2 Kadar Air Kering 126
Tabel L.7.1 Hasil Pengujian % parasit dalam 4 Hari Perlakuan 128
Tabel L.7.2 Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria 130
Tabel L.7.3 Perhitungan % Parasitemia 131
Tabel L.7.4 Presentase Penghambatan Parasitemia Mencit pada Hari ke-4 133

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*)..... 11
Gambar 2.2 Daun Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*) 12
Gambar 2.3 Dugaan Mekanisme Reaksi Steroid dengan Reagen Lieberman Burchard (Burke, 1974) 28
Gambar 4.1 Grafik Derajat Parasitemia Kelompok Perlakuan Ekstrak Daun Widuri 59
Gambar 4.2 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Kelompok Kontrol (-) / Tanpa Terapi Pada Hari Ke-0, Hari Ke-1, Hari Ke-2, Hari Ke-3, Dan Hari Ke-4, Dengan Pengamatan Mikroskop Perbesaran 400x 61
Gambar 4.3 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Kelompok Positif (+) / Artemisin Pada Hari Ke-0, Hari Ke-1, Hari Ke-2, Hari Ke-3, Dan Hari Ke-4, Dengan Pengamatan Mikroskop Perbesaran 400x 62
Gambar 4.4 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Kelompok Kombinasi Ekstrak Daun Widuri Dosis 10 mg/KgBB dan artemisisn dosis ¼ (4 mg/KgBB) Pada Hari Ke-0, Hari Ke-1, Hari Ke-2, Hari Ke-3, Dan Hari Ke-4, Dengan Pengamatan Mikroskop Perbesaran 400x 63
Gambar 4.5 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Kelompok Kombinasi Ekstrak Daun Widuri Dosis 1 mg/KgBB dan artemisisn dosis ¼ (4 mg/KgBB) Pada Hari Ke-0, Hari Ke-1, Hari Ke-2, Hari Ke-3, Dan Hari Ke-4, Dengan Pengamatan Mikroskop Perbesaran 400x 65
Gambar 4.6 Gambaran Eritrosit Terinfeksi Kelompok Kombinasi Ekstrak Daun Widuri Dosis 0,1 mg/KgBB dan artemisisn dosis ¼ (4 mg/KgBB) Pada Hari Ke-0, Hari Ke-1, Hari Ke-2, Hari Ke-3, Dan Hari Ke-4, Dengan Pengamatan Mikroskop Perbesaran 400x 66
Gambar 4.7 Contoh Reaksi Sitosterol dengan Reagen Liebermann Burchard 72
Gambar 4.8 Dugaan Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$..... 74
Gambar 4.10 Hasil KLT Senyawa Steroid Ekstrak Etanol 78
Gambar 4.11 Hasil KLT Senyawa Tanin Ekstrak Etanol 82

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tahapan Penelitian 92
Lampiran 2 Skema Kerja 93
Lampiran 3 Pembuatan Bahan 107
Lampiran 4 Perhitungan Parsit dan Dosis Obat 115
Lampiran 5 Data Pegukuran Kadar Air Sampel Daun Widuri 124
Lampiran 6 Perhitungan Rendemen 127
Lampiran 7 Hasil Pengujian Antimalaria 131
Lampiran 8 Data Uji Statistik 134
Lampiran 9 Dokumentasi 136

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Fatati, Asnal. 2014. **Potensi Antimalaria Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Widuri *(Calotropis gigantea)* dan Artemisin Pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya.** Tugas akhir/skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Elok Kamilah Hayati, M. Si. (II) Roihatul Muti'ah, M.Kes.

Keywords: *Calotropis gigantea, antimalaria, kombinasi, artemisin, **Plasmodium berghei***

Widuri (*Calotropis gigantea)* merupakan salah satu tanaman liar yang sedikit dimanfaatkan oleh orang lain. Hingga saat ini, dilaporkan tanaman widuri memiliki manfaat sebagai antibakteri dan *antiinflamasi.* Daun Widuri (*Calotropis gigantea)* merupakan salah satu tanaman yang mempunyai komponen bioaktif sebagai antimalaria. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimalaria dari kombinasi ekstrak etanol 80% daun widuri (*Calotropis gigantea*) dan artemisin serta untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dari ekstrak etanol 80% dari daun widuri (*Calotropis gigantea*) berdasarkan uji reagen yang diperkuat dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Penelitian ini terdiri dari ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi. Proses ekstraksi ini dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Ekstrak yang didapatkan diujikan antimalaria *in vivo* dengan menggunakan mencit *(Mus musculus).* Mencit diinfeksikan dengan *Plasmodium berghei* ANKA 10^6 secara peritonial dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif; kontrol positif (artemisin dosis 4 mg/KgBB); kombinasi artemisin (1/4 dosis artemisin standar) dan ekstrak widuri dengan dosis: 0,1 mg/KgBB; 1 mg/KgBB and 10 mg/KgBB. Data derajat parasitemia dianalisis dengan menggunakan program SPSS dengan *two way* ANOVA dan tes *tukey*.

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah bahwa kombinasi ekstrak widuri dosis 10 mg/KgBB memiliki aktivitas antimalaria lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif. Nilai Penghambatan yang dihasilkan adalah 55,2% (0.1 mg/KgBB) ; 72,8% (1 mg/KgBB) ; 87,3% (10 mg/KgBB) and 56,06% mg/KgBB (kontrol positive /artemisin). Senyawa yang aktif dari uji fitokimia adalah steroid dan tanin. Hasil yang diperoleh dari uji fitokimia juga diperkuat dengan uji KLT. Pemisahan KLT pada steroid menghasilkan spot berwana ungu kemerahan dengan Rf 0,26-0,6 (heksana : aseton = 3,5 : 1,5) dan tanin menghasilkan spot berwarna hijau kehitaman dengan Rf 0,62 (kloroform : metanol : air = 7 : 3 : 0,4).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Fatati, Asnal. 2014. **Combination of *Calotropis gigantea* Radix Extract and Artemisin as an Antimalarial Agent Against *Plasmodium berghei.*** Theses. Chemistry Programme Faculty of Science and Technology The State of Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang.
Promotor: (I) Elok Kamilah Hayati, M. Si
(II) Roihatul Muti'ah, M.Kes

Calotropis gigantea radix is one of wild plant which hasn't usefull for human. It's has reported that *Calotropis gigantea* can used to antibacteria and antiinflamation. *Calotropis gigantea* radix has a bioactive component as antimalarial. The purpose of this research are to know antimalarial activity from combination of *Calotropis gigantea* radix extract and artemisin and to know the active compounds that contained from ethanol extract of *Calotropis gigantea* radix with reagent test and TLC (Thin Layer Chromatography).

The research consist of extraction of *Calotropis gigantea* radix was done with extraction maseration method. Extraction was performed by maseration with 80% ethanol solvent. Concentrated extract was *in vivo* antimalarial tested to animal model. Mice were peritoneal infected with 10^6 *Plasmodium berghei* ANKA and divided into 5 treatment groups: negative control; positive control (artemisin of dose 4 mg/kgBW); combination of artemisin (1/4 dose of artemisin standar) and *Calotropis gigantea* in 3 doses: 0,1 mg/KgBW; 1 mg/KgBW and 10 mg/KgBW. Data of inhibition was analyzed using SPSS program with *Two Way* ANOVA Test dan continued with Tukey Test.

The result shows that combination of *Calotropis gigantea* radix extract and artemisin with dose 10 mg/KgBB has higher antimalarial activity than positive control (artemisin). The value of parasite inhibition is 55,2% for dose 0.1 mg/KgBW ; 72,8% for dose 1 mg/KgBW ; 87,3% for dose 10 mg/KgBW and 56,06 mg/KgBW for positive control (artemisin). The phytochemical compounds in 80% ethanol solvent extract are tannins and steroids. It is also supported by the results using the TLC separation, the separation of steroid compounds that produce a reddish purple color with Rf 0.22; 0.26; 0.33; 0.38; 0.49 and 0.6 and tannin produces purple-black color with Rf 0.62.

Keywords: *Calotropis gigantea, antimalaria, combination, artemisin,* ***Plasmodium berghei***

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

مستخلص البحث

فتاتي, أسنال.٢٠١٤. قوة علاج الحمي ضم الإنتاج ايتانول ثمانون بمائة من ورقة الويدوري وارتيميسين على الفأر الإعداء فلاسموديوم بركيي وتعيين الإتحاد الكلي العملي. بحث العلمي. قسم الكمياء كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة : ايلوك كاملة حياتي الماجستيرة ورائحة المطيعة الماجستيرة.

الكلمات الأساسية: كلوترافيس كيكانتيا، ضمّ، ارتيميسين، بفلاسموديوم بركيي

ورقة الويدوري (كلوترافيس كيكانتيا) احد من النبات وحشيّ وأحيانا الإستفادة الناس، حتى الآن ورقة الويدوري لدي الفائدة هى كعلاج الجراثيم و كعلاج الورم. ورقة الويدوري (كلوترافيس كيكانتيا) هو احدى من النبات التي تتكون من بيوأكتيف لعلاج الحمي. وأهداف هذا البحث هو لمعرفة عملية علاج الحمي من ضم الإنتاج ايتانول ثمانون بمائة من ورقة الويدوري وارتيميسين ولمعرفة فرقة بقصد واحد عملي الذي يتضمن من ايتانول ثمانون بمائة من ورقة الويدوري يتأسس باختبار رياكون يقوي با كرامطوكرافي لافيس رقيق.

هذا البحث يتكون من عملية الإنتاج التي تعمل بطريقة النقع. وغملية الإنتاج باستخدام محلول ايتانول ثمانون بمائة وينال هذا الإنتاج وتقييم علاج الحمي اين فيفو باستخدام فأر.إعداد فأر بفلاسموديوم بركيي انكا بقدر ١٠ ٦ بطريقة فريطونيال ويقسم إلى خمس فرق. الفرقة الظابطة السلبية والظابطة الإيجابية (ارتيميسين جرعة ٤ مثقال بدنية mg/Kg وضم ارتيميسين

(¼ من جرعة ارتيميسين معياري) و انتاج ويدوري بجرعة: ٠،١ مثقال بدنية mg/Kg و مثقال بدنية ١٠mg/Kg . وتحليل البيانات من الدرجة فراسيتوميا باستخدام البرامج الإخصائي بطريقة ثانية انوفا و اختبار توكي.

ونتيجة هذا البحث هي: ضم الإنتاج من ورقة الويدوري بجرعة ١٠ مثقال بدنية mg/Kg لها عملية علاج الحمي اكثر من فرقة الظابطة الإيجابية. والقيمة العائقة المنتاجة هي : ٥٥، ٢% (٠،١ مثقال بدنية mg/Kg : ٧٢،٨ % (١٠ مثقال بدنية mg/Kgو٥٦،٠٦ % مثقال بدنية mg/Kgمن ظابطة الإيجابية). الإتحاد الكمي العملي من تجربة فينوكميا هو ستراييد وتنين. والمنتاج من تجربة فيتوكيميا يقوى تجربة با كرامطوكرافي لافيس رقيق. التفريق كرامطوكرافي لافيس رقيق عللا ستراييد ينتاج بقعة لونها بنفسجي حمراء با Rf٠،٢٦-٠،٠٦ (هكسانا: اسيتون= ٣،٥: ١،٥) و تنين ينتاج بقعة لونها أسود با Rf ٠،٢٦ (كلوروفورم: موتانول : ماء= ٤,٠:٣:٧).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman flora paling banyak kedua di dunia setelah Brazil. Hal ini ditunjang dari letak geografis Indonesia yang sangat strategis. Indonesia juga termasuk salah satu negara yang banyak menggunakan obat-obat alamiah (herbal), baik digunakan dalam bentuk tradisisonal (jamu) maupun dalam bentuk modern (seperti pil dan kapsul). Pada saat ini, gaya hidup kembali ke alam *(back to nature)* menjadi sangat populer. Tren ini membawa masyarakat untuk lebih menggunakan bahan-bahan alam sebagai pengobatan. Hal ini ditunjang dari beberapa faktor, yakni selain lebih ekonomis, mudah didapat dan efek samping ramuan herbal yang ditimbulkan pun sangat sedikit.

Makhluk hidup diciptakan pasti mempunyai manfaat untuk makhluk hidup yang lain dan tidak ada di dunia ini yang diciptakan secara sia-sia. Seperti halnya tumbuhan dan binatang pasti mempunyai khasiat dan manfaat masing-masing. Tumbuhan dapat digunakan sebagai obat dalam menyembuhkan segala macam penyakit. Seperti yang terkandung dalam riwayat Muslim (Jauziyah, 1994) yang artinya:

Dari Jabir bi Abdillah Ra, dari Nabi SAW, beliau bersabda: setiap penyakit ada obatnya, apabila penyakit telah bertemu dengan obatnya, maka penyakit itu akan sembuh atas izin Allah Azza Wa Jalla (H.R. Muslim).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Salah satu penyakit yang cukup banyak terjangkit di Indonesia adalah malaria. Hal ini dikarenakan Indonesia merupakan wilayah tropis. Malaria adalah penyakit parasit menular dan mewabah yang banyak diderita masyarakat di wilayah tropis dan subtropis, terutama di daerah rawa. Malaria merupakan infeksi oleh protozoa yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Jenis protozoa yang terdapat pada penyakit malaria adalah jenis *Plasmodium* yang bersarang dalam sel darah merah. Ada empat jenis *plasmodium* yang menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falcifarum, Plasmodium vivax, Plasmodium Malariae* dan *Plasmodium ovale.*

Terapi malaria yang direkomendasikan adalah terapi kombinasi dua atau lebih obat antimalaria yang dapat meningkatkan efektivitas dan mencegah berkembangnya resistensi (Ratcliff *et al.,* 2007). WHO (2000), telah menyarankan *Artemesine Based Combination* (ACT) sebagai obat pada terapi malaria. Artemisin adalah senyawa seskuiterpen lakton hasil isolasi dari tanaman *Artemisia annua.* Kombinasi antimalaria dan turunannya memberikan efektifitas terapi hingga 100 % selama 3 hari pengobatan.

Artemisin merupakan obat yang dapat teradsopsi dengan baik dan mempunyai reaksi yang sangat cepat. Menurut Sukarban *et al.,* (1995) dalam Hayati dan Muti'ah (2011), Kelemahan dari artemisin ini adalah memerlukan waktu pengobatan lama apabila pengobatan hanya menggunakan obat artemisin (*monotherapy*). Penggunaan artemisin direkomendasikan dalam bentuk kombinasi dengan obat lain (ACT) agar tidak terjadi rekrudesensi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kombinasi antimalaria standart dengan ekstrak bahan alam masih jarang dilakukan, padahal bahan alam merupakan sumber bahan antimalaria. Menurut penelitian Hafid dkk,. (2011) terdapat aktivitas terapi malaria dari kombinasi ekstrak etanol 80 % kulit batang cempedak (*Artocarpus Champeden* Spreng.) dan artesunat. Pada penelitian tersebut didapatkan persen penghambatan parasit yang paling tinggi terjadi pada kombinasi terapi ekstrak etanol daun cempedak 100 mg/Kg BB dan artesunat 36,4 mg/Kg BB.

Saat ini usaha penemuan dan pengembangan senyawa kimia antimalaria baru serta pemanfaatan obat telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah penelitian Hayati (2012), menggunakan ekstrak etil asetat tanaman anting-anting sebagai antimalaria menunjukkan hasil yang cukup signifikan dalam menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium berghei.* Sedangkan dalam penelitian Muti'ah (2012), dengan sampel batang talikuning (*Anamirta cocculus*) menggunakan pelarut etanol 80 % yang mana menghasilkan nilai ED_{50} sebesar 4,7 mg/Kg, dimana mampu melakukan penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei.* Hal ini diduga karena *crude* ekstrak batang talikuning mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan parasit yaitu alkaloid berberine. Suatu senyawa antimalaria dikatakan mempunyai aktivitas yang sangat bagus apabila mempunyai nilai ED_{50} kurang dari 10 mg/Kg manusia (Herintsoa, *et al*., 2010).

Ngibad (2013), menujukkan bahwa penggunaan kombinasi lebih maksimal dari pada penggunaan ekstrak tunggal. Hal ini ditunjang dari nilai ED_{50} yang didapatkan dari kombinasi tanaman anting-anting dan tanaman bunga matahari

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sebagai antimalaria adalah lebih kecil dari pada ekstrak tunggalnya yakni 1,23 mg/Kg. Sedangkan penggunaan ekstrak tunggal pada tanaman anting-anting didapatkan nilai ED_{50} 6,3 mg/Kg dan untuk ekstrak tanaman bunga matahari adalah 4,64 mg/Kg.

Telah banyak dilakukan penelitian terhadap tanaman-tanaman yang memiliki khasiat sebagai antimalaria. Salah satunya adalah tanaman widuri (*Calotropis gigantea*). Tanaman widuri *(Calotropis gigantea)* merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Tanaman widuri termasuk familia *Asclepiadaceae* yang daunnya berbau lemah dan rasanya pahit. Bentuk daun memanjang atau bulat telur terbalik dengan ukuran daun sekitar 8 cm sampai 30 cm dan lebarnya sekitar 4 cm sampai 15 cm, tangkai daun sangat pendek, dengan bulu-bulu memenuhi helaian-helaian daun. Daun widuri mengandung saponin, flavonoida, alkaloid, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat. Widuri mengandung getah yang membahayakan. Apabila getah tersebut terkena mata maka dapat menyebabkan berkurangnya penglihatan bahkan kebutaan.

Berdasarkan penelitian Mudi dan A. Bukar (2011), tanaman *Calotropis procera* memiliki aktifitas antimalaria. Adapun nilai LC_{50} yang didapatkan adalah cukup bagus yakni 7,12 µg/mL. Pada peneltian tersebut didapatkan metabolisme sekunder terbanyak adalah alkaloid, steroid, tannin dan flavonoid. Berdasarkan hal tersebut dapat diindikasikan bahwa *Calotropis gigantea* sebagai tanaman satu famili dengan *Calotropis procera*, juga mempunyai aktifitas antimalaria yang sama.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Identifikasi senyawa aktif antimalaria pada daun widuri (*Calotropis gigantea*) ini dilakukan karena widuri (*Calotropis gigantea)* sebagai tanaman liar yang kurang mempunyai nilai dan kurang termanfaatkan. Penelitian ini dilakukan secara in vivo dengan menggunakan tikus putih sebagai objek yang akan di infeksi oleh penyakit malaria serta menggunakan daun widuri yang diekstrak oleh pelarut etanol.

Pelarut etanol merupakan pelarut yang mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak (senyawa dalam tanaman widuri) lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain, diantara senyawa tersebut adalah flavonoid, triterpenoid (Halimah, 2010), alkaloid, tannin, saponin, glikosida, protein dan fenol (Inbaneson *et al., 2012*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah interaksi hari dan dosis terapi kombinasi ekstrak etanol 80 % daun widuri *(Calotropis gigantea)* dan artemisin mempunyai efek sebagai obat antimalaria?,
2. Golongan senyawa aktif apa yang terkandung pada ekstrak etanol 80 % dari daun widuri (*Calotropis gigantea*) berdasarkan uji reagen yang diperkuat dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)?.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek dari interaksi hari dan dosis terapi kombinasi ekstrak etanol 80 % daun widuri *(Calotropis gigantea)* dan artemisin sebagai antimalaria,
2. Untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol 80 % dari daun widuri (*Calotropis gigantea*) berdasarkan uji reagen yang diperkuat dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat untuk:

1. Memperkaya ilmu pengetahuan, khususnya yang berkaitan dengan aktivitas antimalaria pada daun widuri *(Calotropis gigantea)* sebagai tanaman liar yang kurang bermanfaat,
2. Sebagai informasi untuk penelitian lebih lanjut, khususnya tentang adanya senyawa aktif antimalaria yang terdapat pada tanaman.

1.5 Batasan Masalah

1. Daun widuri *(Calotropis gigantea)* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari kota Pasuruan,
2. Artemisin yang digunakan merupakan artemisin sintetik atau obat,
3. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah pelarut etanol,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Mencit yang digunakan adalah mencit mencit *(Mus musculus)* galur Balbc jenis kelamin jantan umur 8-12 minggu.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman Dalam Al Quran

Makhluk hidup diciptakan pasti mempunyai manfaat untuk makhluk hidup yang lain dan tidak ada di dunia ini yang diciptakan secara sia-sia. Semua makhluk hidup dan tak hidup di alam semesta diliputi oleh tanda-tanda yang menunjukkan bahwa mereka semua diciptakan. Manusia sebagai makhluk yang berakal bertanggung jawab untuk mengenali tanda-tanda ini. Oleh karena itu Allah SWT menyuruh kita untuk terus menerus mempelajarinya, menelaah keterangan dan tujuannya, sehingga bisa mendapatkan kejelasan ilmu pengetahuan dan manfaatnya.

Kajian ilmu pengetahuan tentang pemanfaatan tumbuhan juga telah diterapkan pada zaman Rasulullah. Beliau memanfaatkan beberapa tanaman sebagai obat, seperti kurma, rumput rawa, jinten hitam, bawang merah, jeruk sitrun, buah plum, melon, kacang polong, dan masih banyak yang lainnya (as-Suyuthi, 1997). Hal tersebut menjadi dasar dunia modern untuk mengkaji dan meneliti tentang tumbuhan baik dari segi bentuk, manfaat, dan kegunaan sebagai salah satu wujud dalam mempelajari dan menelaah isi al Quran. Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Seperti firman Allah yang tertuang dalam surat asy Syu'ara ayat 7:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

أَوَلَمۡ يَرَوۡاْ إِلَى ٱلۡأَرۡضِ كَمۡ أَنۢبَتۡنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوۡجٖ كَرِيمٍ ۝٧

*"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya **Kami** tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik" (QS. asy Syu'ara).*

Kata *ar-ru'yah* bermakna meihat dengan mata, apabila bersambung dengan *ilaa*. Kata ini menganjurkan kepada manusia untuk mengkaji lebih dalam terhadap sesuatu yang telah ditumbuhkan oleh Allah. *Az-zauj* adalah jenis. *Al kariim* adalah yang indah bentuknya atau jenisnya. Dan *kam* artinya berapa banyak, yaitu kalimat untuk menanyakan jumlah sedangakan *min* bermakna sebagian bukan keseluruhan (Jazairi, 2008).

Ayat tersebut mempertegas bahwa terdapat bukti kekuasaan Allah dan kemampuan-Nya dalam menciptakan sesuatu dari jenis yang mulia (Mahalli dan Suyuti, 2009). Dan menghidupkan berbagai macam tumbuhan yang baik dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Ayat tersebut secara tidak langsung adalah menyuruh untuk tidak terus menerus tenggelam dalam kekufuran terhadap Allah, yang tidak berpikir tentang berbagai keajaiban kekuasaan-Nya, tidak pula memperhatikan bumi dengan berbagai jenis, bentuk dan warna tumbuhan-tumbuhannya yang membuktikan kekuasaan Allah Yang Maha Tinggi dan Maha Besar (Maraghi, 1993). Sehingga sebagai hamba Allah seharusnya selalu bersyukur terhadap karunia dan nikmat-Nya yang telah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menciptakan bumi dan menumbuhkan didalamnya tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanam-tanaman, buah-buahan dan hewan (Katsir, 2006).

Dunia tumbuh-tumbuhan yang diciptakan oleh Allah tidak hanya penuh dengan buah-buahan dan hasil panennya, tetapi juga menjaga keseimbangan dan pola kehidupan alam yang tetap. Semua tumbuhan yang diciptakan memiliki jenis, susunan maupun bentuk yang berbeda dengan tumbuhan lainnya. Begitu pula dengan manfaat yang di hasilkan juga berbeda- beda. Misalnya tanaman padi maupun jagung yang digunakan sebagai sumber makanan pokok.

2.2 Tanaman Widuri *(Calotropis Gigantea)*

2.2.1 Deskripsi Umum Tanaman Widuri

Tanaman widuri *(Calotropis gigantea)* merupakan tanaman liar yang sangat sulit untuk dibasmi karena perkembangbiakannya yang cepat. Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (2005), biduri adalah pohon yang seratnya dapat dijadikan pakaian; Calotropis gigantea. Tanaman .ini tersebar di seluruh Asia Tenggara, biasanya tumbuh di tanah yang kurang subur, padang rumput kering dari lereng-lereng gunung yang rendah, serta di pantai.

Tanaman ini juga tersebar diberbagai daerah di Indonesia dengan nama-nama yang berbeda pula. Misalnya di Sumatera, tanaman biduri dikenal dengan nama rubik, biduri, lembega, rembega, rumbigo, di Jawa: babakoan, badori, biduri, widuri, saduri, sidoguri, bidhuri, burigha, di Bali: Manori, maduri. Nusa Tenggara: muduri, rembiga, kore, krokoh, kolonsusu, modo kapauk, modo kampauk. Sulawesi: rambega.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sedangkan nama asing dari tanaman ini adalah *Giant milk weed, mudar plant, oscherstrauch* dan nama simplisianya adalah *Calotropidis Cortex Radicis* (kulit akar biduri) (Anonim, 2009).

2.2.2 Klasifikasi Umum Tanaman Widuri

Klasifikasi *Calotropis gigantea* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Golongan : Gentianales
Famili : Asclepiadeceae
Sub Kelas : Asclepiodoideae
Genus : Calotropis
Spesies : *Gigantea*

Gambar 2.1 Tanaman Widuri *(Calotropis gigantea)*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 2.2 Daun Tanaman Widuri *(Calotropis gigantea)*

2.2.3 Morfologi Tanaman Widuri

Tanaman widuri adalah tanaman yang berupa semak tegak, tinggi 0,5 - 3 m. Batangnya bulat, tebal, ranting muda berambut tebal berwarna putih. Daun widuri merupakan daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berhadapan. Helaian daun berbentuk bulat telur atau bulat panjang, ujung tumpul, pangkal berbentuk jantung, tepi rata, pertulangan menyirip, panjangnya 8-30 cm, lebar 4-15 cm, berwarna hijau muda. Permukaan atas helaian daun muda berambut rapat berwarna putih (lambat laun menghilang), sedangkan permukaan bawah tetap berambut tebal berwarna putih. Bunga majemuk dalam anak payung, di ujung atau ketiak daun. Tangkai bunga berambut rapat, mahkota bunga berbentuk kemudi kapal, berwarna lila, kadang-kadang putih (Anonim, 2009).

Buahnya buah bumbung, berbentuk bulat telur atau bulat panjang, pangkal buah berupa kaitan, panjang 9-10 cm, berwarna hijau. Bijinya kecil, lonjong, pipih, berwarna cokelat, berambut pendek dan tebal, umbai rambut serupa sutera panjang. Jika salah satu bagian tumbuhan dilukai, akan mengeluarkan getah berwarna putih,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

encer, rasanya pahit dan kelat, lama-kelamaan terasa manis, baunya sangat menyengat, dan beracun. Kulit batang biduri mengandung bahan serat yang dapat digunakan untuk membuat jala. Biduri dapat diperbanyak dengan biji (Anonim, 2009).

2.2.4 Kandungan Kimia Tanaman Widuri

Tanaman widuri memiliki zat alelopati yang merupakan zat yang digunakan untuk melindungi dirinya dari gangguan serangga. Hal ini terlihat dari sebagian besar daun tanaman ini terlihat utuh. Sangat jarang ditemukan daun tanaman ini mengalami kerusakan. Artinya, tanaman ini memiliki zat yang berguna sebagai pestisida. Menurut Nio (1989), akar widuri mengandung saponin, sapogenin, kalotropin, kalotoksin, uskarin, kalaktin, gigantin, dan harsa. Daun widuri mengandung saponin, flavonoida, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat. Batang mengandung tanin, saponin, dan kalsium oksalat. Sedangkan getah mengandung racun jantung yang menyerupai digitalis.

2.3 Malaria

2.3.1 Patogenesis Malaria

Menurut Hembing Wijayakusuma (2008), malaria merupakan penyakit infeksi oleh protozoa dari jenis *Plasmodium* yang bersarang dalam sel darah merah. Ada empat jenis *Plasmodium* yang menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falcifarum*,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Plasmodium vivax, Plasmodium malariae dan Plasmodium ovale. Semuanya ditularkan kepada manusia melalui (perantara) nyamuk *Anopheles* betina.

Sporozoid yang terjangkit malaria pada awalnya akan bermultiplikasi dihati dan kemudian menyerang sel darah merah. Spesies *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium vivax* memilik bentuk yang dapat hidup dorman dihati selama beberapa tahun dan dapat menyebabkan infeksi relips. Hanya *Plasmodium falciparum* yang menyebabkan penyakit berat karena kemampuannya untuk menyerang sel darah merah pada semua umur, dan dapat melekat pada endotel pembuluh darah dan kemudian terlepas di organ vital seperti otak, hati, ginjal dan otot (Patrick Davey, 2005).

2.3.2 Diagnosis Malaria

Diagnosis penyakit malaria berdasarkan pada diagnosa klinik yang didukung dengan ditemukannya parasit pada daerah pasien (diagnosis parasitologi). Pertimbangan kemungkinan malaria pada setiap demam yang pernah mengunjungi daerah endemik malaria. Standar umum diagnosis adalah ditemukannya *trofozoit* pada apus darah dengan menggunakan pewarnaan seperti pewarnaan *Field*. Apus darah tebak digunakan sebagai skrining untuk mengatahui ada atau tidaknya parasit. Sedangkan apus tipis dapat memberikan gambaran parasit secara detail, sehingga memungkinkan identifikasi spesies (Patrick Davey, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.3.3 Jenis- Jenis dan Pencegahan Malaria

1. Siklus Aseksual

Sporozoit infeksius dari kelenjar ludah nyamuk *Anopheles* betina dimasukkan kedalam darah melalui tusukan nyamuk tersebut. Dalam waktu 30 menit *sporozoit* tersebut memasuki sel-sel parenkim hati dan dimulai stadium *eksoeritrositik* dari pada daur hidupnya. Didalam sel hati parasit tumbuh menjadi skizon dan berkemban menjadi *merozit.* Sela hati yang mengandung parasi pecah dan *merozoit* keluar dengan bebas, sebagai di fagosit. Karena prosesnya terjadi sebelum memasuki eritrosit maka disebut stadium *preeritrositik* atau *eksoeritrositik*. Siklus *eritrositik*dimulai saat *merozoit* memasuki sel-sel darah merah. Parasit tampak sebagai kromatin kecil dikelilingi oleh sitoplasma yang membesar, bentuk tidak teratur dan mulai membentuk *tropozoit*, *tropozoit* berkembang menjadi skizon muda, kemudian berkembang menjadi skizon matang dan membelah banyka mejadi *merozoit*. Dengan selesainya pembelahan tersebut sel darah merah dan *merozoit*, pigmen dan sisa sel keluar dan memasuki plasma darah. Parasit memasuki sel darah erah lainnya untuk mengulangi silkus *skizogoni*. Beberapa *merozoit* memasuki eritrosit dan membentuk skizon dan lainnya membentuk gametosit yaitu bentuk seksual (Pribadi dan Sungkar, 1994).

2. Siklus Seksual

Terjadi dalam nyamuk *Gametosit* yang bersama darah tidak dicerna oleh sel-sel darah lain. Pada *makrogamet* jantan kromsatin menjadi 6-8 inti yang bergerak ke pinggir parasit. Di pinggir ini filame dibentuk seperti cambuk dan begerak aktif

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

disebut *mikrogamet.* Pembuahan terjadi karena masuknya mikrogamet kedalam untuk membentuk *zigot. Zigot* berubah bentuk seperti cacing pendek disebut *ookinet* yang dapat menebus lapisan epitel dan membran basal dinding lambung. Di tempat ini *ookinet* membesar dan disebut *ookista.* Di dalam *ookista* dibentuk *sporozoit* dan beberapa *sporozoit* menebus kelenjar nyamuk dan bila nyamuk menggigit atau menusuk manusia maka *sporozoit* masuk kedalam darah dan mulailah siklus *preeritrositik* (Zein, 2005).

2.3.4 Efek Penggunaan Obat Malaria Campuran/Kombinasi

Efek penggunaan obat campuran dapat menimbulkan efek aditif, sinergis (potensiasi), atau antagonis. Jika dua obat yang mempunyai kerja yang serupa atau tidak serupa diberikan, maka efek kombinasi dari kedua obat tersebut menjadi aditif (efek dua kali lipat atau jumlah dari kedua obat). Jika dua obat atau lebih diberikan bersama-sama dan dapat memperkuat atau mempunyai efek sinergis terhadap obat lain. Sementara jika dua obat dikombinasi yang mempunyai kerja berlawanan atau efek antagonis, maka efek obat-obat itu akan saling meniadakan sehingga kerja dari kedua obat itu akan hilang (Joyce dan Evelyn, 2003).

Dalam penelitian ini akan dikombinasikan antara ekstrak etanol 80% daun widuri (*Calotropis gigantea*) dan artemisin yang diduga dapat menimbulkan efek sinergis sebagai antimalaria. Daun widuri yang diekstraksi dengan etanol 80% mengandung senyawa alkaloid, tannin, steroid dan flavonoid (Mudi dan A. Bukar, 2011).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Keyser, *et al.* (2000), mengatakan setiap ekstrak dan obat mempunyai mekanisme penghambatan yang spesifik, begitu pula dengan senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan. Artemisin dalam antimalaria dapat menghambat polimerisasi hem menjadi hemozoin. *Plasmodium* memetabolisme hemoglobin eritrosit menjadi asam amino dan hem. Asam amino diperlukan *Plasmodium* untuk kelangsungan hidupnya, sedangkan hem yang bersifat toksik bagi *Plasmodium* diubah menjadi hemozoin dan disimpan dalam vakuola digestifnya. Hemozoin akan dilepaskan dalam darah pada saat *Plasomdium* pecah menjadi merozoit dan skizon (Basilico, ***et al.***, 1998).

2.3.5 Resistensi Obat Malaria

WHO (2010), menyatakan resistensi *Plasmodium* adalah kemampuan strain *Plasmodium* untuk bertahan hidup/ berkembang biak pada pemberian dosis setara atau lebih tinggi dari dosis yang direkomendasikan tetapi masih dalam batas toleransi pasien. Syafruddin (2009), menyatakan resistensi *Plasmodium* timbul akibat adanya mutasi-mutasi gen yang terjadi secara spontan, yang mempengaruhi struktur dan aktivitas sasaran obat pada tingkat molekul atau mempengaruhi akses obat terhadap sasarannya pada parasit malaria. Sedangkan menurut Sutanto dan Pribadi (2008), resistensi adalah kemampuan strain parasit untuk tetap hidup dan atau berkembangbiak walaupun pemberian dan absorpsi obat sesuai dosis standar atau lebih tinggi dari dosis yang direkomendasikan tetapi masih dapat ditoleransi hospes.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Di Indonesia pertama kali kasus resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin ditemukan di Kalimantan Timur tahun 1973. Kemudian resistensi itu meluas ke seluruh propinsi dengan derajat resistensi yang bervariasi. Berdasarkan evaluasi obat anti malaria di Indonesia tahun 1981-1985 dilaporkan resistensi RIII di 4 propinsi dan hingga tahun 1995 sudah ditemukan di 20 propinsi. Kasus resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap sulfadoksin pirimetamin dilaporkan di 11 propinsi dengan derajat resistensi RI-RII. Evaluasi in vitro resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap kina ditemukan di 6 propinsi, terhadap mefloquin di 5 propinsi dan resistensi terhadap amodiaquin di 4 propinsi. Resistensi *Plasmodium vivax* terhadap klorokuin pertama kali dilaporkan di Sumatra Utara (Pulau Nias 13%) tahun 1991, Irian jaya (4 1%), NTT (8%), Sulawesi Utara (2%) (Tjitra, 1997).

Terdapat tiga faktor yang menimbulkan resistensi yaitu faktor operasional (dosis subterapeutik dan kepatuhan penderita), faktor farmakologik, faktor transmisi malaria (intensitas malaria, drug pressure dan imunitas). Untuk mencegah dan memperlambat laju resistensi, maka terapi kombinasi anti malaria rasional sangat dianjurkan. Mekanisme resistensi *plasmodium* terhadap obat anti malaria dapat dijelaskan bahwa pada dasarnya resistensi parasit terhadap suatu obat anti malaria timbul sebagai akibat sasaran obat pada tingkat molekul atau mempengaruhi akses obat terhadap sasarannya pada parasit malaria (Syafruddin, 2009).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4 *Plasmodium Berghei*

Plasmodium berghei adalah hemoprotozoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia kecil. *Plasmodium berghei* banyak digunakan dalam penelitian pengembangan biologi pada parasit malaria pada manusia karena sudah tersedianya teknologi pembiakan secara in vitro dan pemurnian pada tahapan siklus hidup, pengetahuan pada susunan genom dan pengaturannya. Secara analisis molekuler *Plasmodium berghei* sama seperti *Plasmodium* yang menginfeksi manusia. Model ini kemungkinan dapat dilakukan manipulasi hospes sehingga dapat dipelajari perubahan imonologis yang terjadi selama infeksi malaria.

Taksonomi Plasmodium berghei adalah sebagai berikut (Wardhani, 2007):

Regnum : Animalia
Sub regnum : Protozoa
Filum : Sporozoa
Kleas : Sporozoea
Sub kelas : Coccidea
Ordo : Haemosporida
Famili : Haemosporidae
Genus : Plasmodium
Spesies : *Plasmodium berghei*

Plasmodium berghei mempunyai siklus hidup maupun morfologi seperti parasit malaria pada manusia, sehingga *Plasmodium berghei* ini oleh para peneliti digunakan sebagai model penelitian untuk mencari dan mengembangkan obat anti-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

malaria. *Plasmodium berghei* pada mencit lebih cepat berkembang dari pada roden jenis lainnya.

Alasan enggunaan *Plasmodium beghei* sebagai model penelitian dikerenakan, yaitu (Rehena, 2011):

1. *Plasmodium berghei* belum pernah ditemukan dapat menyebabkan malaria pada manusi dan dalam penelitian umumnya ditularkan melalui suntikan darah hewan pengerat terinfeksi ke hewan pengerat lainnya.
2. *Plasmodium berghei* meiliki kesamaan morfologi dengan parasit malaria pada manusia.
3. *Plasmodium berghei* juga mamilki kesamaan protein permukaannya yang berperan dalam invasi sel darah merah.

Pengecatan khusus darah yang terinfeksi *Plasmodium berghei* terlihat gambaran bercak pada sel yang terinfeksi, dimana sel berbentuk bundar, kecil dan bervakuola sedikit lalu berkembang menjadi besar, bundar dan mengandung banyak vakuola yang berisi trofozoit.

2.5 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan untuk penelitian malaria adalah mencit. Adapun taksonomi mencit adalah sebagai berikut (Anggonowati, 2008):

Kingom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus*

Mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dengan kisaran penggunaan antara 40-80%. Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium (khususnya digunakan dalam penelitian biologi), karena memiliki keunggulan-keunggulan seperti siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat- sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi. Menurut Malole dan Pramono (1989), berbagai keunggulan mencit seperti: cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya tinggi dan sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik.

2.6 Ekstraksi Senyawaan Antimalaria

Beberapa senyawa metabolit sekunder telah terbukti bermanfaat sebagai antimalaria. Senyawa-senyawa ini dapat digolongkan dalam tujuh golongan besar yaitu alkaloid, quassinoid, seskuiterpen, triterpenoid, flavonoid quinon dan senyawaan misscellanous (Sexena dkk, 2003). Lebih dari 100 jenis alkaloid dari berbagai macam tanaman telah diketahui memiliki aktivitas antimalaria. Alstonine, villalstonine dan makrocarpamine merupakan senyawa metabolit sekunder dari

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tanaman pule (*Alstonina scoholaris* Linn.) yang memiliki aktivitas antimalaria (Arulmozhi dkk., 2007).

Senyawa antimalaria diatas dapat diisolasi dengan menggunakan metode esktraksi. Esktraksi tersebut menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat kepolaran. Esktraksi pelarut sering juga disebut dengan esktraksi air merupakan metode yang baik dan sangat populer. Esktraksi pelarut mencangkup distribusi suatu zat terlarut diantara dua fasa cair yang tidak saling bercampur (Soebagio, 2005). Prinsip metode ini didasrkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak bercampur, seperti benzena, karbon tetraklorida atau klorofom (Khopkar, 2003). Batasannya ialah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut.

2.6.1 Ektraksi Maserasi

Dalam ekstraksi bahan alam, dikenal satu metode ekstraksi yaitu maserasi atau perendaman. Menurut Ahmad (2006), maserasi merupakan cara yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel, maka larutan yang pekat didepak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Keuntungan ekstraksi ini adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan esktraksi kurang sempurna.

Secara umum pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi seyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekuder. Sifat kelarutan zat didasarkan pada prinsip *like dissolved like,* zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan zat yang bersifat nonploar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2003).

2.7 Metabolisme Sekunder pada Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea*)

2.7.1 Senyawa Alkaloid

Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar alkaloid terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuahan monokotil dan pteridofita mengandung alkaloid dengan kadar yang sedikit (Widodo, 2007).

Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cinicinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Identifikasi golongan alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis digunakan eluen kloroform : etenol (9 ; 1), dengan penampak noda Dragendroff yang memberikan perubahan warna menjadi jingga dengan nilai Rf 0,36 dan 0,58 pada fraksi V daun *Cassia slamea* (Ekasair *et al.*, 2003). Penelitian Sriwahyuni (2010), menngunakan eluen kloroform : metanol (9,5 : 0,5), dan menghasilkan perubahan warna jingga kecoklatan pada Rf 0,78 dan 0,87.

2.7.2 Senyawa Flavonoid

Wijono (2003), telah melakukan isolasi flavonoid isolasi flavonoid dari daun kati dengan metode maserasi menggunkan pelarut etanol. Kemudia ekstrak etanol ini dilaritkan dalam air panas, disaring kemudian diekstraksi dengan n-heksana, fraksi n-heksana dipekatkan. Fraksi air diekstraksi dengan kloroform, fraksi kloroform dilkumpulkan dan dipekatkan. Fraksi air di diekstraksi dengan eti asetat, fraksi etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan. Kemudian fraksi air di ekstraksi dengan n-butanol, fraksi n-butanol dikumpulkan dan dipekatkan. Ekstraksi n-butanol dilakukan 3 kali, setiap kali dengan pelarut n-butanol yang baru, sehingga diperoleh fraksi n-butanol 1, fraksi n-butanol 2 dan fraksi n-butanol 3.

Identifikasi golongan senyawa flavonoid pada fraksi ekstrak daun kemuning dengan Kromatografi Lapis Tipis bisa menggunakan eluen campuran etil asetat dan metanol dengan perbandingan 9 : 1 dengan penyemprot uap amoniak dan memberikan noda-noda dengan warna florosensi biru kuning hijau, ungu dan biru

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ungu yang terpisah dengan baik setelah disinari menggunakan lampu UV 254 nm (Morina, 2007).

2.7.3 Senyawa Terpenoid

Penelitian terhadap beberapa tumbuhan telah menemukan senyawa golongan terpenoid yang menunjukkan aktivitas antimalaria yaitu sesquiterpen lakton dan triterpenoid (Halimah, 2010). Beberapa tanaman yang telah terbukti mempunyai aktivitas antimalaria dari golongan terpenoid diantaranya adalah tanaman Anting-anting yang mempunyai senyawa triterpenoid, *Artemisia annua* dan daun bunga matahari yang memiliki senyawa sesquiterpen lakton.

Terpenoid dapat dipisahkan dengan KLT menggunakan eluen atau fase gerak n-heksana : etil asetat (4 : 1) pada daun *Cassia slamea* yang menunjukkan warna ungu dan merah keunguan dengan reagen penyemprot Liberman Burchard (Ekasari *et a.l*, 2005). Sebelum proses pemisahan dan pemurnian senyawa dalam *Momordica carantina* L. dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan eluen etil asetat dengan dua jenis perbandingan karena untuk memisahkan beberapa fraksi yaitu (6 :4) dan (5,5 : 4,5) (Juliana *et al., 2010*). Dalam penelitian Halimah (2010) menggunakan eluen n-heksana dengan etil asetat dengan perbandingan 2 : 8 dan mengidentifikasi senyawa terpenoid pada Rf 0,39 dan 0,80.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.7.4 Senyawa Saponin

Saponin terdapat pada berbagai jenis tumbuhan, bersama-sama dengan subtansi yang lainnya yang berperan sebagai pertahanan diri dari serangga, karena saponin terdapat dalam makanan yang dikonsumsi serangga yang dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan (Nursal,2005).

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa yang mantap jika dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harbrone,1987). Pemisahan saponin melalui plat silica gel KLT menggunakan larutan pengembang seperti butanol yang dijenuhkan dengan air atau kloroform : methanol : air (13 : 7 : 2) (Harborne, 1987).

2.7.5 Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Menurut batasannya, tannin dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Dalam industry, tannin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mampu mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silang protein (Harborne, 1987).

Pelarut yang digunakan untuk mendeteksi campuran tanin terkondensasi adalah butanol – asam asetat – air (14 : 1 : 5), diikuti dengan asam asetat 6 % merupakan pelarut yan baik. Pelarut yang digunakan ini pada pendeteksian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menggunakan kromatografi kertas. Bercak noda diperiksa dengan sinar UV kemudian disemprot dengan penyemprot $FeCl_3$, akan menghasilkan warna lembayung (Harborne, 1987).

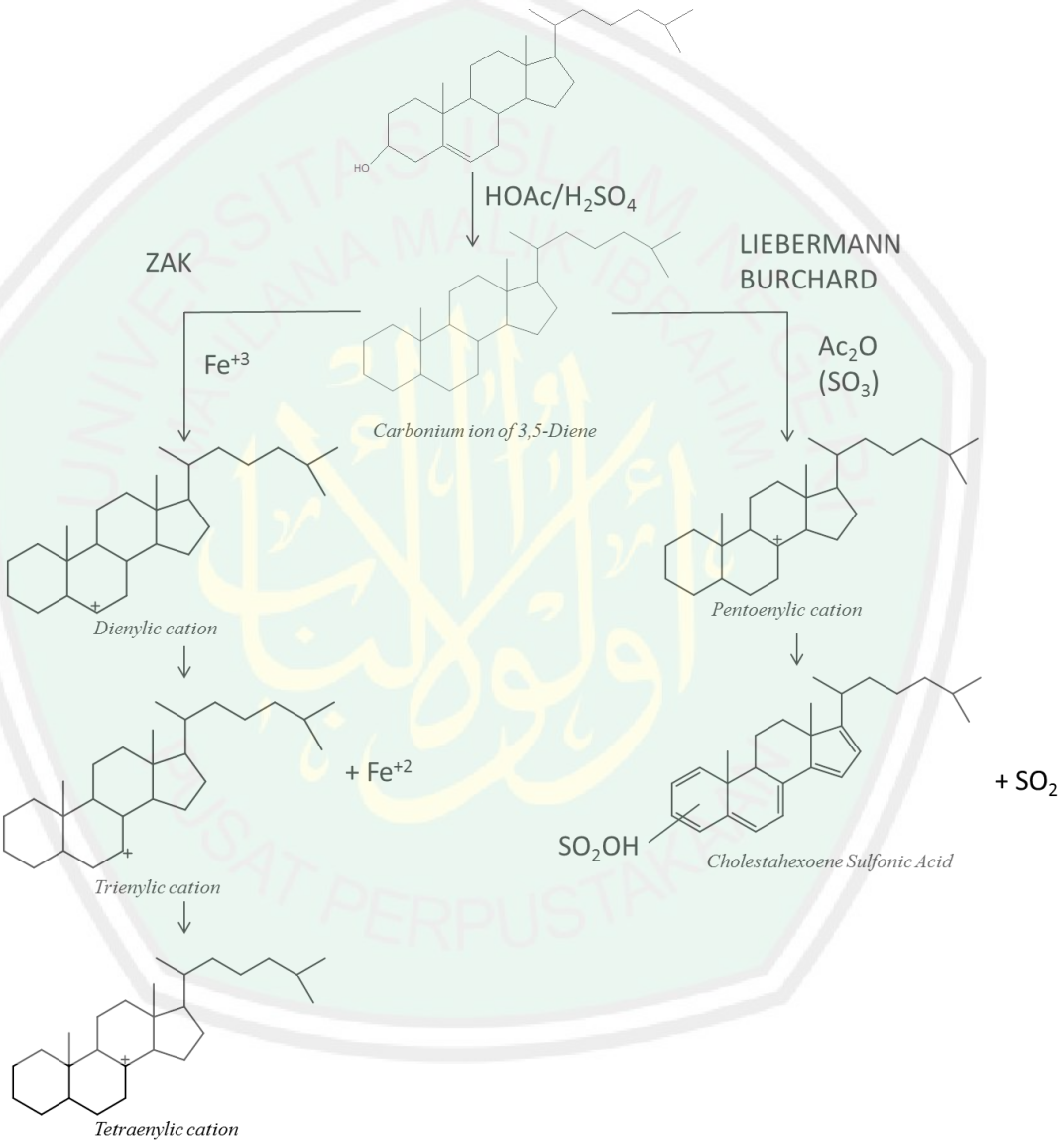
Nuraini (2002) menyebutkan bahwa fase gerak yang terbaik untuk identifikasi tannin adalah forestal yaitu asam asetat glasial : air : asam klorida (30 : 10 : 3). Pemisahan senyawa tannin ekstrak daun belimbing wuluh dengan KLT analitik adalah n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5). eluen ini memisahkan 3 noda dengan nilai Rf 0,53 ; 0,61 ; dan 0,68. Berdasarkan hasil analisis spektofotometer UV-Vis, isolat 2 dengan nilai Rf 0,61 memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 331 nm (Sa'adah *et al., 2010*). pada eluen n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) pada ekstrak kulit batang kelapa gading (*Cocos nucifera var. eburnea*) menghasilkan noda denganRf 0,51 ; 0,67 ; 0, 78.

2.7.6 Steroid

Steroid adalah senyawa organik lemak sterol tidak terhidrolisis yang dapat dihasil reaksi penurunan dari terpena atau skualena. Steroid merupakan kelompok senyawa yang penting dengan struktur dasar sterana jenuh (bahasa Inggris: *saturated tetracyclic hydrocarbon* : 1,2-*cyclopentanoperhydrophenanthrene*) dengan 17 atom karbon dan 4 cincin. Senyawa yang termasuk turunan steroid, misalnya kolesterol, ergosterol, progesteron, dan estrogen. Pada umunya steroid berfungsi sebagai hormon. Steroid mempunyai struktur dasar yang terdiri dari 17 atom karbon yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

membentuk tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Perbedaan jenis steroid yang satu dengan steroid yang lain terletak pada gugus fungsional yang diikat oleh ke-empat cincin ini dan tahap oksidasi tiap-tiap cincin.



Gambar 2.3 Dugaan mekanisme reaksi steroid dengan reagen Liebermann Burchard (Burke, 1974).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.8 Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan tertentu. Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fase yaitu fase diam diam dan fase gerak. Pemisahan-pemisahan ini tergantung pada gerakan relatif dari dua fase ini (Sastrohamidjojo, 2007).

Salah satu cara pemisahan adalah kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode yang didasarkan pada proses adsorpsi. Lapisan yang dipisahkan terdiri atas fase diam dan fase gerak. Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempen kaca atau alumunium. Jika fase diam berupa silika gel maka bersifat asam, jika fase diam alumina maka bersifat basa. Fase gerak atau larutan pengembang biasanya menggunakan pelarut organik ataupun campuran pelarut organik-anorganik (Gritter, 1991).

Kromatografi lapis tipis terdapat harga faktor retensi (Rf). Faktor retensi (Rf) adalah jarak yang ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh eluen. Rumus faktor retensi adalah (Sastrohamidjojo, 2007):

$$\text{Harga Rf} = \frac{jarak\ yang\ digerakkan\ oleh\ senyawa\ dari\ titik\ awal}{jarak\ yang\ digerakkan\ oleh\ pelarut\ dari\ titik\ asal}$$

Nilai Rf sangat karakterisitik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah. Rf KLT yang bagus berkisar antara 0,2 - 0,8. Jika Rf terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya.

Hayati, dkk (2012) melakukan identifikasi senyawa antimalaria dari tanaman anting –anting dengan menggunakan KLT. Eluen yang digunakan untuk identifikasi tannin adalah asam asetat glasial : air : HCL pekat (30:10:3), dan saat disemprot dengan $FeCl_3$ menghasilkan warna Ungu dengan Rf sekitar 0,4. Eluen untuk senyawa alkaloid adalah kloroform : metanol (9,5:0,5), dan saat disemprot dengan reagen Dragendroff menghasilkan warna yan berbeda-beda dari tiap noda, yakni mulia dari mulai dari warna ungu kecoklatan, merah muda hingga jingga.

Inayah (2011), melakukan pemisahan senyawa flavonoid dari tanaman anting-anting menggunakan eluen metanol : kloroform (1:39), n-butanol : asam asetat : n-heksana (3:2:2), metanol : kloroform (3:7), kloroform : etil asetat (6:4), eluen n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), metanol : kloroform (5:5) dan (7:3), n-butanol : asam asetat : air (6:1:2), toluen : dietil eter : asam asetat (10:10:2). Dari sekian banyak eluen, eluen campuran metanol : kloroform (1:39) yang mampu memberikan pemisahahan yang baik dengan memberikan niai Rf sebesar 0,1 – 0,91 cm.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2014 - Maret 2014 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Laboratotium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Optik Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ekstraksi maserasi adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, blender, cawan penguap, neraca analitik, gelas vial, kertas saring whatman, *shaker*, penyaring *buchner*, dan *rotary evaporator*. Alat yang digunakan untuk pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis adalah plat KLT silika gel 60 F_{254}, bejana pengembang, lampu UV, pipa kapiler, bola hisap dan labu ukur.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian uji antimalarial adalah kandang hewan uji yang terbuat dari bak plastik, kawat, botol minum dan tempat makan mencit. Alat untuk *thawing* isolat *Plasmodium berghei* adalah *vacuum tube*, *yellow tip*, pinset, mikropipet, mikroskop cahaya, gunting, spuit 1 mL, *laboratory bottle* 100 mL, *object glass*. Alat untuk inokulasi *Plasmodium berghei* adalah mikropipet, *yellow tip*, pinset, spuit 1 mL. Alat untuk mengambil darah mencit

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun tanaman widuri (*Calotropis gigantea*) yang diambil di daerah sekitar Pasuruan. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi maserasi dan uji fitokimia adalah etanol (p.a), gas N_2, reagen Dragendrof, reagen Mayer, metanol 50 %, logam Mg, HCL 2 %, HCL pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, aquades, larutan $FeCl_3$ 1 %, H_2SO_4, HCN 1N, dan artemisin. Bahan yang digunakan untuk kromatografi lapis tipis adalah aquades, etanol (p.a), kloroform (p.a), methanol (p.a), n-heksana (p.a), asam sulfat 50 %, uap amoniak, toluena, etil asetat (p.a), reagen Dragendrof, reagen Lieberman-Burchard, dan plat KLT.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji malaria adalah mencit putih jantan Balb/C, pakan mencit (pellet), serbuk kayu, air minum Aqua. Bahan yang digunakan untuk *thawing* kultur isolat *Plasmodium berghei* adalah darah jantung dari mencit donor, EDTA, larutan Alsever's, gliserol 10 % dan aquades. Untuk pembuatan mencit donor, bahan-bahannya adalah mencit Balb/C, larutan PBS 10 %, sel darah merah yang terinfeksi parasite dari hasil proses *thawing*. Bahan-bahan yang digunakan untuk inokulasi *Plasmodium berghei* adalah darah mencit yang terinfeksi dan larutan PBS 10 %. Bahan untuk mengukur derajat parasitemia adalah darah ekor mencit, buffer Giemsa, Giemsa fluka, metanol (p.a). Bahan yang diperlukan untuk terapi yaitu artemisin, ekstrak daun tanaman widuri dan larutan CMC-Na 1 %.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.3. Rancangan Penelitian

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi atau perendaman dengan pelarut etanol 80 %. Serbuk daun tanaman widuri ditimbang sebanyak 100 g dan perlakuan dibagi menjadi dua, masing-masing 50 g untuk proses ekstraksi. Lalu diekstraksi secara maserasi masing-masing menggunakan 250 mL, 150 dan 100 mL pelarut etanol 80 % selama 24 jam dengan pengocokan 120 rpm selama 3 jam menggunakan *shaker*. Selanjutnya, filtrate dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan kecepatan rotor 5 rpm, tekanan ±800 hPa dan suhu 70-75 ^{o}C sampai diperoleh ekstrak pekat etanol. Ekstrak pekat tersebut dioven pada suhu 37 ^{o}C untuk menghilangkan residu etanolnya kembali.

Ekstrak pekat dari fraksi etanol tersebut yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antimalaria secara *in vivo* dengan variasi dosis yaitu 0,1 mg/Kg BB, 1 mg/Kg BB, 10 mg/Kg BB yang masing-masing dosis dikombinasi dengan artemisin dengan dosis ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali secara per oral terhadap mencit untuk mengetahui daya hambat *Plasmodium berghei* melalui nilai derajat parasitemia yang diperoleh dengan 6 ulangan pada setiap kelompok. Setelah itu, dilakukan uji fitokimia. Sampel yang positif uji fitokimia, dipisahkan dengan KLT analitik berdasarkan campuran berbagai eluen.

Data perubahan angka parasitemia tiap harinya dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap faktorial, dimana faktor yang mempengaruhi adalah dosis dan hari. Selanjutnya analisis hipotesis dilakukan dengan menggunakan uji *Two Way* ANOVA. Sehingga akan diketahui interaksi dosis dan hari terbaik dalam penghambatan parasitemia. Setelah dianalisis didapat nilai signifikansi. Nilai signifikansi tersebut digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pada

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kelompok I, II, III dan kelompok kontrol positif serta kelompok kontrol negatif. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan yang nyata maka data tersebut dianalisis dengan uji BNT (Neda Nyata Terkecil).

3.4. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

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

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Analisis Kadar Air

Analisa kadar air dilakukan dengan metode thermografi yaitu dengan pemanasan. Analisis kadar air ini dilakukan pada sampel basah dan sampel kering. Analisa sampel basah dan kering masing-masing dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Cawan yang digunakan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100 – 105 ^{o}C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel akar widuri yang telah menjadi serbuk,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya. Sampel ditimbang sekitar 5 g, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100 – 105 ^{o}C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut (Milyasari, 2010):

Serbuk yang telah diblender diukur kadar airnya menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} x100\ \% \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots 3.1$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100-\%\ kadar\ air} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots 3.2$$

% Kadar air terkoreksi = kadar air – faktor koreksi

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.2. Preparasi Sampel

Bagian daun tanaman widuri diambil sebanyak 2 Kg. Kemudian dicuci, dikeringkan di udara terbuka, dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 30 - 37 ^{o}C selama 5 – 6 jam. Setelah kering, daun tanaman widuri diblender sampai terbentuk serbuk (Nadia, 2010).

Dilakukan pemblenderan yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel dan untuk memperoleh serbuk halus dengan ukuran < 60 mesh (dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh) sehingga terbentuk serbuk yang homogen. Serbuk yang teleh mempunyai kadar air dibawah 10 % tersebut, diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 80 %.

3.5.3. Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi/perendaman dengan pelarut etanol. Serbuk daun tanaman widuri ditimbang sebanyak 100 g dan perlakuan dibagi menjadi dua, masing-masing 50 g untuk proses ekstraksi. Lalu diekstraksi secara maserasi masing-masing menggunakan 250 mL pelarut etanol 80 % selama 24 jam dengan pengocokan 120 rpm selama 3 jam menggunakan *shaker*, kemudian ampas yang diperoleh direndam dengan 150 mL dan 100 mL pelarut yang sama sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat. Filtrat yang diperoleh digabungkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan tekanan ±800 hPa, suhu 70-75^{o}C dan kecepatan rotor 5 rpm, sampai diperoleh ekstrak pekat etanol. Ekstrak pekat tersebut dioven pada suhu 37 ^{o}C untuk menghilangkan residu etanolnya kembali. Kemudian ditimbang sampai diperoleh berat yang konstan. Cara ini akan memberikan hasil maksimal dimana

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ekstrak pekat yang diperoleh memiliki kandungan residu etanol paling kecil. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antimalaria *in vivo*.

3.5.4. Uji Antimalaria

3.5.4.1. Persiapan Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan uji mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c jenis kelamin jantan, umur 8 – 12 minggu, berat badan 15 – 20 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* (secara bebas dan terus-menerus sampai mencit itu berhenti sendiri sesuai keinginannya) (Amelya, 2006).

3.5.4.2. Perlakuan Hewan Coba

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

Rumus Federer: $(n-1)(t-1) \geq 15$ dengan t = jumlah kelompok perlakuan = 6

n = jumlah sampel pada tiap perlakuan

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

$6(n-1) \geq 15$

$6n-6 \geq 15$, maka $n \geq 3{,}5$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah empat sediaan mencit untuk setiap enam kelompok perlakuan, sehingga jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 24 ekor mencit.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sehingga membutuhkan mencit total sebanyak 36 ekor. Perlakuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian pelarut 0,5 mL CMC-Na 1 % sekali sehari per oral (Pratiwi dan Chairul, 2008).
2. Kelompok kontrol positif adalah kelompok perlakuan artemisin dosis 4 mg/Kg BB sekali sehari secara per-oral (Pratiwi dan Chairul, 2008).
3. Kelompok non infeksi adalah kelompok perlakuan tanpa infeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian 0,5 mL larutan CMC-Na 1 % sekali sehari per oral.
4. Kelompok widuri 1 adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* yang diterapi ekstrak etanol 10 mg/Kg BB : ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali secara per oral.
5. Kelompok widuri 2 adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* yang diterapi ekstrak etanol 1 mg/Kg BB : ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali secara per oral.
6. Kelompok widuri 3 adalah kelompok perlakuan infeksi *Plasmodium berghei* yang diterapi ekstrak etanol 0,1 mg/Kg BB : ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali secara per oral.

Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode yang dilakukan Fitri (2007) modifikasi dari metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991 dalam Muti'ah, 2010).Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 1 – 5 % (Muhtadin dan Haryono, 2005) yang dihitung

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sebagai hari ke-0. Terapi dilakukan setiap hari selama 4 hari. Pengamatan derajat parasetemia dilakukan setiap hari ke- 1, hari ke- 2, hari ke- 3 dan hari ke- 4.

Tabel 3.1 Tabel pengamatan derajat parasitemia

No.	Kelompok	Subjek (n)	Hari perlakuan			
			H_1	H_2	H_3	H_4
1.	Kontrol negatif	1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				
2.	Kontrol positif	1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				
3.	Non infeksi	1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				
4.	Widuri 1	1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				
5.	Widuri 2	1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				
6.	Widuri 3	1				
		2				
		3				
		4				
		5				
		6				

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.4.3. *Freezing* dan *Thawing* Isolat *Plasmodium berghei*

Perlakuan *freezing* dan *thawing* isolate parasit dalam penelitian ini merujuk pada penelitian Coutrier (2008). Hal yang dilakukan pada *freezing* isolate parasit adalah dengan mengambil 0,8 mL darah jantung dari mencit donor yang telah terinfeksi, kemudian dimasukkan ke dalam *vacuum tube* yang telah berisi EDTA. setelah itu, ditambahkan dengan 1,6 mL larutan alsever's yang mengandung 10% gliserol. Selanjutnya, *vacuum tube* ditutup dan dimasukkan ke dalam *liquid nitrogen tank* selama ± 1 menit. kemudian dipindahkan dalam *freez* -70 ^{o}C. Ketika akan digunakan untuk perlakuan infeksi, *vacuum tube* tersebut dikeluarkan dari *freezer* (proses *thawing*). Dengan demikian, parasit memungkinkan untuk mencair dan siap untuk didinfeksikan pada hewan coba. Semua pekerjaan yang berhubungan dengan isolate *Plasmodium berghei* dilakukan dalam *Laminar Air Flow* dan bersifat spesifik.

3.5.4.4. Pembuatan Donor

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.4.5. Inokulasi *Plasmodium berghei*

Inokulasi *Plasmodium berghei* ini merujuk pada penelitian Muti'ah *et al.*, (2010) yakni dengan dilakukan secara *intraperitonial* (i.p) sebanyak 1 x 10^6 parasit. Pengambilan *Plasmodium berghei* sebanyak 1 x 10^6 parasit, ini dilakukan dengan mengambil darah dari mencit yang telah terinfeksi sebanyak 6,7 µL. Hal ini karena diasumsikan pada mencit normal nilai hematrokitnya (angka yang menunjukkan prosestase zat padat dalam darah terhadap cairan darah) adalah 60 % dan disini mencit donor memiliki 6 x 10^9 sel darah merah/mL dalam darah. Jika derajat parasimtemia mencit donor sebesar 2,5 % maka diambil darah sebesar 6,7 µL, kemudian diresuspensikan sampai 200 µL dengan larutan PBS. Setelah dilakukan dinfeksi, selanjutnya dilakukan pengamatan parasitemia setiap hari hingga mencapai 1 - 5% sebagai hari ke- 1 terapi. Kemudian dilakukan terapi obat atau ekstrak uji pada hari ke- 2, ke- 3 dan ke- 4.

3.5.4.6. Pengukuran Derajat Parasitemia (Sardjono dan Fitri, 2007)

Mula-mula dibuat hapusan darah yang dilakukan dengan cara mengambil setetes darah dari ekor mencit dengan menggunting ekor mencit dan diteteskan 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 diteteskan pada hapusan dan ditunggu selama 20 menit.Selanjutnya, dibilas dengan air mengalir hingga tidak

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ada cat yang tersisa kemudian dikeringkan. Selanjutnya, hapusan darah yang sudah dicat dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop menggunakan pembesaran 400x dengan menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi malaria dari 1000 eritrosit. Perhitungan 1000 eritrosit ini, dihitung secara manual, yakni diidentifikasi di microskop dan dihitung jumlah eritrosit total dan yang terinfeksi pada seluas pandang lensa microskop tersebut. Perlakuan tersebut dilakukan hingga eritrosit total sudah mencapai 1000 dan dijumlahkan eritrosit yang terinfeksi. Pergerakan luas pandang untuk perhitungan eritrosit ini dilakukan dengan cara pergesaran keatas dan kebawah serta kekiri dan kekanan. Hal ini dilakukan untuk menghindari perhitungan kembali eritrosit yang telah dihitung. Persen parasitemia (%) adalah jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dalam 1000 eritrosit. Persen penghambatan pertumbuhan parasit (% parasitemia) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ parasitemia} = \frac{jumlah\ eritrosit\ terinfeksi}{1000\ eritrosit}\ x\ 100\ \% \quad \text{.....3.4}$$

Sedangkan persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus berikut (Herintsoa *et al.*, 2005).

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

Selanjutnya dilakukan uji fitokimia dengan uji warna menggunakan reagen peraksi dan sinar UV.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.5. Uji Fitokimia

Metode uji fitokimia merupakan metode analisis kualitatif yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu bahan.Uji fitokimia dalam penelitian ini meliputi uji flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin dan glikosida.

3.5.5.1. Uji Flavonoid

Ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 500 µL konsentrasi 10000 ppm, dilarutkan dalam 1 – 2 mL metanol 50 % panas. Setelah itu, ditambahkan logam Mg dan 4 – 5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.5.2. Uji Alkaloid

Ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) diambil sebanyak 500 µL dengan konsentrasi 10000 ppm kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung pertama larutan ditambah 0,5 mL larutan asam encer sebagai pembanding, tabung kedua ditambah 2 – 3 tetes reagen Dragendorff dan tabung ketiga ditambah 2 – 2 tetes reagen Mayer. Jika tabung kedua terbentuk endapan jingga dan pada tabung ketiga terbentuk endapan kekuningan menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.5.3. Uji Terpenoid

Ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) diambil sebanyak 500 µL konsentrasi 10000 ppm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya, campuran ditetesi dengan 1 – 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya terpenoid.

3.5.5.4. Uji Tanin

Sebanyak 500 µL ekstrak daun tanaman widuri konsentrasi 10000 ppm dilarutkan dalam 1 – 2 mL air dan ditambahkan 2 tetes pereaksi $FeCl_3$. Adanya tanin pada sampel ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau mengindikasikan adanya tannin katekol atau biru kehitaman yang menunjukkan adanya tannin galat.

3.5.5.5. Uji Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan metode Forth. Diambil 500 µL ekstrak sampel 10000 ppm dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL akuades lalu dikocok 1 menit, diamati perubahan yang terjadi. Jika menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin.

3.5.6. Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik

3.5.6.1. Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Sampel yang dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis merupakan sampel yang positif kandungan beberapa senyawa metabolit sekunder pada uji

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

fitokimia. Proses identifikasi merujuk pada sumber literatur Harbone (1987), Sastrohamidjojo (1985) dan Wagner *et al.* (1984). Ekstrak pekat daun widuri sebanyak 1000 mg dilarutkan dalam 1 mL etanol 80 %. Kemudian, disiapkan bejana pengembang sebagai tempat menampung campuran eluen selama proses pemisahan dilakukan. Dimasukkan campuran eluen ke dalam bejana pengembang dan ditutup bejana pengembang selama 1 jam untuk menjenuhkan uap eluennya.

Pemisahan dengan KLT ini digunakan plat silika gel F_{254}. Plat silika diaktivasi terlebih dahulu dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60 – 70 ^{o}C selama 10 menit. Masing-masing plat dipotong dengan ukuran 1 x 10 cm^2. Ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) yang telah disiapkan tadi ditotolkan sebanyak 5 – 10 totolan pada plat KLT pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan di udara dan dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya.Setelah pergerakan fase gerak sampai pada garis batas atas, maka elusi dihentikan. Noda disemprot dengan pereaksi dan permukaan plat dandiperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian dipanaskan di oven pada suhu 60 ^{o}C selama 10 menit dan diamati noda tersebut dan dihitung nilai Rf untuk mengetahui golongan senyawa antimalaria.

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

1. **Tanin**

a. Butanol : asam asetat : air (2 : 0,5 : 1,1) (Yilia, 2006).

b. Metanol : kloroform : air (7 : 3 : 0,4) (Fitriyani, 2011).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

c. Eluen etil asetat : metanol : asam asetat (6 : 14 : 1) dengan pereaksi aluminium klorida 5 % (Olivia, 2005).

d. Butanol : asam asetat : air (14 : 1 : 5) (Harborne, 1987)

e. Eluen n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5). Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV-Vis pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Sa'adah, 2010).

Golongan senyawa tannin dapat teridentifikasi dengan lampu UV-Vis pada panjang gelombang 366 nm menunjukkan warna ungu kehitaman. Pengamatan noda tanpa sinar UV berwarna biru kehijauan.

2. Steroid .

a. n-heksana : aseton (7:3) (Syamsudin, dkk., 2007).

b. n-heksana: etil asetat (7:3) (Hayati, 2012).

c. n-heksana : etil asetat (9:1)

d. n-heksana : etil asetat (8:2) (Sulastry dan Kurniawati, 2010).

e. n-heksana : etil asetat (6:4) (Reveny, 2011).

Pereaksi Lieberman Buchard dideteksi di bawah lampu UV 366 nm akan terbentuk noda berwarna hijau terang, hijau kekuningan, hijau kecoklatan, hijau kebiruan, hijau kehitaman, dan ungu yang tengahnya berwarna hijau kebiruan.

Setelah pergerakan fase gerak sampai pada garis batas atas, maka elusi dihentikan. Noda pada permukaan plat diperiksa dibawah sinar UV. Kemudian diamati noda tersebut dan dihitung nilai Rf untuk mengetahui golongan senyawa antimalaria.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah persen kadar air yang didapatkan dari pehitungan rumus analisis kadar air. Kadar air yang baik adalah < 10 %. Sedangkan pada uji antimalaria didapatkan presentase pertumbuhan parasit ekstrak etanol daun widuri dalam kaitannya dengan dosis ekstrak yang diberikan pada perlakuan. Nilai efektivitas dosis 50% (ED_{50}) dihitung berdasarkan analisa probit % penghambatan parasit selama 4 hari dan ditunjukkan dengan analisis regresi linear dengan program *Microsoft Office Excel*.

Program lain yang digunakan untuk analisis data adalah SPSS dengan cara ANOVA dua arah. Hasil pengujian yang diperoleh digunakan untuk menggambarkan pengaruh pemberian perlakuan ekstrak akar *Calotropis gigantea* terhadap derajat parasitemia mencit bermakna atau tidak. Hal ini dapat dilihat dari nilai BNT (beda nyata terkecil) dari hasil ANOVA, dimana nilai BNT tersebut sama dengan nilai error. Kemudian dilakukan analisis *Post Hoc* dengan uji *Turkey* untuk mengetahui kelompok mana saja yang menunjukkan perbedaan yang signifikan (Muti'ah *et al.*, 2010).

Penggolongan senyawa aktif dapat dilakukan dengan identifikasi hasil uji warna dengan kepekatan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut:

1. ++ : terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat
2. + : terkandung senyawa/warna muda
3. - : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warnaidentifikasi dengan warna ini dilakukan berulang-ulang untuk memberikan kevalidan data.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Data dari identifikasi warna kemudian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memperlihatkan pola pemisahan dan kenampakan noda pada plat KLT dengan berbagai eluen yang digunakan. Identifikasi kemurnian senyawa aktif dapat diketahui dengan melakukan analisa hasil uji KLT dari pengukuran jarak migrasi dan bentuk bercak noda senyawa pada dua fasa yang berbeda menggunakan parameter harga Rf. Hasil KLT yang lain adalah yang menghasilkan pemisahan senyawa yang banyak dan tidak *tailing*. Hal ini mengindikasikan pemisahan yang tersebut terjadi secara maksimal, dan diasumsikan tidak ada senyawa yang menumpuk satu sama lain.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.8 Rencana Kerja

Kegiatan	Januari				Februari				Maret				April				Mei				Juni				Juli			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Persiapan penelitian (beli bahan, alat dan sampling)	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Preparasi sampel (persiapan sampel, pembuatan reagen)	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Preparasi hewan coba (fase adaptasi)	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ekstraksi senyawa aktif	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Uji antimalarial	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-
Uji fitokimia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	-		-	-	-	-	-	-	-
KLT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	-		-	-	-	-	-	-
Penyusunan laporan penelitian	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-
Ujian skripsi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan sampel daun dari tanaman widuri *(Calotrpois gigantea)*. Tanaman ini merupakan tanaman yang banyak memiliki manfaat. Peneliti ingin mengkaji ulang manfaat dari daun widuri, salah satunya sebagai antimalaria yang dilakukan secara kombinasi dengan artemisin. Hal ini didasarkan pada perintah Allah SWT kepada umatnya untuk terus menelaah serta mengkaji makhluk hidup yang ada dibumi sehingga dapat mengetahui tujuan diciptakannya makhluk hidup yang lain. Karena pada dasarnya Allah SWT menciptakan suatu makhluk hidup pasti mempunyai manfaat untuk makhluk hidup yang lain. Oleh karena itu, kita sebagai manusia dituntut untuk berfikir, salah satunya dengan melakukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, diantaranya adalah (1) analisis kadar air, (2) preparasi sampel, (3) ekstraksi senyawa aktif dengan maserasi, (4) uji antimalaria ekstrak daun widuri *(Calotropis gigantea)*, (5) uji fitokimia dengan uji warna menggunakan reagen pereaksi, (6) pemisahan senyawa aktif dengan KLT analitik.

4.1 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air ini dilakukan melalui dua tahap yakni analisis kadar air sampel basah dan kering. Analisis kadar air sampel basah dan kering ini dilakukan dengan cara pemanasan. Metode yang digunakan pada analisis kadar ini adalah dengan menggunakan gravimetri yakni dilakukan dengan mengeringkan bahan di

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dalam oven pada suhu 105-110 ^{o}C selama 2 jam atau sampai diperoleh berat konstan.

Analisis kadar air sampel basah dilakukan dengan memanaskan cawan pada suhu 100-105 ^{o}C selama 15 menit agar cawan tidak terdapat kandungan air, kemudian diletakkan dalam desikator selama kurang lebih 10 menit dan ditimbang beratnya. Perlakuan ini dilakukan berulang hingga beratnya konstan. Sampel daun widuri yang belum dikeringkan ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya kemudian dikeringkan sampel di dalam oven pada suhu 100-105 ^{o}C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar airnya kemudian sampel disimpan dalam desikator selama 15 menit. Sampel tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat konstan. Perlakuan ini dilakukan 5 kali pengulangan (5 cawan). Hal ini dilakukan untuk membandingakan hasil kadar air pada cawan satu dengan cawan yang lain sehingga dapat meminimalisir data yang kurang akurat. Kemudian dihitung kadar airnya dengan menghitung selisih berat pada sampel sebelum pengeringan dan sesudah pengeringan. Sehingga diperoleh kadar air basah sebesar 78,33 % (bb/v). Hasil tersebut diindikasikan sebagai banyaknya air yang ada pada sampel daun widuri yang akan digunakan pada penelitian.

Tahapan yang dilakukan untuk analisis kadar air sampel kering, yaitu sama pada analisis kadar air sampel basah, tetapi sampel yang digunakan adalah sampel yang telah dikeringkan. Pada analisis kadar air kering ini juga dilakukan 5 kali pengulangan. Adapun tahap yang dilakukan adalah dengan memanaskan cawan pada suhu 100-105 ^{o}C selama 15 menit agar cawan tidak terdapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kandungan air, kemudian diletakkan dalam desikator selama kurang lebih 10 menit dan ditimbang beratnya. Perlakuan ini dilakukan berulang hingga beratnya konstan. Sampel daun widuri yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan kedalam cawan yang telah diketahui beratnya kemudian dikeringkan sampel di dalam oven pada suhu 100-105 ^{o}C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar airnya kemudian sampel disimpan dalam desikator selama 15 menit. Dari hasil perhitungan diperoleh kadar air kering sebesar 15,57% (bb/v). Kadar air kering yang terkadung pada daun widuri cukup besar yakni melebihi 10%. Kadar air yang besar ini mempengaruhi pada proses penyimpanan. Sehingga perlu dilakukan pengeringan kembali dengan panas matahari. Hal ini dikarenakan dengan kadar air melebihi 15%, kemungkinan tumbuhnya mikroba sangat besar. Menurut Puspita (2009), bila kadar air yang terkandung kurang dari 10% maka kestabilan optimum bahan akan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi. Ketidaksesuaian hasil kadar air dengan literatur tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Astuti (2009), kadar air pada suatu tanaman tergantung pada jenis tumbuhan, struktur, usia dari jaringan organ, derajat keterikatan air pada tanaman itu sendiri, letak geogafis dan iklim.

4.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun widuri *(Calotropis gigantea).* Sampel yang digunakan telah dilakukan uji taksonomi di juruasan biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Adapun tahap pertama yang dilakukan adalah mengeringkan sampel dengan panas

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

matahari. Pemanasan tidak dilakukan secara langsung, yakni dengan meletakkan sampel pada ruangan yang terkena cukup cahaya matahari Hal ini diharapkan tidak merusak senyawa aktif yang terdapat pada sampel tersebut. Karena pada dasarnya senyawa aktif yang terdapat pada tanaman sangat rentan pada proses pemanasan. Proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam sampel. Kadar air yang rendah akan memperkecil proses enzimatis sehingga sampel tidak cepat busuk pada saat proses penyimpanan dan dapat bertahan lebih lama.

Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Hal ini dilakukan untuk memperluas permukaan sampel tersebut sehingga semakin banyak bagian yang kontak dengan pelarut pada proses ekstraksi dan semakin banyak pula ekstrak yang didapatkan. Kemudian serbuk tersebut di ayak dengan ayakan 60 mesh. Ayakan tersebut digunakan untuk memilah ukuran serbuk dari sampel, dimana serbuk dengan ukuran > 60 mesh akan lolos dari ayakan, sedangkan ukuran < 60 mesh tidak akan lolos dari ayakan. Sehingga dapat dikatakan bahwa serbuk yang digunakan adalah berukuran > 60 mesh. Keseragaman ukuran serbuk sampel ini diharapkan dapat memaksimalkan proses ekstraksi senyawa aktif yang ada pada tanaman tersebut. Hal ini juga didukung oleh literatur, ukuran 60 mesh dinding sel pada tumbuhan telah terbuka dan dapat keluar. Semakin besar ukuran mesh, maka semakin banyak pula senyawa yang terekstrak (Wulandari dan Suhartatik).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Maserasi

Proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi adalah proses pemisahan sampel dengan pelarut yang sesuai yang dilakukan dengan cara perendaman. Keuntungan ekstraksi ini adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Ahmad, 2006).

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun widuri sebanyak 100 g dan dibagi menjadi 2 bagian, masing-masing 50 g. Pada tiap erlenmayer dengan 50 g serbuk ditambahkan 250 mL etanol 80 %. Proses maserasi dilakukan pada suhu ruang dan direndam selama 24 jam. Pada proses maserasi ini, pelarut akan menembus dinding sel dari sampel sehingga zat aktif atau metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel juga akan terlarut. Menurut Hargono (1986), proses maserasi pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, menyebabkan zat aktif yang ada didalam sel terdesak ke luar dan larut dalam pelarut. Banyaknya zat aktif yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh pemilihan pelarut yang sesuai. Pemilihan pelarut yang baik adalah dengan didasarkan pada tingkat kepolarannya, yakni tingkat kepolaran pelarut harus sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa yang akan diekstrak. Menurut Khopkar (1990), menyatakan bahwa proses ekstraksi adalah sesuai dengan hukum *"like dissolves like"* yakni senyawa yang bersifat polar hanya dapat larut dalam pelarut polar dan semipolar, dan sebaliknya, senyawa yang bersifat non polar hanya dapat larut dalam pelarut

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

non polar dan semi polar. Proses maserasi yang terjadi juga dipengaruhi oleh kadar air dari sampel yang digunakan. Kadar air yang besar menyebabkan sifat sampel menjadi lebih polar sehingga kelarutan senyawa yang terkandung pada sampel pada pelarut polar juga lebih besar.

Proses maserasi disertai dengan pengadukan menggunakan shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 2 jam untuk mempercepat pelarutan senyawa ke dalam pelarutnya. Hal ini terjadi karena adanya kontak yang berulang-ulang antara serbuk dengan pelarut. Menurut Cannell (1998), pengadukan pada proses maserasi ditujukan untuk meningkatkan efisiensi metode maserasi supaya kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan ekstrak yang diperoleh lebih homogen. Setelah dilakukan maserasi maka maserat dipisahkan dari pelarutnya dengan cara disaring dengan corong buchner dan kertas saring. Sehingga molekul-molekul yang berukuran lebih besar akan tertahan pada kertas saring dan dihasilkan filtrat hasil maserasi berwarna hijau tua.

Proses maserasi dilakukan kembali dengan volume pelarut yang berbeda-beda yakni etanol 150 mL dan 100 mL pada setiap harinya, sampai filtrat yang dihasilkan berwarna pucat. Filrat yang berwarna pucat tersebut mengindikasikan bahwa zat aktif yang memiliki kepolaran yang sama dengan etanol telah banyak terekstrak. Filtrat yang telah diperoleh, selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator vaccum,* pemekatan ini dapat terjadi karena adanya penguapan pelarut. Penguapan pelarut ini dipengaruhi oleh faktor suhu dan tekanan. Suhu penguapan pelarut diatur berdasarkan suhu titik didih

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pelarutnya, yakni untuk etanol adalah 70-75^{o}C. Dan tekanan yang digunakan ±800 hPa dengan kecepatan rotor 5 rpm.

Menurut Vogel (1978), proses penguapan pelarut dibawah titik didihnya dapat terjadi karena adanya pompa vakum. Pompa vakum tersebut memberikan tekanan yang lebih besar sehingga pelarut dibawah titik didihnya dapat teruapkan dan uap yang dihasilkan akan mudah tertarik ke dalam kondensor yang selanjutnya didinginkan sehingga dihasilkan pelarutnya kembali dalam wujud cair.

Penguapan pelarut dengan *rotary evaporator vaccum* dihentikan sampai diperoleh ekstrak pekat yaitu ketika tidak ada pelarut yang menetes pada *receiving part* dengan asumsi bahwa sudah tidak ada pelarut yang terdapat pada sampel ekstrak pekat. Hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan berat ekstrak pada Lampiran 6.

Tabel 4.1 Hasil maserasi serbuk daun widuri *(Calotropis gigantea)*

Pelarut	**Perubahan warna filtrate**	**Warna ekstrak pekat**	**Rendemen (%) (b/b)**
Etanol	Hijau tua pekat menjadi hijau pucat	Hijau tua	16,4718

Banyaknya rendemen atau ekstrak pekat yang dihasilkan, menunjukkan kandungan senyawa polar yang terkandung pada daun widuri. Ekstrak pekat yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk uji antimalaria *in vivo* uji fitokimia dengan reagen dan diteruskan dengan uji senyawa aktif menggunakan kromatogafi lapis tipis (KLT).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.4 Aktivitas Antimalaria Kombinasi Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) dan Artemisin pada Mencit Jantan Galur Balb/C

Uji aktivitas antimalaria ini, dilakukan untuk mengetahui efek antimalaria pada kombiasi ekstrak etanol 80% daun widuri dan artemisin pada mencit jantan galur Balb/C. Penelitian tentang antimalaria dengan daun widuri telah banyak dilakukan dan telah terbukti sebagai antimalaria. Penggunaan artemisin sebagai antimalaria juga telah banyak dilakukan, tetapi efek dari antimalaria yang ditimbulkan dari artemisin telah menurun. Menurut Sukandar, dkk. (2011), terapi antimalaria yang direkomendasikan adalah terapi kombinasi dua atau lebih obat antimalaria yang masing-masing bekerja mambunuh parasit di daerah skizontosidal pada target reseptor yang berbeda dengan harapan dapat meningkatkan efektivitas dan mencegah atau menghambat berkembangnya resistensi. Akhir-akhir ini juga telah banyak yang melakukan kombinasi entimalaria dengan artemisin dan obat antimalaria lain, maupun kombinasi artemisin dengan ekstrak tanaman organik. Namun sejauh ini masih belum ada pembuktian efek animalaria kombinasi artemisin dengan ekstrak daun widuri.

Pengujian aktivitas antimalaria pada penelitian ini menggunakan hewan coba mencit *Mus musculus* jantan galur Balb/C. Pemilihan mencit *Mus musculus* dikarenakan *Mus musculus* cukup sensitif terhadap infeksi parasit dan memiliki reaksi pengobatan yang cukup baik, serta mencit ini relatif lebih tahan terhadap infeksi *Plasmodium berghei* daripada strain yang lain meskipun tidak diobati (Suwarni *et al*., 1994). Dan pemilihan mencit jantan dikarenakan mencit jantan tidak dipengaruhi siklus uterus sehingga lebih stabil dari pada mencit betina.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Parasit yang digunakan pada penelitian ini adalah *Plasmodium berghei.* Hal ini dikarenakan *Plasmudium berghei* memiliki kesamaan dengan parasit yang menginfeksi mamalia, meliputi: siklus hidup, morfologi stadium pertumbuhan, organisasi genom, *metabolic pathway* (Coutrier, 2008).

Efek antimalaria ekstrak daun widuri dapat diketahui melalui derajat parasitemia yang dilakukan mulai dari hari ke hari ke-0 sampai hari ke-4 setelah terapi. Pemeriksaan parasitemia hari ke-0 bertujuan untuk membuktikan bahwa semua mencit berada dalam *range* derajat parasitemia yang sama pada hari akan dilakukan pengobatan. Hasil pemeriksaan derajat parasitemia disajikan pada Tabel 4.2 dan gambar 4.1.

Tabel 4.2 Rata-Rata Derajat Parasitemia Ekstrak Daun Widuri

Perlakuan	Rata-rata derajat parasitemia (%) ± standar deviasi				
	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
Kontrol (-)	2,9±0,76	3,04±0,22	3,4±0,33	3,6±1,04	3,86±0,33
Kontrol (+)	2,34±0,43	2,22±0,43	1,54±0,30	1,38±0,22	0,7±0,11
Dosis 1	3,88±0,48	2,34±0,33	1,7±0,50	1,44±0,35	0,5±2,86
Dosis 2	3,14±0,60	2,12±0,85	1,74±0,31	1,9±0,51	1,04±0,43
Dosis 3	2,4±1,26	2,32±0,39	1,74±0,29	1,2±0,10	1,72±0,23

Keterangan:

Kontrol negatif : Pemberian CMC-Na 1% dengan diinfeksi *P. Berghei*

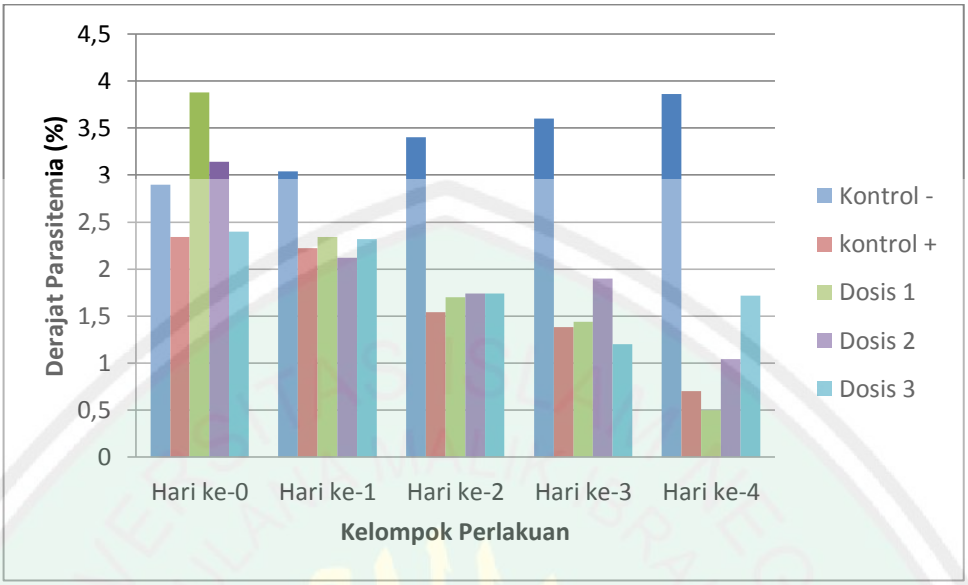
Kontrol positif : Pemberian artemisin dosis 4 mg/kgBB dengan diinfeksi *P. Berghei*

Dosis 1 : Pemberian terapi ekstrak daun widuri dosis 10 mg/kgBB kombinasi artemisin ¼ dari dosis standar

Dosis 2 : Pemberian terapi ekstrak daun widuri dosis 1 mg/kgBB kombinasi artemisin ¼ dari dosis standar

Dosis 3 : Pemberian terapi ekstrak daun widuri dosis 0,1 mg/kgBB kombinasi artemisin ¼ dari dosis standar

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.1 Gafik derajat parasitemia kelompok perlakuan ekstrak daun widuri

Berdasarkan Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa terdapat ketidakstabilan nilai derajat parasitemia dari hari ke-0 hingga hari ke-4 pada setiap kelompok perlakuan. Derajat parasitemia tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan kontrol negatif, hal ini dikarenakan tidak adanya terapi pada kelompok tersebut. Pada kelompok perlakuan kontrol positif (artemisin) dan dosis 1 (10 mg/Kg BB), mengalami penurunan derajat parasitemia. Penurunan nilai derajat parasitemia pada kelompok perlakuan kontrol positif tidak terlalu signifikan. Hal ini dikarenakan artemisin yang digunakan adalah artemisin obat yakni dyhidroartemisin. Obat artemisin ini adalah bukan obat artemisin murni sehingga masih banyak senyawa-senyawa lain yang ada di dalamnya. Hal ini menjadi salah satu faktor kurangnya efek penghambatan parasitemia pada malaria. Sedangkan pada kelompok perlakuan kontrol dosis 2 (1 mg/Kg BB) dan dosis 3 (0,1 mg/Kg BB) nilai derajat parasitemia yang dihasilkan adalah tidak stabil. Hal ini dapat

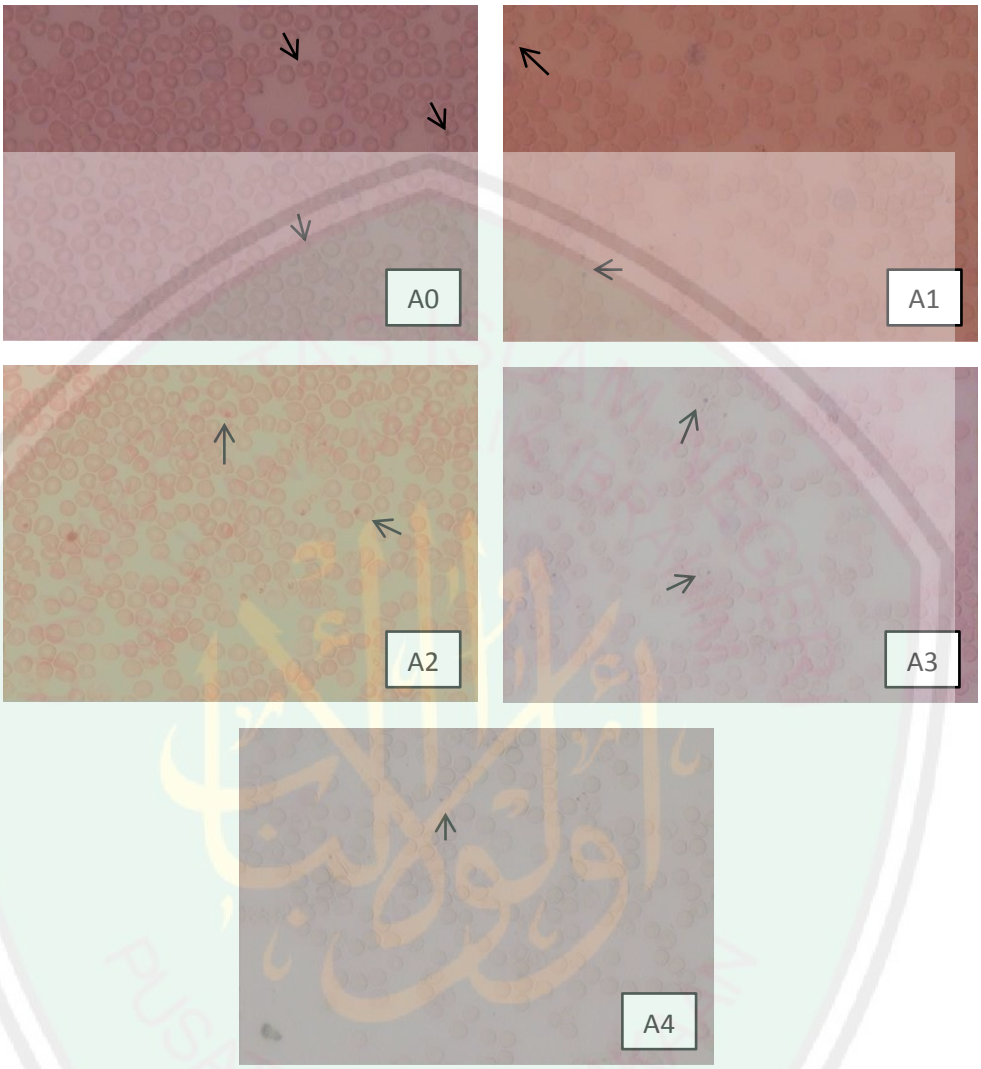
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dilihat pada gambar, bahwa terjadi peningkatan derajat parasitemia pada hari ke-3 dan ke-4.

Pengukuran derajat parasitemia dilakukan dengan membuat hapusan darah yang dilakukan dengan cara mengambil setetes darah dari ekor mencit dengan menggunting ekor mencit dan diteteskan pada *object glass*. Tetesan darah tersebut ditipiskan dengan menggunakan tepi *object glass* dan ditunggu sampai kering. Kemudian dilakukan pemeriksaan dengan mikroskop (Sardjono dan Fitri, 2007). Berikut adalah gambar hasil pengamatan hapusan darah pada kelompok perlakuan kontrol negatif yakni perlakuan tanpa terapi.

Pada Gambar 4.2 dapat dilihat bahwa jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* terus meningkat seiring dengan bertambahnya hari perlakuan. Peningkatan derajat parasitemia pada kelompok kontrol negatif ini tidak terlalu signifikan. Hal ini dapat dilihat dari presentase derajat parasitemia yang tidak jauh beda pada setiap harinya. Rata-rata derajat parasitemia hari ke-0 (A0) adalah sebesar 2,9%, infeksi plasmodium pada darah tersebut dapat dilihat dengan adanya bintik hitam pada eritrosit, binti hitam tersebut ditunjuk dengan tanda panah. Rata-rata derajat parasitemia hari ke-1 (A1) hingga hari ke-4 (A4) pasca perlakuan meningkat berturut-turut menjadi 3,04% ; 3,4% ; 3,6% dan 3,86%. Peningkatan rata-rata derajat parasitemia diakibatkan pecahnya skizon yang kemudian menyebar dan menginfeksi sel darah merah yang lain.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

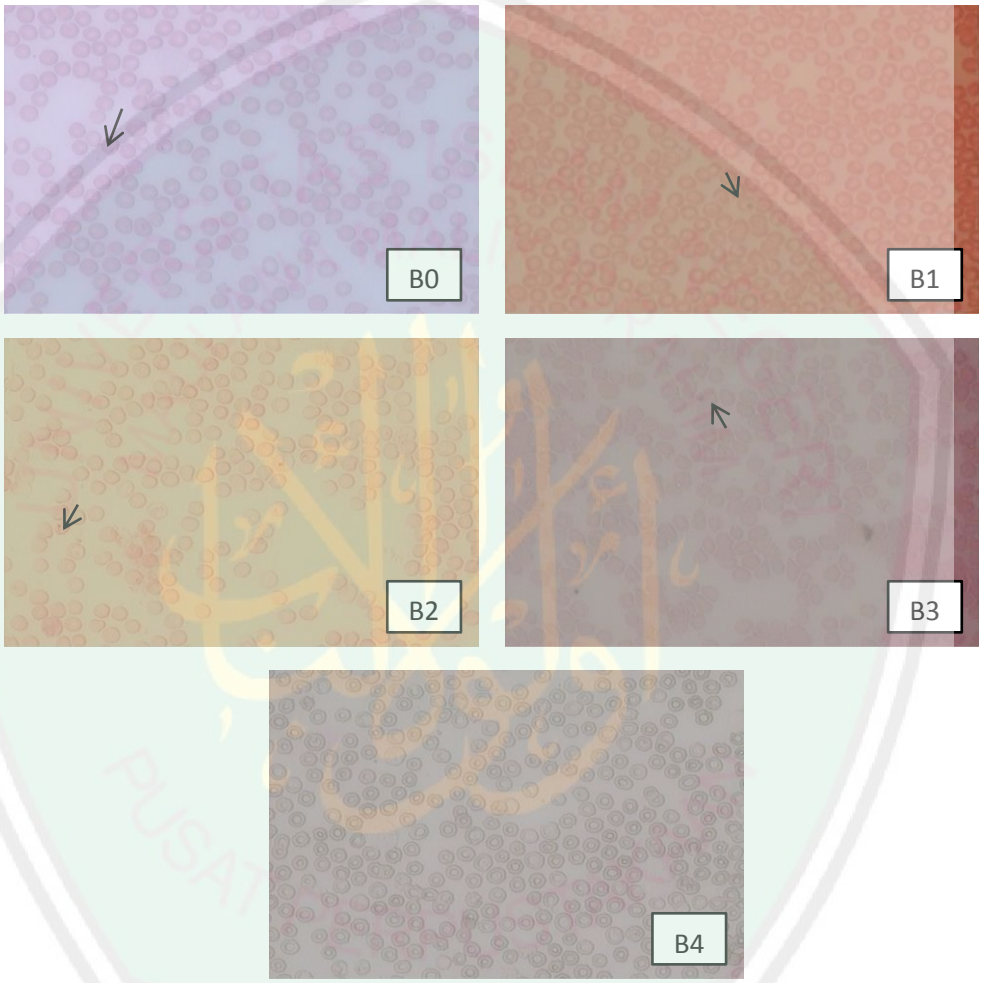


Gambar 4.2 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok kontrol (-) / tanpa terapi pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4, dengan pengamatan mikroskop perbesaran 400x.

Pada Gambar 4.3 terlihat aktivitas obat artemisin (dihydroartemisin) yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* seiring bertambahnya jumlah hari perlakuan. Pada hari ke-0 (B0) hingga hari ke-3 (B3) penurunanan derajat parasitemia yang terjadi tidak terlalau signifikan. Hal ini dapat dilihat dari derajat parasitemia berturut-turut adalah 2,84% ; 2,22% ; 1,54% dan 1,38%. Sedangkan pada hari ke-4 terjadi penurunan derajat parasitemia

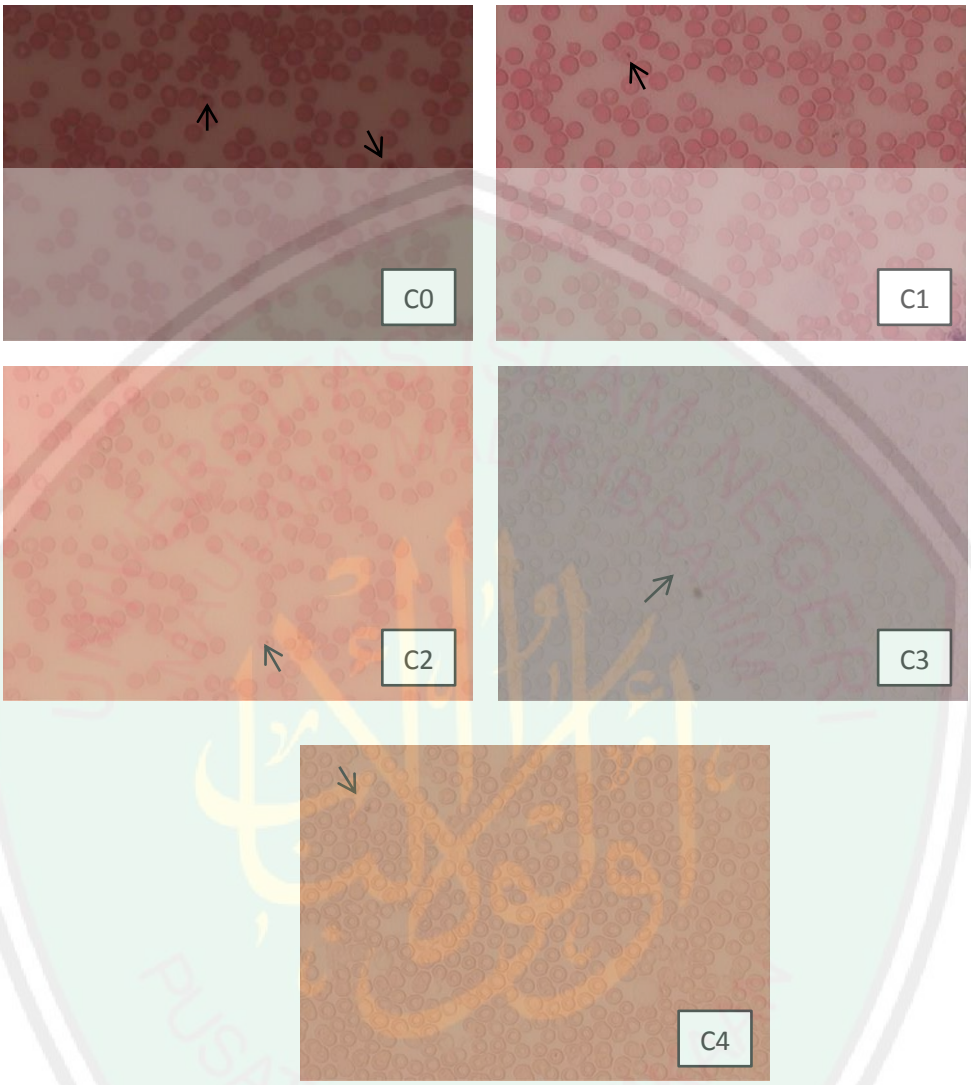
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

yang cukup drastis yakni 0,7% hal tersebut nampak jelas terlihat pada hapusan eritrosit yang bersih dari parasit (B4).



Gambar 4.3 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok positif (+) / terapi artemisin pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4, dengan pengamatan mikroskop perbesaran 400x.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.4 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok kombinasi ekstrak daun widuri dosis 10 mg/kg bb dan artemisin dosis ¼ (4 m/kg bb) pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4, dengan pengamatan mikroskop perbesaran 400x.

Pada Gambar 4.4 terlihat aktivitas kombinasi ekstrak daun widuri dosis 10 mg/Kg BB dan obat artemisin (dihydroartemisin) yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* seiring bertambahnya jumlah hari perlakuan. Pada hari sebelum terapi (C0) didapatkan rata-rata derajat parasitemia sebesar 3,88%. Pada hari ke-0 (C0) hingga hari ke-3 (C3) penurunanan derajat parasitemia yang terjadi tidak terlalau signifikan. Hal ini

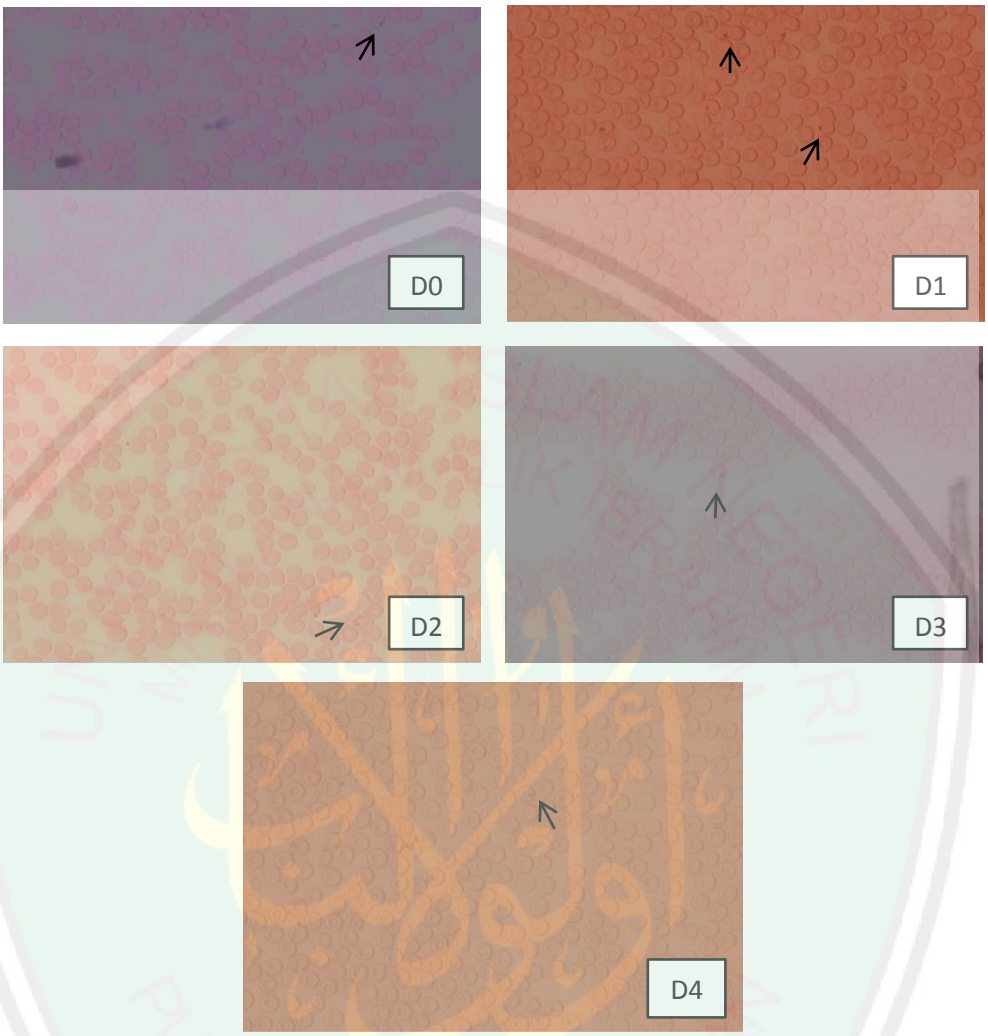
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dapat dilihat dari derajat parasitemia berturut-turut adalah 3,88% ; 2,04% ; 1,7% dan 1,44%. Sedangkan pada hari ke-4 terjadi penurunan derajat parasitemia yang cukup drastis yakni 0,5%. Hal tersebut nampak jelas terlihat pada hapusan eritrosit yang bersih dari parasit (C4).

Derajat parsitemia pada kelompok perlakuan kontrol positif dan ekstrak daun widuri dosis 10 mg/Kg BB, keduanya mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan cukupnya efektifitas penghambatan pertumbuhan plasmodium yang terjadi pada dosis tersebut.

Pada Gambar 4.5 terlihat aktivitas kombinasi ekstrak daun widuri dosis 1 mg/Kg BB dan obat artemisin (dihydroartemisin) yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* seiring bertambahnya jumlah hari perlakuan. Pada hari sebelum terapi (D0) didapatkan rata-rata derajat parasitemia sebesar 3,14%. Pada hari ke-1 (D1) hingga hari ke-2 (D2) tampak terjadi penurunan parasit *plasmodium berghei* yang diperkuat dengan data derajat parasitemia sebesar 2,12% dan 1,74%. Sedangkan pada hari ke-3 (D3) derajat parasitemia mengalami kenaikan menjadi 1,9%, namun pada hari ke-4 (D4) terjadi penurunan yang sangat drastis yakni 1,04%.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

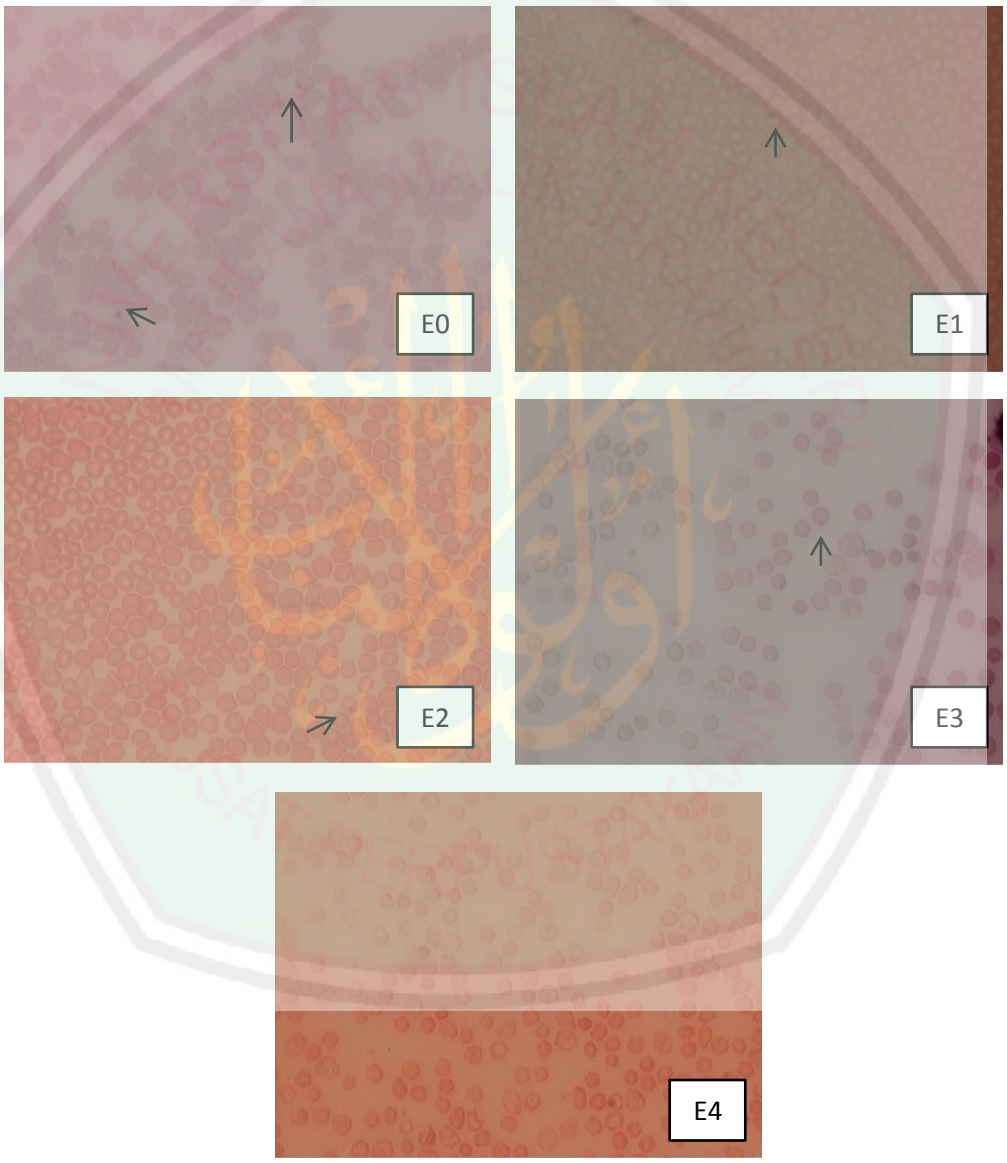


Gambar 4.5 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok kombinasi ekstrak daun widuri dosis 1 mg/kg bb dan artemisin dosis ¼ (4 m/kg bb) pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4, dengan pengamatan mikroskop perbesaran 400x.

Pada Gambar 4.6 terlihat aktivitas kombinasi ekstrak daun widuri dosis 0,1 mg/Kg BB dan obat artemisin (dihydroartemisin) yang ditandai dengan penurunan jumlah eritrosit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* seiring bertambahnya jumlah hari perlakuan. Pada hari sebelum terapi (E0) didapatkan rata-rata derajat parasitemia sebesar 2,4%. Pada hari ke-1 (E1) terjadi peningkatan parasitemia yakni 2,32%. Sedangkan pada hari ke-2 (E2) hingga hari ke-3 (E3)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terjadi penurunan yang cukup drastis, yang diperkuat dengan nilai derajat parasitemia berturut-turut 1,74% dan 1,2%. Sedangkan pada hari ke-4 (E4) terjadi kenaikan derajat parsitemia sebesar 1,72%.



Gambar 4.6 Gambaran eritrosit terinfeksi kelompok kombinasi ekstrak daun widuri dosis 0,1 mg/kg bb dan artemisin dosis ¼ (4 m/kg bb) pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4, dengan pengamatan mikroskop perbesaran 400x.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Derajat parasitemia pada dosis 2 dan dosis 3 ekstrak etanol 80% daun widuri mengalami ketidakstabilan atau mengalami perubahan yang tidak menentu. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni adanya perbedaan daya tahan tubuh pada setap mencit, adanya infeksi luka yang disebabkan pertengakaran antar mencit serta pengaruh konsumsi makanan dan minuman. Beberapa faktor tersebut juga dapat mempengaruhi antibodi yang ada pada mencit tersebut. Munculnya antibodi pada mencit menyebabkan penurunan derajat parasitemia pada sel darah merah. Hal ini dikarenakan antibodi tersbut menghalangi parasit untuk tumbuh atau menginfeksi sel darah merah yang lain bahkan dapat mengurangi jumlah parasitemia pada sel darah merah tersebut. Menurut Zona (2011), antibodi bekerja melalui dua cara yang berbeda untuk mempertahankan tubuh terhadap penyebab penyakit, yaitu dengan menyerang langsung penyebab penyakit tersebut, atau dengan mengaktifkan system komplemen yang kemudian akan merusak penyebab penyakit penyakit tersebut.

Timbulnya antibodi tersebut mempengaruhi efektivitas dosis yang diberikan. Keefektivitasan dosis tersebut dapat dilihat dari % penghambatan pada setiap masing-masing kelompok perlakuan. % penghambatan dapat diketahui dengan rumus berikut.

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

Berdasarkan nilai % penghambatan tersebut dapat diperoleh nilai probit dengan mengkonversi nilai % penghambatan pada tabel probit penghambatan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Adapun hasil % penghambatan dan probit penghambatan pada tiap-tiap dosis disajikan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rata-rata nilai persen penghambatan parasit hari ke-1 hingga hari ke-4 ekstrak etanol 80% pada tiap-tiap dosis

Interaksi	% Penghambatan
Dosis 10 mg/kg BB pada Hari ke-1	32,52 %
Dosis 1 mg/kg BB pada Hari ke-1	32,09 %
Dosis 0,1 mg/kg BB pada Hari ke-1	22,81 %
Dosis 10 mg/kg BB pada Hari ke-2	50,32 %
Dosis 1 mg/kg BB pada Hari ke-2	49,01 %
Dosis 0, mg/kg BB pada Hari ke-2	61,64 %
Dosis 10 mg/kg BB pada Hari ke-3	59,76 %
Dosis 1 mg/kg BB pada Hari ke-3	45,63 %
Dosis 0,1 mg/kg BB pada Hari ke-3	66,88 %
Dosis 10 mg/kg BB pada Hari ke-4	87,34 %
Dosis 1 mg/kg BB pada Hari ke-4	78,82 %
Dosis 0,1 mg/kg BB pada Hari ke-4	55,22 %

Berdasarkan Tabel 4.3 nilai probit penghambatan semakin meningkat seiring meningkatnya % penghambatan dan dosis perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin besar dosis yang diberikan maka semakin besar pula efektifitas penghambatan pertumbuhan parasit yang dihasilkan dosis tersebut. Sehingga dapat dinyatakan bahwa efektivitas penghambatan pertumbuhan parasit paling baik adalah pada dosis 10 mg/KgBB.

Berdasarkan dari hasil statistik, penggunaan variasi dosis yang dihasilkan tidak terlalu signifikan. Hal ini dapat dilihat dari nilai P (nilai signifikasi) yang dihasilkan adalah > 0,05 yakni 0,450. Dosis yang tidak terlalu signifikan ini diduga karena rentang dosis yang digunakan tidak teralu berbeda jauh. Sedangkan hasil statistik dari interaksi dosis dan hari adalah signifikan. Hal ini dapat dilihat dari nilai P (nilai signifikasi) yang dihasilkan adalah < 0,05 yakni 0,029, sehingga dilanjutkan untuk uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji BNT ini digunakan untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mengetahui pada dosis dan hari berapa yang paling memberikan pengaruh penghambatan. Berdasarkan dari hasil uji BNT didapatkan bahwa interaksi penghambatan parasitemia yang paling baik adalah pada dosis 10 mg/kg BB pada hari ke-4 terapi dengan nilai rata-rata terbesar yakni 87,34.

Berdasarkan hal tersebut, dapat dilihat korelasi dosis dengan efek penghambatan yang dihasilkan dari hasil statistik adalah sebesar 0,786 atau 78,6 %. Nilai tersebut menunjukkan korelsi yang sangat kuat. Hal ini dapat dilihat berdasarkan tabel korelasi Perason bahwa nilai 0,75 – 0,99 bermakna korelasi yang sangat kuat. Nilai korelasi ini menunjukkan bahwa setiap perlakuan mempunyai keefektifan yang sama, tetapi untuk aplikasi dalam bidang farmasi dosis yang paling baik adalah dosis 10 mg/Kg BB. Pada penelitian ini nilai efektivitas dosis 50% (ED_{50}) tidak dapat ditentukan. Hal ini dikarenakan terapi yang digunakan adalah terapi kombinasi. Sedangkan nilai ED_{50} hanya digunakan untuk monoterapi.

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, dapat dilihat bahwa hasil penghambatan parasitemia oleh kombinasi artemisin dengan ekstrak etanol 80% lebih baik dari pada artemisin obat. Hal ini relevan dengan pernyataan dari WHO bahwa kombinasi ideal untuk pengobatan malaria adalah dengan ACT *(Artemisin Combination Teraphy)*. Hal ini dikarenakan obat kombinasi mempunyai waktu hidup yang panjang dan belum timbul resistensi (Harjianto, 2011).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa ekstrak etanol 80% daun widuri. Pengujian fitokimia ini dilakukan dengan mengambil sedikit sampel ekstrak etanol 80%. Uji fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid dan saponin. Uji fitokimia ini dilakukan 3 kali pengulangan. Hal ini dilakukan untuk memperkuat hasil yang didapatkan.

Tabel 4.4 Uji fitokimia ekstrak etanol 80% daun widuri

Golongan senyawa	Ekstrak etanol 80%
Flavonoid	-
Tanin	++
Alkaloid	-
Triterpenoid	-
Steroid	++
Saponin	-

Keterangan:
Tanda ++ : terkandung seyawa lebih banyak dengan warna pekat
Tanda + : terkandung seyawa dengan warna lebih muda

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat dilihat bahwa senyawa yang banyak terkandung dalam daun widuri adalah golongan senyawa steroid dan tanin. Hal ini dapat dilihat dari hasil warna yang didapatkan pada setiap senyawa golongan.

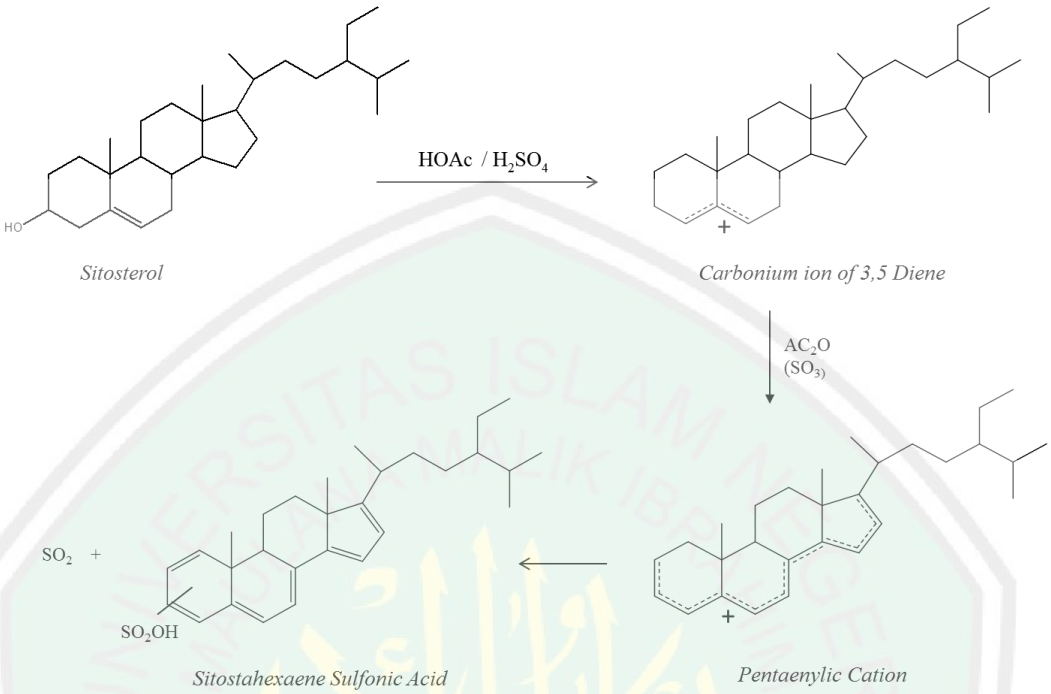
4.5.1 Steroid

Uji fitokimia dengan reagen pada senyawa steroid adalah dengan cara melarutkan sampel ekstrak etanol 80 % daun widuri 10.000 ppm dalam 0,5 mL kloroform. Penambahan kloroform ini bertujuan untuk melarutkan senyawa steroid. Hal ini dikarenakan senyawa steroid sangat larut pada pelarut klorofom..

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Dengan banyaknya senyawa steroid yang larut maka semakin jelas pula warna yang dihasilkan. Kemudian campuran larutan tersebut ditambahkan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 mL. Penambahan asam asetat ini bertujuan untuk membentuk turunan asetil dalam kloroform. Kemudian ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1,5 mL. Golongan senyawa steroid apabila ditambahkan asam sulfat pekat menghasilkan cicin hijau pekat diantara dua pelarut. Menurut Robinson (1995), pada sampel yang mengandung senyawa steroid akan membentuk cincin hijau apabila ditambahkan dengan larutan asam sulfat pekat tetes demi tetes (1 - 2 mL). Senyawa steroid yang dihasilkan dari tumbuhan adalah berbeda-beda. Senyawa steroid yang biasa terdapat pada tumbuhan tingkat rendah adalah fucosterol dan pada tumbuhan tingkat tinggi adalah sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne, 1987; Robinson, 1995). Berikut adalah dugaan reaksi steroid dengan reagen LB.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.7 Contoh reaksi Sitosterol dengan reagen Lieberman-Burchard (mengacu pada Burke, dkk., 1974).

4.5.2 Tanin

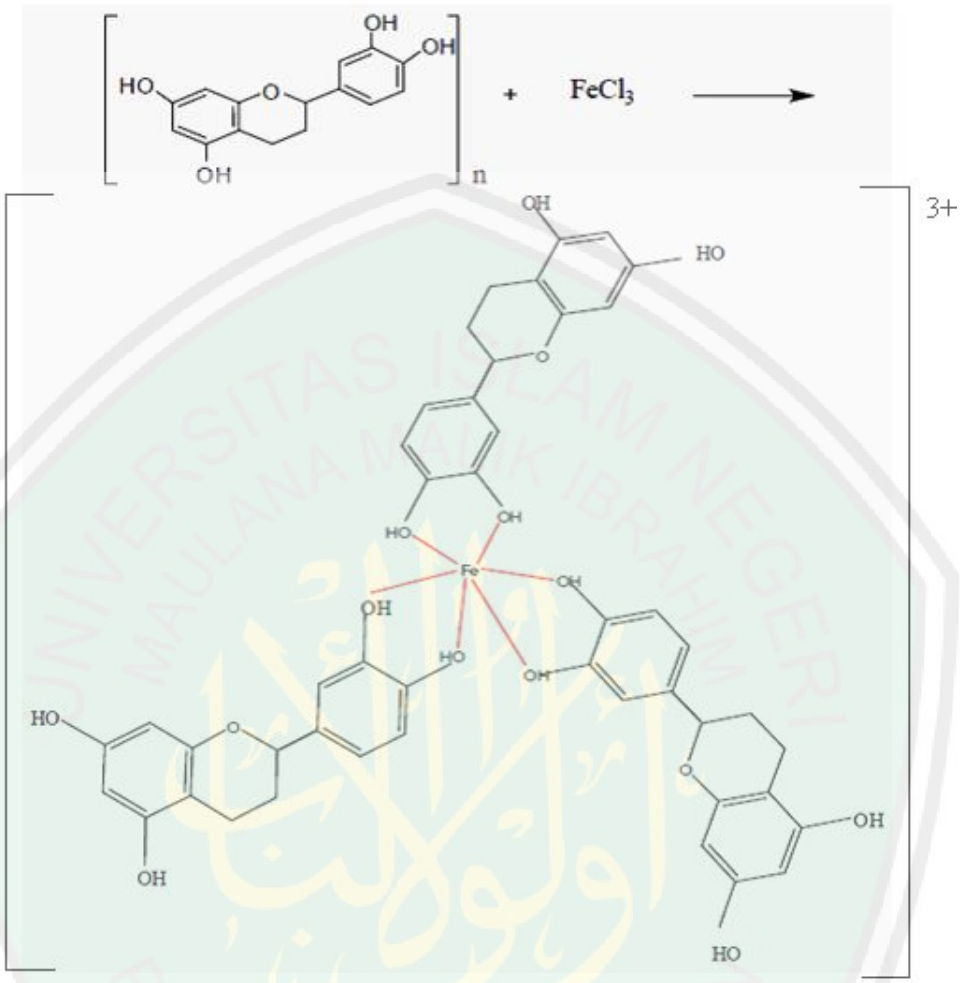
Uji fitokimia dengan reagen pada senyawa steroid adalah dengan cara memberikan pereaksi $FeCl_3$ 1 % sebanyak 2 tetes dalam sampel ekstrak etanol 80 % daun widuri 10.000 ppm. Pengujian tanin dilakukan dengan melakukan penambahan $FeCl_3$. Pada penambahan ini golongan tanin terhidrolisis akan menghasilkan warna biru kehitaman dan tanin terkondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Perubahan warna ini terjadi ketika penambahan FeCl3 yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin (Sangi dkk., 2008). Penambahan pereaksi $FeCl_3$ mengahasilkan perubahan warna hijau kehitaman yakni merupakan golongan senyawa tanin katekol.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pembentukan warna hijau kehitaman pada uji tanin ini disebabkan kerana adanya ikatan kompleks. Menurut Harborne (1987), komponen organik dapat berfungsi sebagai agen pengikat logam karena adanya satu gugus kaboksil dan dua gugus hidroksil yang berdekatan bereaksi dengan ion logam membentuk suatu kompleks yang stabil. Potensi tersebut ditunjukkan oleh posisi gugus hidroksilnya yang mampu menangkap radikal bebas dengan cara mengikat Fe sekaligus menstabilkan Fe.

Terbentuknya warna yang dihasilkan dari uji tannin ini juga dipengaruhi oleh campuran ligan yang terikat pada logam Fe serta pH. Perbandingan 3 : 1 antara ligan dan atom pusat adalah perbandingan yang paling stabil. Dalam perbandingan tersbut 1 atom Fe mengikat 3 ligan tanin ketekol atau tanin galat, atau 1 atom Fe mengikat 2 ligan tanin ketekol atau galat dan 1 ligan H_2O. Pada pH sedikit asam (5 – 6,5), besi akan terikat oleh 3 tanin galat dengan warna kompleks biru ungu. Sedangkan pada pH < 4, ikatan polifenol dengan besi akan terbentuk pada perbandingan 1 : 1 dengan warna kompleks biru hijau (Perronn dan Brumaghim, 2009). Berikut adalah dugan reaksi uji tanin dengan $FeCl_3$, dimana logam Fe^{3+} cenderung stabil dengan struktur oktahedral dan mengikat 6 atom donor.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.8 Dugaan reaksi tanin dengan $FeCl_3$

4.6 Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik (KLTA)

Hasil dari uji fitokimia dengan menggunakan reagen, diperkuat dengan identifikasi menggunakan Kromatogafi Lapis Tipis (KLT). Alasan penggunaan metode KLT adalah karena KLT hanya memebutuhkan penyerap dan cupilkan dalam jumlah sedikit dan noda-noda yang terpisahkan dilokalisisr pada plat. Metode KLT ini juga lebih efisien karena membutuhkan waktu yang lebih cepat dan diperoleh pemisahan yang baik. Menurut Sastrohamidjojo (2002), waktu rata-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

rata untuk kromatogafi lapis tipis dengan panjang 10 cm pada silika gel adalah sekitar 20 – 30 menit (tergantung dari fasa gerak).

Kromatogafi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan yang diadasarkan pada distribusi fasa gerak dan fasa diam. Fasa diam yang duigunakan pada KLT ini adalah silika gel F_{254}. Sebelum digunakan, plat KLT diaktivasi dengan cara di oven pada suhu 60 - 70 ^{o}C selama ± 10 menit. Hal ini bertujuan untuk mengurangi kadar air pada plat sehingga tidak memepengaruhi proses pemisahan senyawa aktif yang ditentukan. Fasa gerak yang digunakan pada pemisahan ini adlah yang mempunyai sifat yang sama dengan senyawa yang akan dipisahkan. Eluen yang digunakan pada proses ini adalah eluen terbaik yang dihasilkan oleh peneliti sebelumnya.

Sebelum proses elusi, dilakukan penotolan ekstrak etanol 80% daun widuri 1000.000 ppm pada plat KLT. Penotolan dilakukan 1 cm dari bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler dan dilakukan pada tempat yang sama serta sekecil-kecilnya. Proses penotolan dilakukan berulang-ulang dan ditunggu hingga totolan kering. Hal ini bertujuan untuk menghindari pelebaran spot yang dihasilkan setelah proses elusi. Proses elusi dilakukan dengan memasukkan plat KLT yang telah diberi totolan kedalam bejana yang pengembang yang telah jenuh oleh pelarut. Penjenuhan pelarut ini digunakan agar proses elusi berjalan secara maksimal. Pelarut yang digunakan pada proses elusi ini adalah pelarut yang mempunyai sifat yang sama dengan senyawa yang akan dipisahkan. Proses elusi dilakukan dengan eluen yang campuran dengan 5 variasi yang berbeda. Menurut Ganjar dan Rahman (2007), fasa gerak pada KLT yang paling baik adalah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

campuran dari beberapa pelarut organik, karena campuran pelarut organik dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal.

Pada proses elusi, plat KLT diletakkan dengan vertikal. Banyaknya volume eluen yang digunakan tidak boleh melebihi batas totolan ekstak. Hal ini dikarenakan ektrak yang berada pada totolan dapat larut dalam eluen. Plat KLT yang telah dimasukkan dalam eluen dibiarkan sampai terjadi pemisahan atau sampai eluen mencapai garis batas atas atau sampai eluen mencapai ¾ dari plat KLT.

Umumnya bercak dari pemisahan KLT adalah tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan pencacahan radioaktif atau fluoresensi sinar ultraviolet.

Menurut Rohman (2007), penyemprotan plat KLT digunakan untuk mereaksikan secara kimia seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Dan pengamatan plat KLT dibawah sinar lampu ultraviolet yang dipasang pada panjang gelombang emisi 254 dan 366 nm untuk menampakkan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam.

Bercak yang dihasilkan dari proses elusi mempunyai nilai Rf yang berbeda-beda. Perbedaan nilai Rf dihasilkan dari proses elusi, dipengaruhi oleh hubungan dari sifat senyawa yang dispisahkan, fasa gerak dan fasa diamnya. Pengaruh pemisahan senyawa berdasarkan fasa diam dan fasa geraknya dapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dilihat dari nilai Koefisien Distribusi (KD = fasa diam/fasa gerak). Berdasaran rumus tersebut dapat dilihat bahwa semakin besar nilai KD, maka senyawa yang dipisahkan lebih terikat pada fasa diam. Sedangkan semakin kecil nilai KD maka senyawa yang dipisahkan lebih terikat pada fasa gerak .

4.6.1 Steroid

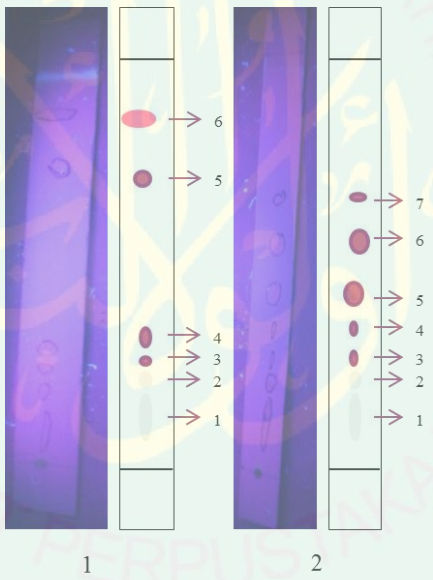
Pemisahan senyawa steroid dengan KLT ini menggunakan campuran eluen dengan 5 variasi yang berbeda-beda. Lima variasi eluen tersebut menghasilkan pemisahan dan nilai Rf yang berbeda-beda. Perekasi yang digunakan untuk senyawa steroid adalah pereaksi Lieberman Burchad dan pendeteksi fluoresensi ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm. Variasi eluen serta hasil pemisahan dapat dilihat pada tabel 4.5.

4.5 Variasi Eluen dan Hasil Penampakan Noda pada Pemisahan Senyawa Steroid Ekstrak Etanol 80% Daun Widuri

No	Fasa Gerak	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
1	Heksana : Asam Asetat (4,5 : 0,5)	3	0,005 ; 0,11 ; 0,22	Terpisah
2	Heksana : Aseton (3,5 : 1,5)	8	0,05 ; 0,16 ; 0,22 ; 0,26 ; 0,33 ; 0,38 ; 0,49 ; 0,6	Terpisah Baik
3	Heksana : Etil Asetat (3,5 : 1,5)	8	0,02 ; 0,05 ; 0,09 0,25 ; 0,60 ; 0,64 ; 0,71 ; 0,77	Terpisah Baik
4	Heksana : Etil Asetat (3 : 2)	5	0,03 ; 0,09 ; 0,17 ; 0,44 ; 0,87	Terpisah
5	Heksana : Asam Asetat (4 : 1)	5	0,05 ; 0,11 ; 0,14 ; 0,22 ; 0,28	Terpisah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan Tabel 4.5, dapat dilihat bahwa seluruh varisi eluen dapat memisahkan senyawa. Varisi eluen ke-2 dan ke-3 mampu memisahkan senyawa dengan baik. Hal ini dapat dilihat dari banyaknya noda yang dihasikan adalah 8. Bagus tidaknya pemisahan oleh suatu pelarut dapat dilihat dari banyaknya noda yang dihasilkan serta pola yang dihasilkan noda tersebut. Menurut Marhakan (1988), Pemisahan yang bagus adalah pemisahan yang menghasilkan senyawa yang banyak, noda yang bagus (tidak berekor) dan pemisahan nodanya jelas.



Gambar 4.9 Hasil KLT senyawa steroid ekstrak etanol eluen heksana : aseton (3,5 : 1,5)

Keterangan:
1. Hasil bercak sebelum disemprot reagen pendeteksi (lampu UV 366)
2. Hasil bercak setelah disemprot reagen pendeteksi (lampu UV 366)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.6 Hasil KLT senyawa steroid eluen heksana : aseton (3,5 : 1,5)

No	Rf	Warna bercak dengan sinar uv 366 nm, sebelum diberi pendeteksi	Rf	Warna bercak dengan sinar uv 366 nm, setelah diberi pendeteksi	Dugaan senyawa
1	0,05	Putih keabu-abuan	0,05	Putih kehijauan	-
2	0,16	Putih keabu-abuan	0,16	Putih kehijauan	-
3	0,22	Ungu merah	0,22	Ungu merah	Steroid
4	0,26	Ungu merah	0,26	Ungu merah	Steroid
5	0,76	Ungu merah	0,33	Ungu merah	Steroid
6	0,86	Merah muda	0,38	Ungu merah	Steroid
7			0,49	Ungu merah	Steroid
8			0,6	Ungu merah	Steroid

Berdasarkan gambar 4.9 dapat dilihat bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan dari bercak yang dihasilkan setelah diberi pendeteksi dan sebelum diberi pedeteksi. Bercak yang dihasikan setelah diberi pendeteksi lebih banyak dari pada sebelum diberi pendeteksi dan juga memeliki warna yang sama. Perbedaan banyakanya noda pada sebelum dan setelah diberi pedeteksi ini dikarenakan noda tersebut tidak dapat berfluoresensi sehingga tidak dapat terdeteksi oleh sinar UV.

Terpisahnya senyawa yang dihasilkan dari noda tersebut dipengaruhi oleh sifat dari fasa diam dan fasa gerak. Fasa gerak atau eluen yang digunakan adalah heksana : aseton (3,5 : 1,5). Heksana dan aseton merupakan senyawa yang bersifat non polar. Berdasarkan prinsip '*Like Dissolves Like',* dapat diketahui bahwa senyawa steroid merupakan senyawa yang bersifat non polar. Hal ini dikarenakan eluen yang bersifat non polar hanya bisa memisahkan senyawa yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

juga bersifat non polar. Apabila dilihat dari sistem pemisahannya dapat dilihat bahwa senyawa yang dipisahkan terikat kuat oleh fasa gerak. Hal ini juga dapat dilihat dari banyaknya bercak hasil elusi.

Bercak yang dihasilkan memiliki nilai Rf yang berbeda-beda. Nilai Rf yang dihasilkan dapat dipakai acuan sebagai sifat kepolaran bercak tersebut dan nilai koefisien distribusinya. Semakin kecil nilai Rf maka diindikasikan bahwa senyawa dari bercak tersebut besifat polar atau kepolarannya lebih kecil dari pada senyawa yang memiliki nilai Rf lebih besar dan memiliki nilai keofisisen distribusi lebih besar. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut lebih terikat pada plat silika yang bersifat polar dibandingkan pada fasa geraknya. Sedangkan bercak dengan nilai Rf yang besar diindikasikan bersifat non polar dan mempunyai nilai keofisien distribusi lebih kecil. Hal ini dikarenakan senyawa yang terdapat pada bercak tersebut lebih terikat pada fasa gerak yang bersifat non polar.

Berdasarkan bercak yang dihasilkan, diketahui bahwa senyawa dugaan steroid adalah pada bercak ke-3 hingga bercak ke-7 yakni dengan nilai Rf masing-masing 0,22 ; 0,26 ; 0,33 ; 0,38 ; 0,49 dan 0,6 dengan warna ungu kemerahan. Dugaan tersebut juga didukung dengan hasil penelitian Reveny (2011), yang menyarakan bahwa steroid memiliki spot berwarna merah ungu dengan nilai Rf 0,29 – 0,84.

4.6.2 Tanin

Pemisahan senyawa tanin dengan KLT ini menggunakan campuran eluen dengan 5 variasi yang berbeda-beda. Lima variasi eluen tersebut menghasilkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pemisahan dan nilai Rf yang berbeda-beda. Pereaksi yang digunakan untuk senyawa tanin adalah pereaksi $FeCl_3$ dan pendeteksi fluoresensi ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm. Variasi eluen serta hasil pemisahan dapat dilihat pada tabel 4.7.

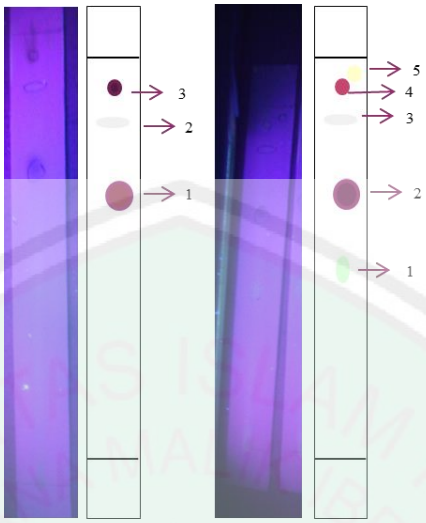
Berdasarkan Tabel 4.7, dapat dilihat bahwa rata-rata eluen dapat memisahkan senyawa. Eluen 5 yakni kloroform : metanol : air (7 : 3 : 0,4) merupakan eluen yang mampu memisahkan senyawa dengan baik. Hal ini dapat dilihat dari jumlah noda yang dihasilkan, lebih banyak dari pada eluen lainnya yakni 5.

4.7 Variasi Eluen dan Hasil Penampakan Noda pada Pemisahan Senyawa Tanin Ekstrak Etanol 80% Daun Widuri

No	Fasa Gerak	Jumlah Noda	Nilai Rf	Keterangan
1	Butanol : Asam Asetat : Air (14 : 1 : 5)	3	0,39 ; 0,50 ; 0,82	Terpisah
2	Butanol : Asam asetat : Air (2 : 0,5 : 1,1)	3	0,53 ; 0,61 ; 0,83	Terpisah
3	Butanol : Asam asetat : Air (4 : 1 : 5)	3	0,49 ; 0,57 ; 0,81	Terpisah
4	Etil Asetat : Metanol : Asam Asetat (6 : 14 : 1)	4	0,03 ; 0,09 ; 0,11 ; 0,13	Terpisah
5	Kloroform : Metanol : Air (7 : 3 : 0,4)	5	0,41 ; 0,62 ; 0,78 ; 0,85 ; 0,87	Terpisah Baik

Pada Gambar 4.10, bahwa jumlah bercak yang dihasilkan sebelum dan setelah diberi pendeteksi adalah berbeda. Bercak yang dihasilkan setelah diberi pendeteksi adalah lebih banyak yakni 5, sedangkan bercak yang dihasilkan sebelum diberi pendeteksi berjumlah 3.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.10 Hasil KLT senyawa tanin ekstrak etanol eluen kloroform : metanol : air (7 : 3 : 0,4)

Keterangan:
1. Hasil bercak sebelum disemprot reagen pendeteksi (lampu UV 366)
2. Hasil bercak setelah disemprot reagen pendeteksi (lampu UV 366)

Tabel 4.8 Hasil KLT senyawa tanin eluen kloroform : metanol : air (7 : 3 : 4)

No	Rf	Warna bercak dengan sinar uv 366 nm, sebelum diberi pendeteksi	Rf	Warna bercak dengan sinar uv 366 nm, setelah diberi pendeteksi	Dugaan senyawa
1	0,62	Ungu merah	0,41	Putih kehijauan	-
2	0,78	Putih keabu-abuan	0,62	Ungu kehitaman	Tanin
3	0,85	Ungu kehitaman	0,78	Putih keabu-abuan	-
4			0,85	Ungu merah	-
5			0,87	Putih kekuningan	-

Perbedaan jumlah bercak yang dihasilkan setelah dan sebelum disemprot pendeteksi, dikarenakan timbulnya fluoresensi oleh sinar UV. Fluoresensi sinar

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ultraviolet membuat bercak akan terlihat jelas. Dan akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan kelihatan berfluoresensi (Rohman, 2007).

Banyaknya senyawa yang terpisah pada saat elusi adalah dipengaruhi oleh sifat dari fasa geraknya atau eluen. Eluen kloroform : metanol : air (7 : 3 : 0,4), merupakan senyawa yang bersifat non polar. Sifat kepolaran bercak yang dihasilkan dapat dilihat dari nilai Rf. Nilai Rf tersebut juga dapat digunakan untuk mengetahui kecenderungan keterikatan senyawa atau koefisien distribusi. Semakin kecil nilai Rf maka diindikasikan bahwa senyawa dari bercak tersebut besifat polar atau kepolarannya lebih kecil dari pada senyawa yang memiliki nilai Rf lebih besar dan memiliki nilai keofisisen distribusi lebih besar. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut lebih terikat pada plat silika yang bersifat polar dibandingkan pada fasa geraknya. Sedangkan bercak dengan nilai Rf yang besar diindikasikan kepolarannya lebih kecil dan mempunyai nilai keofisien distribusi lebih kecil. Hal ini dikarenakan senyawa yang terdapat pada bercak tersebut lebih terikat pada fasa gerak yang bersifat non polar.

Berdasarkan bercak yang dihasilkan, diketahui bahwa senyawa dugaan tanin adalah pada bercak ke-2 yakni dengan nilai Rf 0,62 (ungu kehitaman). Dugaan tersebut juga didukung dengan hasil penelitian Fitriyani, dkk., (2011), yang menunjukkan bahwa eluen kloroform : metanol dan air merupakan eluen terbaik. Serta penelitian Hayati (2010), yang menyatakan bahwa senyawa tanin dapat dilihat dari bercak yang berwarna ungu kehitaman dan Reveny (2011), yang menyarakan bahwa tanin memiliki spot berwarna biru kehitaman dengan nilai Rf 0,63.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.7 Pemanfaatan Tanaman Widuri dalam Perspektif Islam

Tanaman widuri merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia. Tanaman widuri ini memiliki banyak manfaat. Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya diketahui bahwa tanaman widuri dapat menyembuhkan beberapa penyakit yakni sebagai anti inflamasi, anti bakteri dan anti malaria. Pemanfaatan tanaman widuri sebagai antimalaria dapat dilihat dari hasil penelitian, bahwa bagian tanaman widuri dengan ekstrak etanol 80% mampu memberikan persen penghambatan hingga 94,44% .

Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa widuri merupakan salah satu dari *Az-zaujin kariim* (tumbuhan yang baik). Yakni dengan adanya potensi sebagai alternatif pengobatan malaria. Allah menciptakan sesuatu pasti tidak ada yang sia-sia. Allah menciptakan makhluk hidup untuk melengkapi makhluk hidup yang lain dengan memberikan sebuah manfaat. Dan ini menjadi tugas kita sebagai manusia untuk menggali lebih dalam dari apa yang telah diciptakan oleh Allah sehingga mampu menciptakan inovasi dan memberikan manfaat yang baru. Hal ini juga terdapat dalam firman Allah surat al Jasiyah ayat 13:

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَمَا فِي ٱلۡأَرۡضِ جَمِيعٗا مِّنۡهُۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَأٓيَٰتٖ لِّقَوۡمٖ يَتَفَكَّرُونَ ١٣

"Dan dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir" (QS. al Jasiyah: 13).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan ayat tersebut dapat dilihat bahwa di alam langit dan alam bumi, sungguh terdapat tanda-tanda yang menunjuk kepada wujud Allah dan kesempurnaan sifat-Nya dan kesucian-Nya dari semua kekurangan. Hanya saja ayat-ayat itu Cuma bermanfaat bagi orang mukmin, ataupun semua ayat ini dikemukakan kepada seluruh umat manusia (Ash Shiddieqy, 2000). Hal ini juga meliputi adanya hubungan secara tidak langsung antara keimanan dan ilmu pengetahuan. Keimanan dan ilmu pengatahuan tersebut secara tidak langsung dapat memunculkan inovasi bari seperti terciptannya obat yang berasal dari tanamnan herbal. Inovasi tersebut diantaranya adalah adanya pengkombinasian obat artemisin sebagi obat antimalaria yang sudah resisten dengan ekstrak daun widuri.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat efek interaksi hari dan dosis terapi kombinasi ekstrak etanol 80 % daun widuri *(Calotropis gigantea)* dan artemisin mempunyai sebagai obat antimalaria. Hal ini dapat dilihat dari nilai persen penghambatan yang terbaik adalah dihasilkan dari kombinasi ekstrak daun widuri (*calotropis gigantea*) dan artemisin pada dosis 10 mg/KgBB dan pada hari ke-4.

Golongan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol 80 % dari daun widuri (*Calotropis gigantea*) berdasarkan uji reagen adalah golongan senyawa steroid dan tanin. Hal ini juga didukung dari hasil pemisahan dengan menggunakan KLT, bahwa pemisahan golongan senyawa steroid menghasilkan warna ungu kemerahan dengan nilai Rf 0,22 ; 0,26 ; 0,33 ; 0,38 ; 0,49 dan 0,6. Sedangkan untuk golongan senyawa tanin menghasilkan warna ungu kehitaman dengan nilai Rf 0,62.

5.2 Saran

Adapun saran dari penelitian ini yaitu melakukan penelitian yang sama dengan menggunakan rentang dosis yang berbeda sehingga dapat diketahui dosis maksimum untuk antimalaria serta identifikasi lebih lanjut senyawa yang memberikan penghambatan antimalaria yang lebih baik dengan menggunakan instrumentasi LCMS.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Adfa, Morina. (2007). Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.), *Jurnal Gradien* Vol.4(1). Bengkulu: Jurusan Kimia, Universitas Bengkulu. Halaman 318-322.

Agung, M. 2013. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon(*Musa Paradisiaca Var. Sapientum* L.). *eJournal UNESA* Volume 02 Nomor 03.

Anggonowati, K. 2008. Efek Terapi Kombinasi Klorokuin dan Tromboles terhadap ambaran Histopatologi Limpa Mencit *(Mus musculus)* yang Diinfeksikan Plasmodium berghei. *Skripsi* tidak diterbitkan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

Al-jauziyah, I.Q. 1994. *Praktek Kedokteran Nabi.* Yogyakarta: Hikm Pustaka

Anonim. 2009. *Tanaman Obat Indonesia*. http://www.tanaman-obat-indonesia.com (20 Januari 2009).

Arisandi, Y. dan Andriani, Y. 2008. *Khasiat Tanaman Obat.* Jakarta: Pustaka Buku Murah.

Arulmozhi, D.K., Veeranjaneyulu, A., Bodhanker, S.L., 2007. Neonatal Streptozotocin-induced rat model of type 2 diabetes mellitus : *A glance, Indian J Pharmacol* vol 36 issue 4. 217-221.

As-Suyuthi. 1997. *Tarikh Khulafa'*. Jakarta : Pustaka Al-Kautsar.

Basilico, N, *et al,*. Artemisisnin Antimalarial Do Not Inhibit Hemozoin Formation. *Antimicrob Agents Chemother* v.47(3); PMC149339.

Burke, R.W, *et al,*.1974. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color reavtions for Cholesterol. *CLIN. CHEM* 20/7, 794-801.

Cannell, R. J.P. (Ed). 1998. How to approach the isolation of a natural product. In R.J. P. Cannell (Ed.). *Methods in Biotechnology*. Vol. 4: Natural Products Isolation, Humana, Totowa, NJ, pp. 1–51.

Davey, Patrick. 2005. *At a Glance of Medicine*. Jakarta: Erlangga. Hal: 294-295.

Departemen Pendidikan Nasional. 2005. *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Jakarta: Balai Pustaka.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ekasari, W, dkk. 2005. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis FraksiKloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *Jurnal Media Kedoktean Hewan* vol. 22, No. 2.

Farooqi, M.I.H. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam; Manfaat tumbuhan Menurut Al Qur'an & Sunah Nabi*. Jakarta: Penerbit Hikmah (PT. Mizan Publika).

Felicia. 2009. Efek Neuroterapi Ekstrak Akar *Acalypha indica* L. Terhadap Katak Bufo Dosis 20 mg dan 25 mg. *Skripsi* Diterbitkan. Jakarta:Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Fitriyani, A, dkk. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*PiperCrocatum* Ruiz & Pav) Pada Tikus Putih. *Jurnal Majalah Obat Tradisional, 16(1), 34-42.*

Ganjar dan Rohman. 2007. *Kimia Farmasi*. Jakarta: Erlangga.

Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi, edisi kedua.* Penj. Kokasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

Groiler International,inc. 2005. *Ilmu Pengetahuan Populer Jilid 6*. Jakarta: cv prima printing. Hal: 28-29.

Hafid, F.A., Tyas, W.M dan Widyawaruyanti, A. 2011. Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Batang Cempedak (Artocarpus Champeden Spreng.) dan artesunat pada mencit terinfeksi Parasit Malaria. *J Indon Med Assoc*, Vol.61. No 4.

Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach. *Jurnal Ulul Albab*. Digilib UIN Malang.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Metode Menganalisis Tumbuhan.* Penj. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.

Hargono, D., Farouq, Sutarno, S., Pramono, S., Rahayu, T.R., Tanuatmadja, U.S., dan Sumarsono. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Harjianto, P.N. 2011. ACT Sebagai Obat Pilihan Malaria Ringan di Indonesia. *Jurnal SMF Ilmu Penyait Dalam*, CDK 183/Vol.38 no.2. RSU Bethesda Tomohon, Sulawesi Utara.

Hayati, E.K., Jannah, A. dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting *(Acalypha indica L.).* Vol. 7. No. 1.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hayati, E.K. dan Muti'ah, R. 2011. Potensi Senyawa Seskuiterpenoid Ektrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus Annuus* L.) Sebagai Antimalaria Pada Mencit Jantan Dan Mencit Bunting Galur Balb/C Yang Diinfeksi *Plasmodium Berghei. Laporan penelitian kompetitif kolektif.*

Herintsoa R, Baholy R.R., Solofoniaina A.R., *et al*. 2010. *Screening of Plant Extract for Searching Antiplasmodial Activity*. Department of Chemistry, University of Nairobi, Nairobi, Kenya.

Inbaneson, S.J *et al.* 2012. Activity Of Bacterium RJAUTHB 14 Associated With Marine Sponge Haliclona Grant Against Plasmodium Falciparum. *Jurnal Parasitol Res* 23;110(6):2255-62.

Inayah, L. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn.). *Jurnal Ulul Albab*. Digilib UIN Malang.

ISO Farmakoterapi 2. Jakarta: Ikatan Apoteker Indonesia.

Jazairi, A.B.J. 2008. *Tafsir Al-Quran Al-Aisar Jilid 5*. Jakarta Timur: Darus Sunnah Press.

Katsir, M.I. 2006. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.

Kee, Joyce L dan Hayes, Evelyn R. (2003). *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan.* Dr. Peter Anugrah (Alih Bahasa). Jakarta: EGC.

Kayser, O., A. F. Kiderlen, and S.L. Croft. 2000. *Natural Products as Potential AntiparasiticDrugs*. www.fuberlin.de/akkayscr/antiparasiticsfromnature.pdf.

Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Penerbit UI-Press.

Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik.* Jakarta: UI-Press.

Lenny, S. 2006. *Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp.* USU Repository.

Mahali, J.I dan Suyuti, J.I. 2009. *Tafsir Jalalain*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.

Malole, M.B.M. dan C.S. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Maraghi, A.M. 1993. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: Toha Putra.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Mudi, Y.S dan Bukar. A. 2011. Anti-Plasmodia Activity of Leaf Extracs of *Calotropis procera* Linn. *Nigerian Society for Experimental Biology*, Vol. 22. No. 1.

Muti'ah, R. 2010. Aktifitas Antimalaria Ekstrak Batang Talikuning *(Anamirta Cocculus)* dan Kombinasinya dengan Artimesin pada Mencit yang Diinfeksi *Pasmodium berghei. Tesis* Tidak Diterbitkan. Malang: Pogram Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Nio, O.K. 1989. Zat-Zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. *Cermin Dunia Kedokteran*, Vol. 58: 24.

Nuraini, F., 2002, Isolasi Dan Identifikasi Tannin Dari Daun Gamal (Gliricidia sepium (Jackquin) kunth ex walp.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Brawijaya.

Nursal dan E. S. Siregar. 2005. Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Daun Lengkuas *(Lactuca indica* L.), Toksisitas dan Pengaruh Sub Letalnya Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Laporan Hasil Penelitian Dosen Muda* FMIPA Universitas Sumatera Utara, Medan.

Parasit pada Mencit yang Diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. 1994. Cermin Dunia Kedokteran ; 94. 10.

Pribadi, W dan Sungkar, S. 1994. *Malaria*. Jakarta: Bumi Aksara.

Priyanto, 2009, *Toksikologi: Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*, (Cetakan I), Dalam Sunaryo H., (Editor), Jakarta: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi, hal: 151-152, 157.

Puspita, M, D, A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran untuk Pemisahan Komponen Ekstrak Meniran (*Phylantus ninuri*). *Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Departemen Kimia Fakultas MIPA. IPB.

Ratcliff A, Siswantoro H, Kenangalem E, *et al.*, 2007. Two fexd-dose artemisinin combinations for drug-resistant falciparum and vivax malaria in Papua Indonesia : an open-label randomized comparison. *Lancet* 369(9563): 757-65.

Rehena, F.J. 2010. Uji Aktifitas Daun Pepaya *(Carica papaya L.)* sebagai Antimalaria Secara *In Vivo*. *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol. 11. No. 1. Hal: 96-100.

Reveny,Julia (2011). Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle Linn.). Jurnal *ILMU DASAR*, Vol. 12 No. 1, Januari 2011: 6-12.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Sa'adah, L. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Ulul Alba*b. DIGILIB UIN Malang.

Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala.,V.M.A. Makang. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog*. 1(1):47-53.

Sardjono T.W., dan Fitri L.E. 2007. *Malaria, Mekanisme terjadinya Penyakit dan Pedoman Penanganannya*. Malang: Lab Parasit FKUB.

Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kimia Minyak Astiri*. Jogjakarta: UGM.

Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty .

Shiddieqy, T.M.H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra.

Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah*. Jakarta: Lentera Hati.

Sinamabela, J.M. 2000. *Langkah-Langkah Strategis Untuk Menjadikan Tanaman Obat Asli Indonesia Menjadi Sediaan Fitofarmaka. Risalah Penemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi*.

Soebagio,dkk. 2005. *Kimia Analitik II*.Malang: UM Press.

Sriwahyuni. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas dengan Menggunakan *Brine Shrimp. Skripsi*, Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki, Malang.

Sulastry, T dan Kurniawati, N. 2010. Isolasi Steroid dari Ekstrak Metanol daun Bluntas (Plucea indica L). *Jurnal Chemica Vol. II*. FMIPA UNM.

Sutanto, I. dan Pribadi, W. 2008. *Parasitologi Kedokteran.* Jakarta: FKUI Press.

Suwarni, Tuti, S., Dewi, R.M., Marwoto, H.A. 1994. Pengaruh Klorokuin terhadap Jumlah Parasit pada Mencit yang Diinfeksi dengan *Plasmodium berghei. Cermin Dunia Kedokteran* 94. 10.

Syafruddin, D. 2009. *Dasar Molekul Resistensi Parasit terhadap Obat Antimalaria.* EGC.

Syamsudin., Tjokrosonto, S., Wahyuono, S dan Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplsmodium dari dua Fraksi Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia Miq*). *Majalah Farmasi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Terrumun, A., Anyiin Tor. dan Danisa A.K. 2012. Phytochemical Screening of a Vended Antimalarial: Malatreat. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences,* Vol. 2. No. 2. Hal: 98-102.

Tjitra, E. 2004. *Pengobatan Malaria dengan Kombinasi Artemisinin.*

Wardhani, Y.F. 2007. *Efek Serbuk Cacing Lumbricus Rubellus Terhadap Lama Hidup dan Derajat Parasitemia ada Mencit Swiss yang Diinfeksikan oleh Plasmodium berghei*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

WHO. 2010. *Guidlines for The Treatment of Malaria.*WHO Geneva.

Widodo, N., 2007, Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Yang Terkandung Dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*), *Skripsi*, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universit

Wijayakusuma, H. 2008. *Ramuan Lengkap Herbal Taklukkan Penyakit.* Jakarta: Pustaka Bunda.

Wijayanti, M.A, Soeripto, N., Supargiyono, dan Fitri. L.E. 2007. *Pengaruh Imunisasi Mencit dengan Parasit Stadium Eritrositik Terhadap Infeksi Plasmodium berghei.* Jakarta: Berkala Ilmu Kedokteran.

Wijono, S.H. 2003. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid pada Daun Katu *(Sauropus androgynus (L.) merr)*. *Jurnal Makra Sains*, Vol. 7. No. 2.

Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

World Health Organization. *Antimalarial Drug Combination Therapy, Report of WHO Technical Consultation Manila, Geneva.* 2001. [last update 4-5 April 2001 cited 21 Maret 2009]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_RBM_2001.35.pdf. diakses tanggal 10 Oktober 2013.

Wulandari, W.Y dan Suhartatik. Pengaruh Suhu Pemanasan Dan Ukuran *Mesh* Dalam Ekstraksi Senyawa Antosianin Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *LPPM*. Surakata: Pusat Studi Pangan dan Kesehatan Masyarakat UNISRI.

Yulia R. 2006. Kandungan tanin dan potensi anti *Streptococcus mutans* daun teh var. *Assamica* pada berbagai tahap pengolahan. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

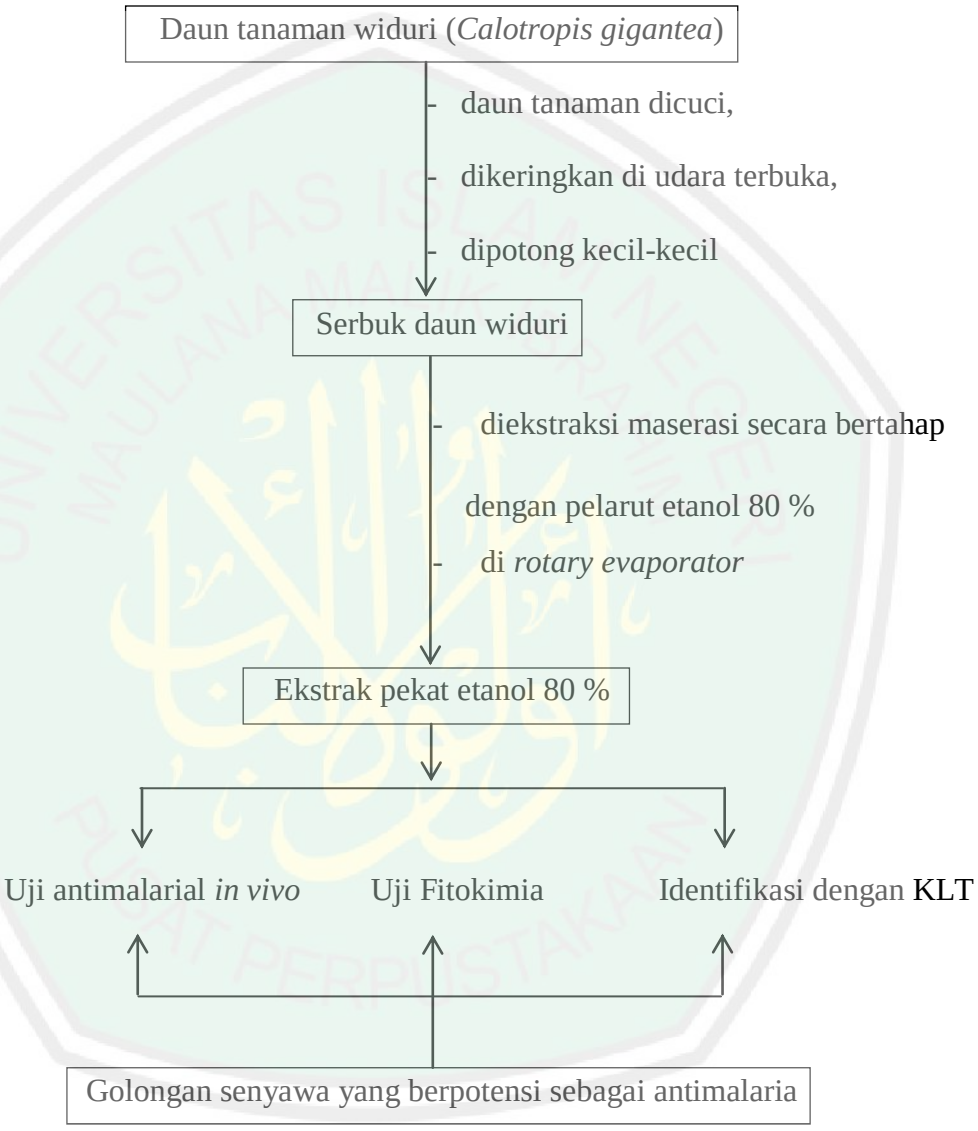
Zein, U. 2005. *Penanganan Terkini Malaria Falciparum.* Digilib USU.

Zona, 2011. *Sistem Sirkulasi Manusia*. Bali

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN

Lampiran 1: Tahapan Penelitian



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 2: Skema Kerja

L.2.1 Analisis Kadar Air

Cawan kosong

- ditimbang cawan kosong dengan neraca analitik
- dimasukkan sampel daun tanaman yang belum dikeringkan kedalam cawan
- ditimbang berat cawan + sampel
- Sampel dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 100 - 105 ^{o}C selama 5 - 6 jam
- dimasukkan kembali sampel yang telah dikeringkan kedalam cawan sebelumnya
- ditimbang berat cawan dan sampel yang telah dikeringkan hingga konstan
- dilakukan pengukuran kadar air sesuai rumus berikut:

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

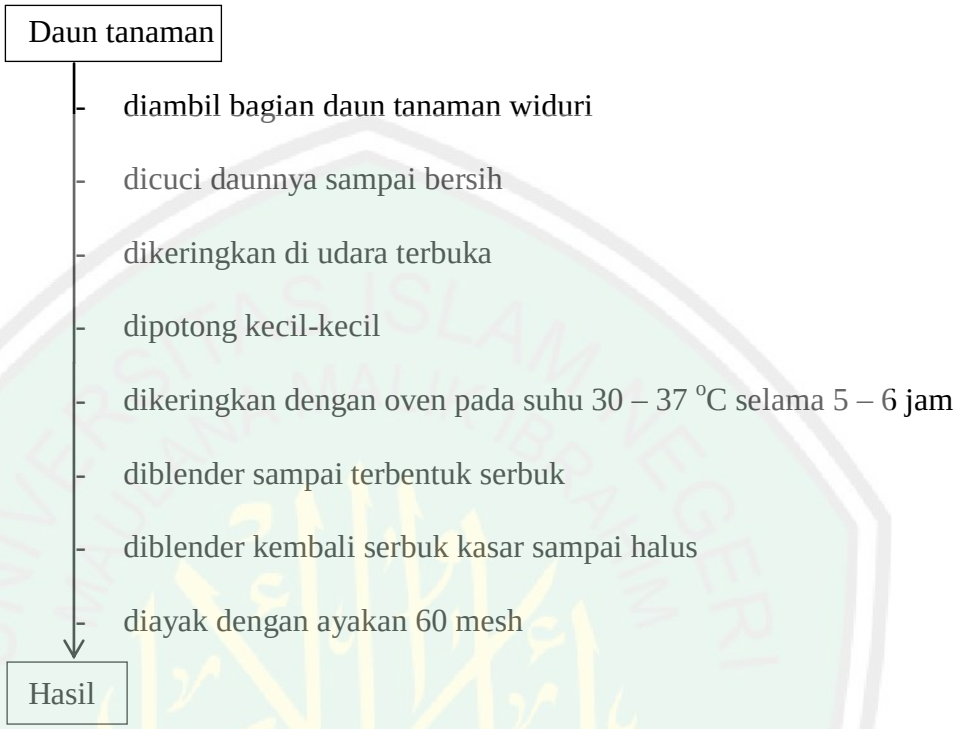
c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan dengan oven pada suhu 30 – 37 ^{o}C hingga konstan

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

Hasil

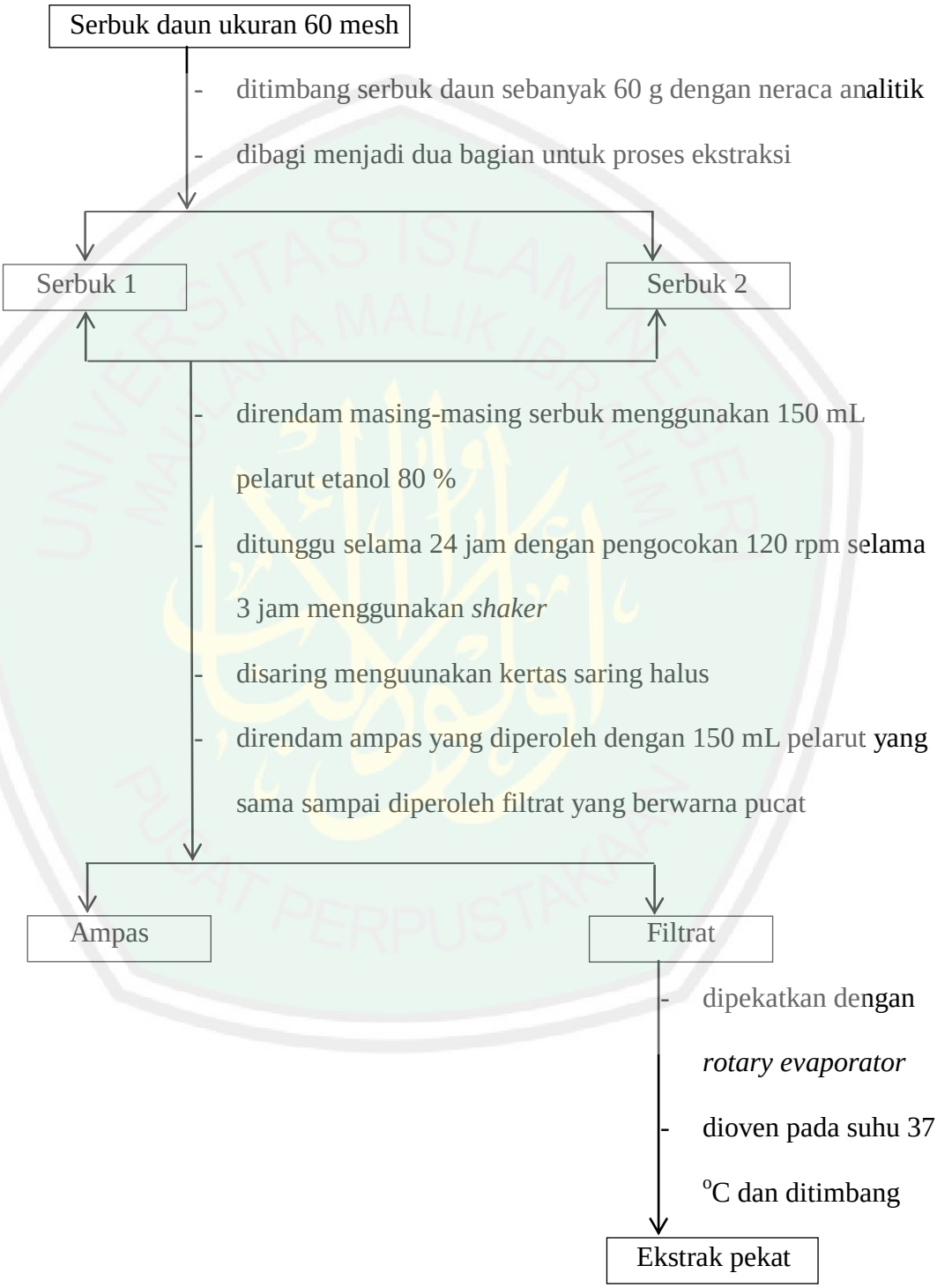
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.2 Preparasi Sampel



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

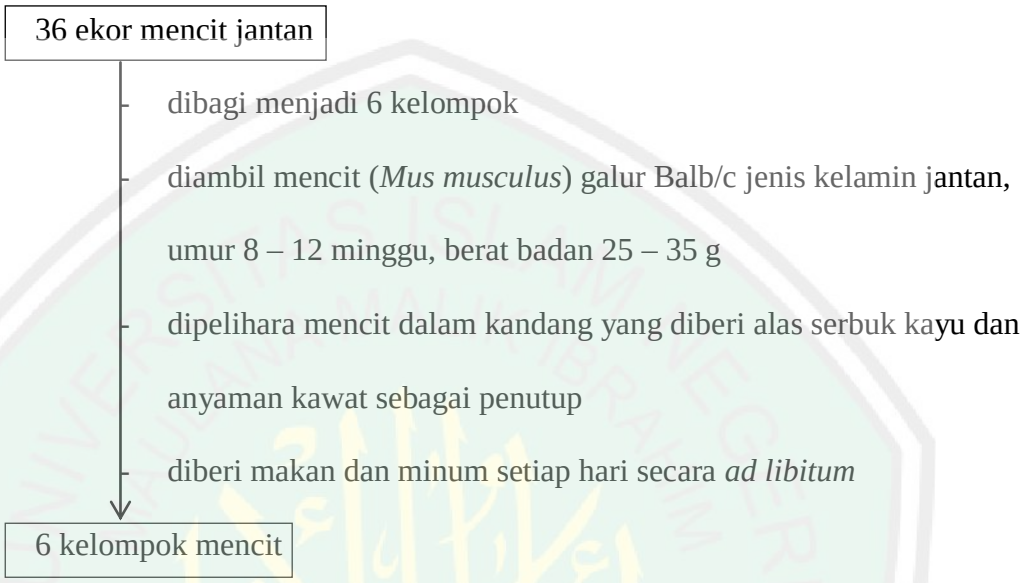
L.2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif



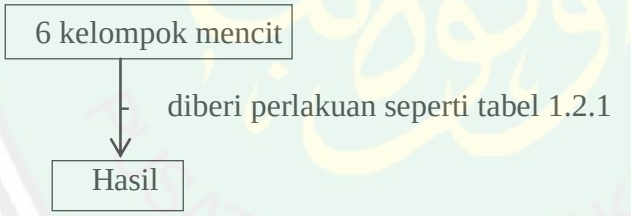
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.4 Uji Antimalaria

L.2.4.1 Persiapan Hewan Uji



L.2.4.2 Perlakuan Hewan Coba



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Table L.1 Perlakuan masing-masing Kelompok

Kelompok	Perlakuan
Kelompok kontrol negatif	Diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian pelarut 0,5 mL CMC-Na 1 % sekali sehari per oral.
Kelompok kontrol positif	Diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diberi perlakuan artemisin 4 mg/Kg BB sekali sehari secara per-oral.
Kelompok non infeksi	Tanpa diinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian pelarut 0,5 mL CMC-Na 1 % sekali sehari per oral.
Kelompok widuri 1	Diinfeksi *Plasmodium berghei* yang diterapi ekstrak etanol widuri dosis 10 mg/Kg BB BB : ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali secara per oral.
Kelompok widuri 2	Diinfeksi *Plasmodium berghei* yang diterapi ekstrak etanol widuri dosis 1 mg/Kg BB : ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali secara per oral.
Kelompok widuri 3	Diinfeksi *Plasmodium berghei* yang diterapi ekstrak etanol widuri dosis 0,1 mg/Kg BB : ¼ dari dosis standar artemisin (4 mg/Kg BB) sehari sekali.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pengujian aktivitas antimalaria *in vivo* dilakukan dengan menggunakan metode yang dilakukan Fitri (2007) modifikasi dari metode Peter (Phillipson dan Wright, 1991 dalam Muti'ah, 2010). Terapi dilakukan ketika derajat parasitemia setelah infeksi mencapai 1 – 5 % (Muhtadin dan Haryono, 2005) yang dihitung sebagai hari ke- 0. Terapi dilakukan setiap hari selama 4 hari. Pengamatan derajat parasetemia dilakukan setiap hari ke- 1, hari ke- 2, hari ke- 3 dan hari ke- 4.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.4.3 Pembuatan Donor

Sel darah merah mencit yang terinfeksi parasit

- diambil 6,7 µL dengan mikro pipet
- diresuspensikan sampai volume 200 µL dengan menambahkan larutan PBS
- diinfeksikan pada mencit donor
- diamati persen infeksi parasitemianya (sampai mencapai 2,5 %)

↓

Mencit donor

L.2.4.4 Inokulasi *Plasmodium berghei*

Darah yang terinfeksi *Plasmodium berghei*

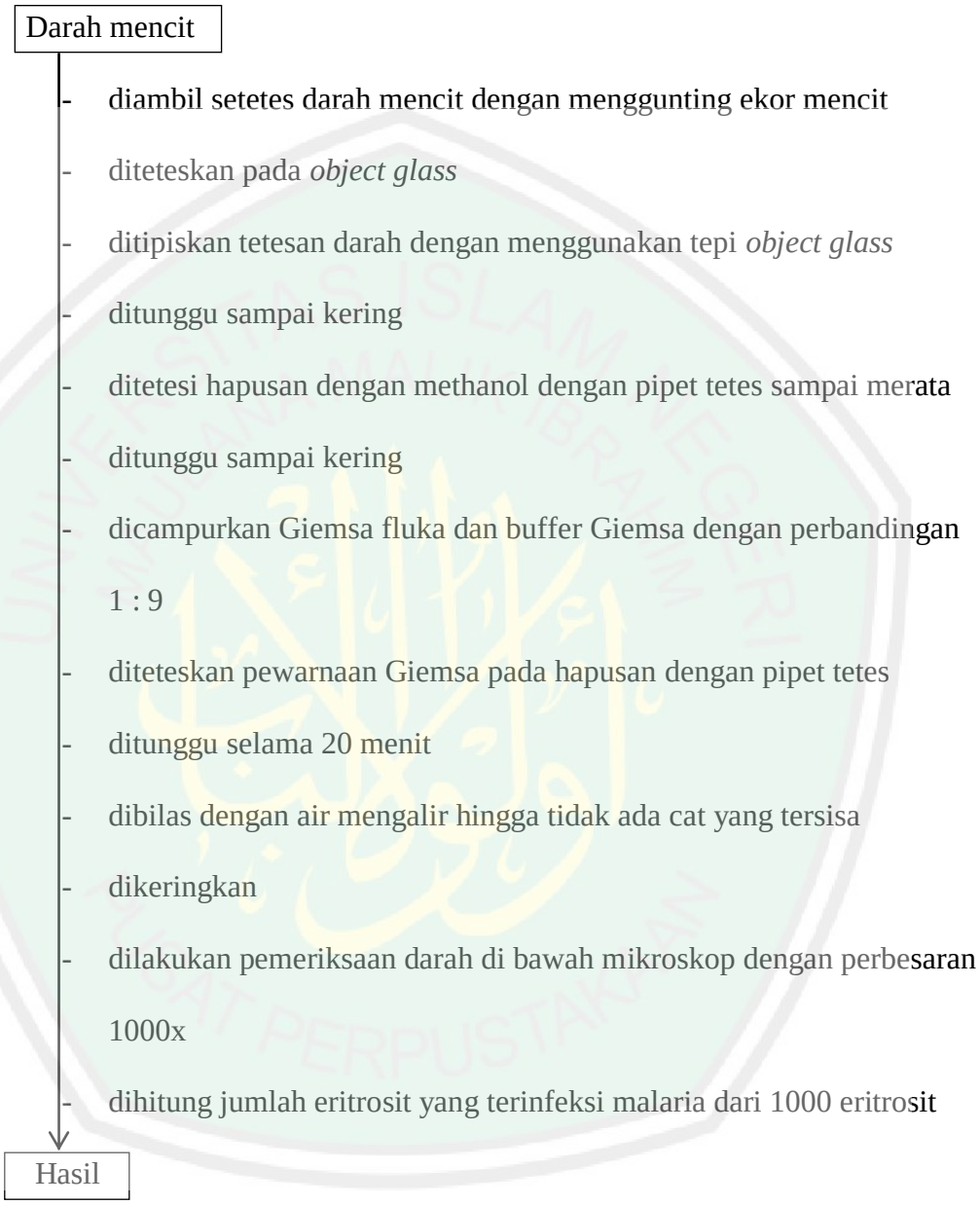
- diambil sebanyak 6,7 µL
- diresuspensikan sampai 200 µL dengan larutan PBS
- diinfeksi ketubuh mencit secara *intraperitonial* (i.p)
- dilakukan pengamatan persen infeksi parasitemia (hari ke- 1, ketika persen infeksi mencapai 1 – 5 %)

↓

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.4.5 Pengukuran Derajat Parasitemia



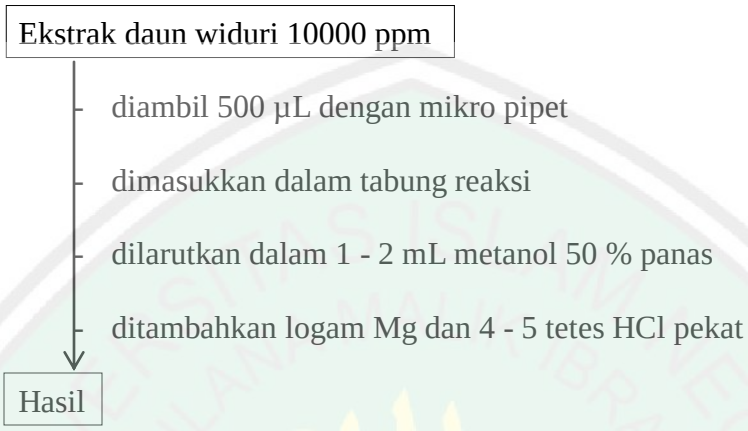
Persen penghambatan pertumbuhan parasit dihitung dengan rumus berikut:

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

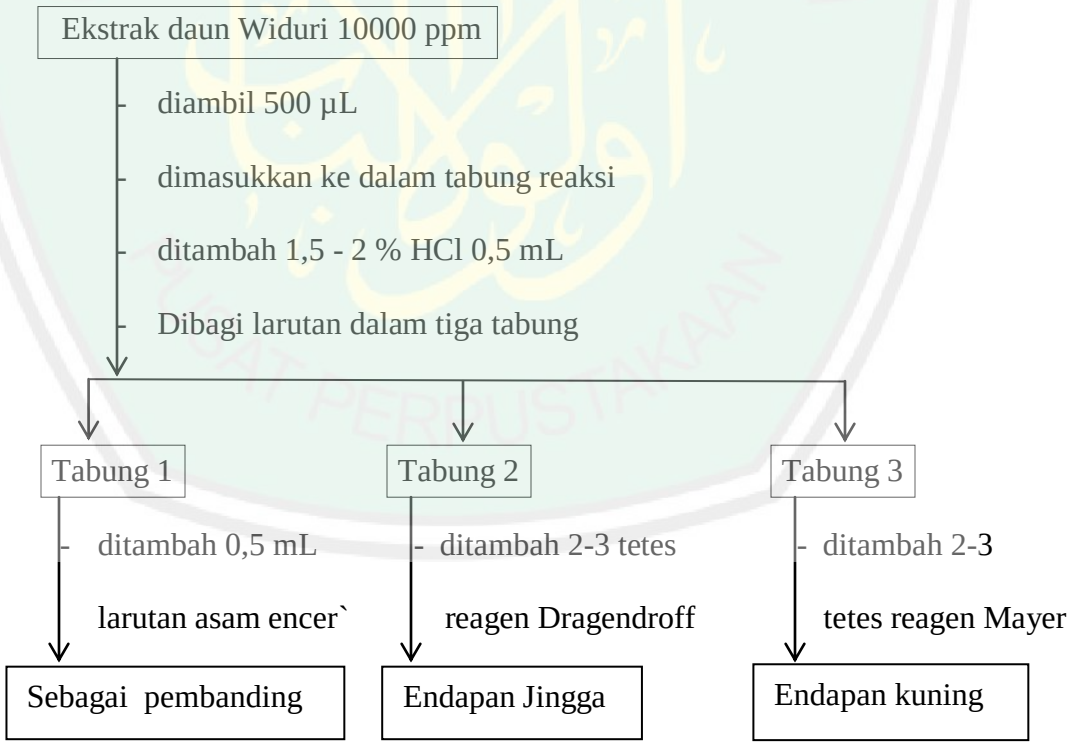
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.5 Uji Fitokimia

L.2.5.1 Flavonoid

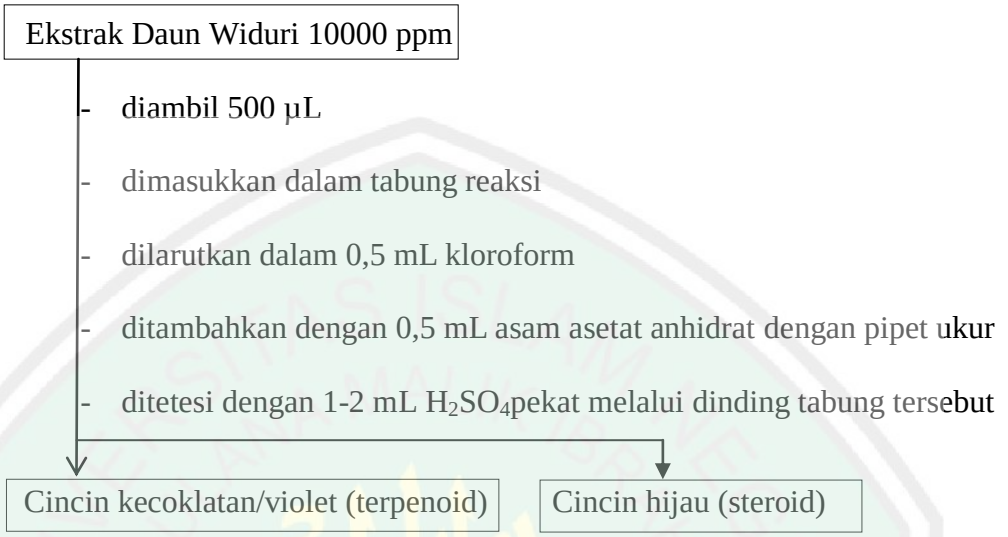


L.2.5.2 Alkaloid

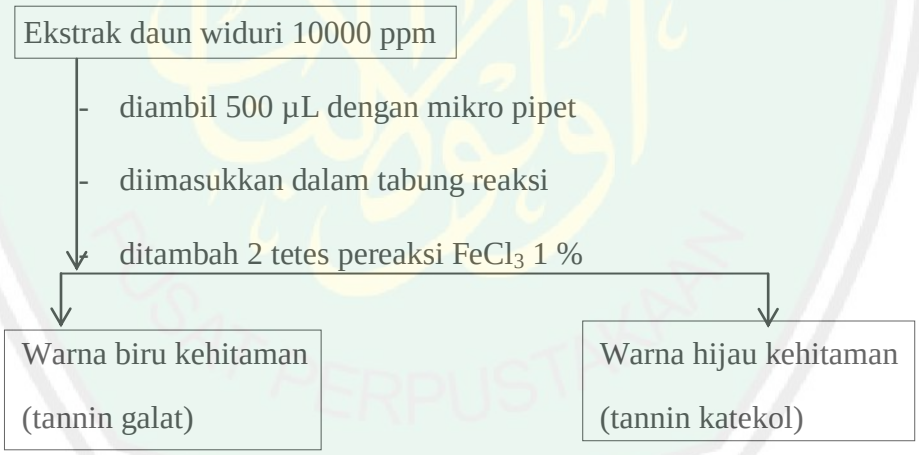


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.5.3 Uji Terpenoid dan Steroid

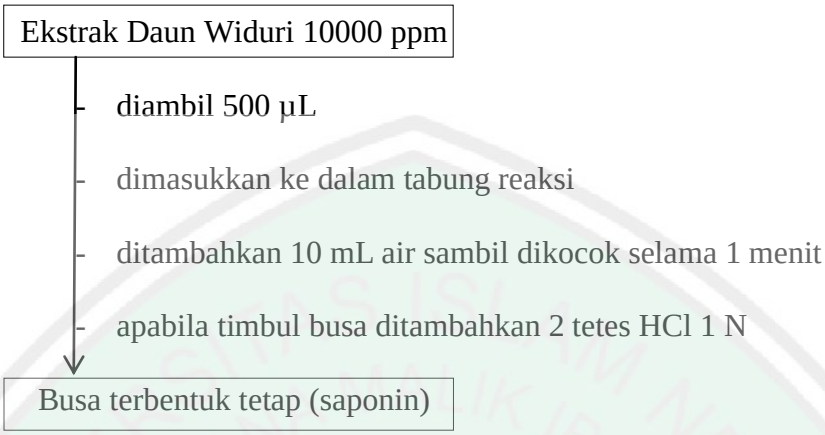


L.2.5.4 Uji Tanin

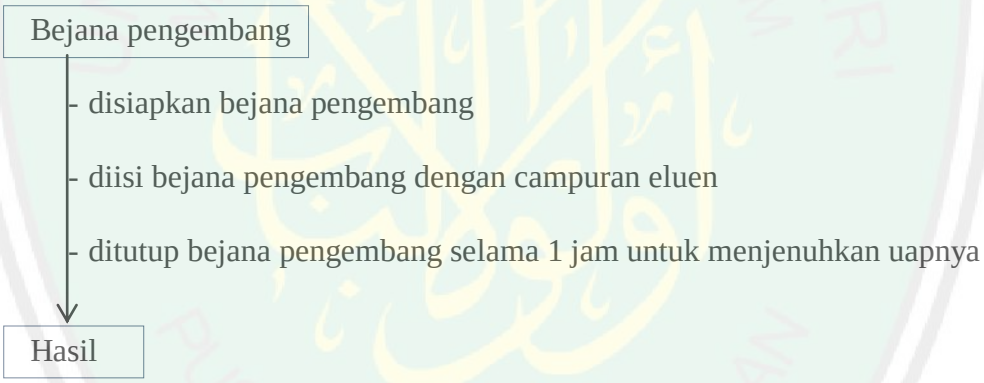


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.5.5 Uji Saponin



L. 2.6 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Plat Silika gel

- diaktivasi plat dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100 ^{0}C selama 10 menit
- dipotong plat dengan ukuran 1 x 10 cm^2
- diberi tanda batas 1 cm dari atas dan bawah plat menggunakan pensil

Hasil

Ekstrak pekat daun widuri

- dilarutkan ekstrak pekat daun menggunakan pelarut etanol
- ditotolkan 5 – 10 kali ekstrak pada tanda batas bawah plat menggunakan pipa kapiler
- dikeringkan diudara
- dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya sampai mencapai batas atas plat
- disemprot plat dengan pereaksi sesuai golongan senyawanya
- diperiksa permukaan plat di bawah lampu UV
- dihitung nilai Rf

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Table L.2. Jenis-jenis fase gerak dan pendeteksi uji KLT untuk metabolit sekunder

Golongan Senyawa	**Fase Ferak**	**Pendeteksi**	**Hasil Warna Noda**
Flavonoid	Methanol : kloroform (1:9) (Milyasari, 2010), etil asetat : methanol (7:3) (Ellizar dan Maruf, 2009), Etil asetat : methanol (8:2) (Ellizar dan Maruf, 2009), etil asetat : metanol (9:1) (Ellizar dan Maruf, 2009), kloroform : metanol (3 : 2) (Sukadana, 2010).	Uap amoniak	Biru kehijauan
Alkaloid	Metanol : diklorometan (9:1) (Windono, 2001), Kloroform : etanol (9:1) (Ekasari *et al*., 2005), Metanol : kloroform (0,5-9,5) (Widodo, 2007), Kloroform : methanol (9:1) (Barus, dkk, 2010), Kloroform : n-heksana (2:1) (Susilaningsih, 2007)	Reagen Dragendrof	Jingga
Steroid	n-heksana : etil asetat (7:3) (Hayati, 2012). heksana : aseton (7:3) (Syamsudin, 2007).	Reagen Lieberman-Burchard	Ungu dan merah keunguan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lanjutan Tabel L.2

	heksana : etil asetat (9:1) heksana : etil asetat (8:2) (Sulastry dan Kurniawati, 2010). heksan : etil asetat (6:4) (Reveny, 2011)		
Tanin	Metanol : kloroform : air (7 : 3 : 4) (Fitriyani, 2011). Butanol : asam asetat :Air (14:1:5) (Harborne, 1987) etil asetat : metanol : asam asetat (6 : 14 : 1) (Olivia, 2005). butanol :Asam asetat:air (2:0,5:1,1) (Yilia, 2006), n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) (Sa'adah *et al*., 2010).	Penyemprot $FeCl_3$ 1 %	Lembayung, ungu kehitaman
Saponin	Kloroform : methanol : air (13:7:2) (Harborne, 1987), Kloroform : methanol : air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005), Kloroform : methanol : air (3:1:0,1) (Bogoriani *et al*.,2007), Kloroform : methanol : air	H_2SO_4	Ungu gelap

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lanjutan Tabel L.2

	(14:6:1) (Bogoriani *et al.*, 2007) Kloroform : aseton (4:1) (suryanti, 2005).		

Lampiran 3 : Pembuatan Bahan

L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff

Pembuatan pereaksi Dragendroff untuk pereaksi penyemprot, dilakukan dalam 2 bagian larutan yang berbeda. Pada larutan A, ditimbangsebanyak 0,85 gr bismuth nitrat menggunakan neraca analitik. Kemudian, dilarutkan dalam campuran 40 mL aquades dengan 10 mL HCl dalam gelaskimia 100 mL (dilakukan dalam lemari asam). Pada larutan B, ditimbang sebanyak 8 gr kalium iodida menggunakan neraca analitik. Selanjutnya, dilarutkan dalam20 mL aquades dalam gelas kimia 100 mL. Kemudian, dipipetmasing-masing dari larutan A dan larutan B sebanyak 5 mL menggunakan pipet volume. Selanjutnya, dicampurkan dengan 20 mL HCl (dilakukan dalam lemari asam) dan di tanda bataskan dengan aquades hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL (Depkes, 1989).

L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer

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

Larutan II. KI 5 gr dalam aquades 10 mL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang $HgCl_2$ 1,358 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukkan dalam beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 60 mL danlarutan II dibuat dengan menimbang KI 5 gr dengan neraca analitik kemudian dimasukan dalam beaker glass 250 mL dan dilarutkan dengan menambahkan aquades 10 mL. Masing-masing dilakukan pengadukan dengan spatula sampai larut sempurna. Selanjutnya larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan dihomogenkan dengan pengadukan dengan menggunakan pengaduk gelas. Setelah kedua larutan homogen, campuran larutan tersebut dipindahkan dipindahkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas (Manan, 2006).

L.3.3 Pembuatan Metanol 50%

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

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

$V_1 = 5\ mL$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL dengan pipet volum 5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.3.4 Pembuatan $FeCl_3$ 1%

BM $FeCl_3$ = 162,2 g/mol

Massa $FeCl_3$ = $\frac{1\% \; x \; BM \; FeCl3 x \; V}{22,4}$

= $\frac{1\% \; x \; 162,2 \frac{gr}{mol} \; x \; 0,01 \; L}{22,4}$ = 0,072 gr = 72 gr

Jadi, untuk membuat larutan $FeCl_3$1% adalah ditimbang sebanyak 72 mg serbuk $FeCl_3$dengan neraca analitik, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL untuk dilarutkan dengan ± 3 mL aquades. Dilakukan pengandukan denga spatula sampai larut sampurna. Setelah larut, dipindahkan dalam labutakar 10 mL dan di tanda bataskan dengan pelarut aquades.

L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 1 N

BJ HCl pekat = 1,19 g/mL = 1190 g/L

% Volume = 37% (0,37)

BM HCl = 36,42 g/mol

n = 1 (jumlah mol ion H^+)

Molaritas HCl (M) :

Massa HCl = BJ HCl pekat x % volume

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

= 1190 g/L x 0,37

= 440,3 gr

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

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

Normalitas HCl = n x Molaritas HCl

= 1 x 12,09 M

= 12,09 N

$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

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

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

Cara pembuatanyya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukr 100 mL yang berisi ± 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan NH_3 10%

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

50% x V_1= 10% x 10 mL

V_1= 2 mL

Jadi, untuk membuat larutan $NH_3$10% diambil sebanyak 2 mL larutan NH_3 50% dengan pipet volum2 mL, kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL dan ditanda bataskan dengan menambahkan pelarut aquades.

L.3.7 Pembuatan Larutan Limberman-burchard

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

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

L.3.8 Pembuatan Larutan CMC-Na 1%

Serbuk CMC-Na ditimbang sebanyak 1 gr dengan neraca analitik, dimasukkan dalam beaker glass 100 mL dan dilarutkan dengan aquades hangat ± 25 mL (dilakukan pengadukan dengan spatula sampai larut sempurna). Setelah larut

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

semua, dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan di tanda bataskan dengan menambahkan pelarut aquades. Sehingga diperoleh larutan CMC-Na 100 mL.

L.3.9 Pembuatan Larutan Alsever's (dalam g/100 mL)

NaCl	0,42 gr
Asam Sitrat $3Na.2H_2O$	0,80 gr
Asam Sitrat H_2O	0,06 gr
Glukosa	2,05 gr

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

L.3.10 Pembuatan H_2SO_4 0,1 M

BJ H_2SO_4pekat = 1,8 g/mL = 1800 g/L

% Volume = 98% (0,98)

BMH_2SO_4 = 98 g/mol

Molaritas H_2SO_4 (M) :

Massa H_2SO_4 = BJ H_2SO_4 pekat x %

= 1800 g/L x 0,98

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

= 1764 gr

Mol H_2SO_4 $= \frac{Massa\ H2SO4}{BM\ H2SO4} = \frac{1764\ gr}{98\ gr/mol} = 18$ mol

Konsentrasi H_2SO_4 (M) $= \frac{Mol\ H2SO4}{Volume\ H2SO4} = \frac{18\ mol}{1\ L} = 18$ M

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

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

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

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

L.3.11 PembuatanHCl 2 %

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$37\% \times V_1 = 2\% \times 10$ mL

$V_1 = 0{,}5$ mL

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

L.3.12 Pembuatan Larutan Buffer Giemsa

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pembuatan larutan buffer giemsa ini pertama-tama ditimbang bubuk giemsa sebanyak 1 g dengan menggunakan neraca analitik. Kemudian, 1 g bubuk giemsa ini dicampurkan dengan 66 mL gliserin dalam gelas kimia 250 mL yang selanjutnya dimasukkan kedalam oven selama 2 jam pada suhu 60 ^{o}C.Setelah inkubasi, campuran larutan tersebut kemudian ditambahkan dengan 66 mL metanol absolute dan diaduk (R.D Liliedalam McLaughlin, 2004).

L.3.13 Pembuatan Larutan PBS (Phospate Buffered Saline)

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

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

$$10\% \text{ gliserol x } 1{,}6 \text{ mL (alsever,s)} = \frac{10}{100} \text{ x } 1{,}6 \text{ mL}$$

$$= 0{,}16 \text{ mL gliserol}$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

L.3.15 Pembuatan Larutan Etanol 80%

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$98\% \times V_1 = 80\% \times 500$ mL

$V_1 = 408$ mL

Lampiran 4: Perhitungan Parasit dan Dosis Obat

L.4.1 Perhitungan Parasit

L.4.1.1 Perhitungan Jumlah Pengambilan 1 x 10^6 Parasit dari RBC

Penentuan parasit yang kan diambil untuk diinjeksikan pada mencit yang lain adalah sebagai berikut:

- Diasumsikan hematokrit pada mencit normal sebesar 60 % yang memiliki 6 x 10^9 sel darah merah/mL pada darahnya.

Ketika darajat parasitemia telah mencapai 2,5 % maka mencit tersebut dapat digunakan untuk menginfeksikan mencit yang lain, dimana derajta parasitemia yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

telah mencapai 2,5 % mengandung 2,5 parasit dalam 100 mL sel darah merah. Sehingga,

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

Sehingga 1 x 10^6 parasit = $\frac{1\ x\ 10^6\ parasit}{2{,}5\ parasit}$ x 100 RBC

= 40 x 10^6 RBC

Jadi, 1 x10^6 parasit ini bisa diperoleh dalam 40 x 10^6 RBC. Kemudian diketahui bahwa dalam 1 mL darah terdapat 6 x 10^9 RBC, maka untuk menentukan berapa mL darah yang harus diambil untuk memperoleh 40 x 10^6 RBC adalah:

$\frac{40\ x\ 10^6\ RBC}{6\ x\ 10^9}$ x 1 mL darah = 6,7 x 10^{-3} mL

= 6,7 µL (untuk setiap mencit)

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

L.4.1.2 Penyuntikan darah yang terinfeksi terhadap mencit

% infeksi = $\frac{21{,}9}{100}$ x 100 = 21,9 %

Ketika derajat parasitemia mencit donor telah meencapai 2,5 % ,maka harus mengandung 1 x 10^6 parasit dalam 6,7 µL darah. Sehingga derajat parasitemia hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

penelitian yang menunjukkan 21,9 % maka, untuk setiap mencit memerlukan 0,76 µL darah. Sebagaimana perhitungan dibawah ini:

$= \frac{2,5\ \%}{21,9\ \%}$ x 6,7 µL

= 0,67 µL untuk setiap mencit

Jika mencit yang dibutuhkan 36 ekor mencit, maka:

0,67 µL x 36 = 27,36 µL

= 27 µL

Darah yang telah terinfeksi tersebut kemudian diambil dari jantung mencit donor kemudian dilarutkan dalam 200 µL PBS (untuk 6,7 µL darah), sehingga PBS yang dibutuhkan ketika darah yang diambil sebanyak 27 µL adalah:

$= \frac{27\ \mu L}{6,7\ \mu L}$ x 200 µL = 805,97 µL

= 806 µL = 0,8 mL

Sehingga untuk setiap mencit disuntikkan darah yang terinfeksi sebanyak 0,8 mL.

L.4.2. Perhitungan Dosis Untuk Antimalaria

L.4.2.1 Dosis Ekstrak Etanol Widuri

Penetuan dosis ekstrak etanol widuri untuk mencit adalah sebagai berikut: Misalnya berat badan manusia 70 Kg, maka dosis mencit adalah:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Dosis 0,1 mg/Kg BB = 0,1 mg/Kg BB x 70 Kg = 7 mg

= 7 mg x 0,0026 mg = 0,0182 mg/17 g BB

= 0,00107 mg/g BB = 0,001 mg/g BB

Dosis 1 mg/Kg BB = 1 mg/Kg BB x 70 Kg = 70 mg

= 70 mg x 0,0026 mg = 0,182 mg/17 g BB

= 0,01071 mg/g BB = 0,01 mg/g BB

Dosis 1 mg/Kg BB = 10 mg/Kg BB x 70 Kg = 700 mg

= 700 mg x 0,0026 mg = 1,82 mg/17 g BB

= 0,107 mg/g BB = 0,1 mg/g BB

L.4.2.2 Dosis Artemisin

Penentuan dosis artemisin dari sediaan obat *Dihydroartemisisn piperaquine* ***tablets*** yang terdiri dari 40 mg dihidroartemisin dan 320 mg piperaquin fosfat adalah sebagai berikut:

Dosis artemisin untuk manusia adalah 4 mg/Kg BB maka: 4 mg/Kg x 70 Kg = 280 mg

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berat obat tablet keseluruhan= 500 mg

Dosis artemisin untuk mencit dari sediaan obat = $\frac{40\ mg}{500\ mg}$ x 280 mg x 0,0026

= 0,058 mg/17 g BB

= 0,00343 mg/g BB

Keterangan:

0,0026 diperoleh dari tabel perbandingan luas permukaan antara manusia dengan berat badan 70 Kg dan mencit dengan berat badan 17 g.

L.4.2.3 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Larutan Uji

Rumus: Dosis x berat badan mencit

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x dosis x 4 hari

Keterangan: berat badan mencit = 17 gram

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 6

Dosis Artemisin (1/4 dari dosis standar) = ¼ x 0,00343 mg/g BB

= 0,00086 mg/g BB x 17 gr = 0,0146 mg

= 6 x 0,0146 mg x 4 gr = 0,3504 mg/12 mL

Dosis 0,1 mg/Kg BB = 0,00107 mg/g BB

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

= 0.00107 mg/g BB x 17 gr = 0,01819 mg

= 6 x 0,01819 mg/mL x 4 = 0,44 mg/12 mL

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 0,44 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL CMC-Na 1 %.

Dosis 1 mg/Kg BB = 0,0107 mg/g BB

= 0,0107 mg/g BB x 17 gr = 0,1819 mg

= 6 x 0,1819 mg/mL x 4 = 4,4 mg/12mL

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 4,4 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL CMC-Na 1 %.

Dosis 10 mg/Kg BB = 0,107 mg/g BB

= 0,107 mg/g BB x 17 gr = 1,819 mg

= 6 x 1,819 mg/mL x 4 = 44 mg/12mL

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 44 mg kemudian dilarutkan dalam 12 mL CMC-Na 1 %.

Keterangan:

Angka 6 : Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 4 : Jumlah hari terapi

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

1. **Dosis 10 mg/Kg BB**

   Ekstrak pekat 44 mg dilarutkan dalam 12 mL CMC-Na 1 %. Akan tetapi untuk memperbanyak stok (karena akan berkurang untuk pengenceran) maka dilakukan 2x dosis, yaitu 9,6 mg (44 mg x 2) ekstrak pekat dilarutkan dalam 24 mL (12 mL x 2) CMC-Na 1 %. Sehingga diperoleh ekstrak dosis 10 mg/Kg BB sebanyak 24 mL.

2. **Dosis 1 mg/Kg BB**

   $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

   $\frac{44\ mg}{12\ mL} \times V_1 = \frac{4{,}4\ mg}{12\ mL} \times 25\ mL$

   $V_1 = \frac{110\ mg}{12} \times \frac{12\ mL}{44\ mg} = 2{,}5\ mL$

   Sehingga, 2,5 mL ekstrak dosis 10 mg/Kg BB diencerkan dengan CMC-Na 1 % sampai 25 %.

3. **Dosis 0,1 mg/Kg BB**

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$\frac{4{,}4\ mg}{12\ mL} \times V_1 = \frac{0{,}44\ mg}{12\ mL} \times 25\ mL$

$V_1 = \frac{11\ mg}{12} \times \frac{12\ mL}{4{,}4\ mg} = 2{,}5\ mL$

Sehingga, 2,5 mL ekstrak dosis 1 mg/Kg BB diencerkan dengan CMC-Na 1 % sampai 25 %.

L.4.2.4 Pembuatan ekstrak tanaman widuri 10.000 ppm

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

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

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Uji Saponin = 0,5 mL
5. Uji Triterpenoid = 0,5 mL

Jadi, jumlah total ekstrak yang dibutuhkan adalah 100 mg.

- Jumlah total ekstrak untuk pemisahan dengan KLT

Pembuatan ekstrak tanaman widuri 1.000.000 ppm:

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

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 1000 mg kemudian diencerkan dengan 1 mL pelarut etanol 80 %. Kemudian dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1.000.000 ppm (ekstrak yang lebih encer sehingga lebih mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan penotolan). Kemudian ekstrak diletakkan diatas plat tetes untuk mempermudah pengambilan dengan pipa kapiler ketika akan ditotolkan. Jadi, jumlah total ekstrak adalah 1000 mg.

Maka, dapat diperkirakan jumlah keseluruhan ekstrak yang dibutuhkan adalah: 1000 mg + 100 mg + 1000 mg = 2100 mg = 2,1 gr.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Daun Widuri

L.5.1 Kadar Air Basah

Cawan	Cawan kosong (a)	Cawan + isi sebelum dikeringkan (b)	Cawan + isi setelah dikeringkan (c)
1	51,7146	56,7118	52,8111
2	54,3090	60,2854	55,8805
3	55,3124	60,2175	56,6481
4	54,6244	59,5990	56,0980
5	62,7314	67,7125	64,1855
1	51,7115		52,7990
2	54,3072		55,8740
3	55,3087		56,6469
4	54,6175		56,0946
5	62,7286		64,1916
1	51,7000		52,8035
2	54,3068		55,7886
3	55,3081		
4	54,6153		56,0944
5	62,7281		64,1915
1			52,7859
2			55,7610
3			
4			
5			
2			55,7441
3			55,7437

Perhitungan kadar air basah

Rumus = $\frac{b-c}{b-a}$ x 100%

- Cawan 1 = $\frac{56,7118-52,7859}{56,7118-51,7000}$ x 100% = 78,33%
- Cawan 2 = $\frac{60,2854-55,7437}{60,2854-54,3068}$ x 100% = 75,915%
- Cawan 3 = $\frac{60,2175-56,6469}{60,2175-55,3081}$ x 100% = 72,73%
- Cawan 4 = $\frac{59,5990-56,0944}{59,5990-54,6153}$ x 100% = 70,32%

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

- Cawan 5 = $\frac{67,7125-64,1915}{67,1725-62,7280}$ x 100% = 67,07%

Rata-rata kadar air basah $\frac{78,33+75,915+72,73+70,32+67,07}{5}$ = 72,873%

Faktor koreksi & kadar air terkoreksi

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

Kadar air terkoreksi = kadar air - faktor koreksi

- Cawan 1 = faktor koreksi = $\frac{100}{100-78,33\%}$ = 4,614%
  Kadar air terkoreksi = 78,33% - 4,614% = 73,716%
- Cawan 2 = faktor koreksi = $\frac{100}{100-75,915\%}$ = 4,160%
  Kadar air terkoreksi = 73,716% - 4,160% = 71,805%
- Cawan 3 = faktor koreksi = $\frac{100}{100-72,73\%}$ = 3,667%
  Kadar air terkoreksi = 72,73% - 3,667% = 69,063%
- Cawan 4 = faktor koreksi = $\frac{100}{100-70,32\%}$ = 3,421%
  Kadar air terkoreksi = 70,32% - 3,421% = 67,259%
- Cawan 5 = faktor koreksi = $\frac{100}{100-67,07\%}$ = 3,036%
  Kadar air terkoreksi = 67,07% - 3,036% = 64,034%

Rata-rata kadar air terkoreksi = $\frac{73,716+71,805+69,063+67,259+64,034}{5}$ = 69,1754%

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.5.2 Kadar Air Kering

Cawan	Cawan kosong (a)	Cawan + isi sebelum dioven (b)	Cawan + isi setelah dioven (c)
1	51,7121	53,5062	53,2308
2	54,3062	56,1678	55,8520
3	55,3098	57,1966	56,8753
4	54,6170	56,4261	56,1441
5	62,7300	64,2874	64,0396
1	51,7054		53,2199
2	54,3029		55,8354
3	55,3048		56,8655
4	54,6105		56,1373
5	62,7213		64,0341
1	51,7077		53,2270
2	54,3000		55,8262
3	55,3032		56,8576
4	54,6048		56,1371
5	62,7196		64,0349
1	51,7034		53,2256
2	54,3008		55,8237
3			56,8546
4	54,6108		56,1337
5			64,0316
1	51,7058		53,2308
2	54,2975		55,8520
3			56,8753
4	54,6052		56,1441
5			64,0396
1	51,7061		53,2199
2	54,2963		55,8354
3			56,8655
4			56,1373
5			64,0341
1	51,7042		53,2270
2			55,8262
3			56,8576
4	54,6091		56,1371
5			64,0349
1	54,7041		53,2256
2			55,8237
3			56,8546
4	54,6090		56,1337

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5			64,0316
1			53,2221
2			55,8329
3			56,8552
4			56,1306
5			64,0303
1			53,2151
2			55,8324
3			56,8505
4			56,1308
5			64,0307
1	Sampel 1 gr	52,7152	52,5784
2		55,4570	55,3013
3			
4			
5		63,7310	63,5987
1			52,5831
2			55,2911
3			
4			
5			63,5904
1			52,5748
2			55,2908
3			
4			
5			63,5850

Lampiran 6. Perhitungan Rendemen

Berat botol kosong = 91,6982 g

Berat botol kosong + ekstrak pekat = 108,17 g

Berat ekstrak pekat = (Berat botol kosong + ekstrak pekat)- Berat botol kosong

= 108,17 g – 91,6982 g = 16,4718 g

Rendemen $= \frac{berat\ ekstrak\ \ pekat}{berat\ sampel} \times 100\% = \frac{16{,}4718\ \text{g}}{100\,g} \times 100\% = 16{,}4718\%$ (b/b)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 7. Hasil Pengujian Antimalaria

L 7.1 Hasil Pengujian % Parasit dalam 4 Hari Perlakuan

Perlakuan	Mencit	Pengamatan parasit															
		Hari ke-0			Hari ke-1			Hari ke-2			Hari ke-3			Hari ke-4		
		Eritrosit total	Teninfeksi	% infeksi	Eritrosit total	Teninfeksi	% infeksi	Eritrosit total	Teninfeksi	% infeksi	Eritrosit total	Teninfeksi	% infeksi	Eritrosit total	Teninfeksi	% infeksi
Kontrol Non infeksi	1	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
	2	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
	3	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
	4	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
	5	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
	6	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0	1000	0	0
Kontrol negatif	1	1000	37	3,7	1000	34	3,4	1000	38	3,8	1000	40	4	1000	42	4,2
	2	1000	28	2,8	1000	31	3,1	1000	31	3,1	1000	33	3,3	1000	35	3,5
	3	1000	31	3,1	1000	31	3,1	1000	32	3,2	1000	31	3,1	1000	37	3,7
	4	1000	34	3,4	1000	28	2,8	1000	38	3,8	1000	40	4	1000	43	4,3
	5	1000	57	5,7	1000	31	3,1	1000	35	3,5	1000	38	3,8	1000	-	-
	6	1000	15	1,5	1000	28	2,8	1000	31	3,1	1000	36	3,6	1000	36	3,6
Kontrol positif	1	1000	34	3,4	1000	26	2,6	1000	16	1,6	1000	14	1,4	1000	8	0,8
	2	1000	31	3,1	1000	25	2,5	1000	13	1,3	1000	12	1,2	1000	7	0,7
	3	1000	24	2,4	1000	14	1,4	1000	14	1,4	1000	12	1,2	1000	5	0,5
	4	1000	36	3,6	1000	30	3	1000	-	-	1000	-	-	1000	-	-
	5	1000	25	2,5	1000	22	2,2	1000	21	2,1	1000	18	1,8	1000	7	0,7
	6	1000	28	2,8	1000	24	2,4	1000	23	2,3	1000	13	1,3	1000	8	0,8
Kontrol dosis 1	1	1000	49	4,9	1000	24	2,4	1000	21	2,1	1000	16	1,6	1000	8	0,8
	2	1000	22	2,2	1000	18	1,8	1000	15	1,5	1000	14	1,4	1000	5	0,5
	3	1000	28	2,8	1000	26	2,6	1000	14	1,4	1000	14	1,4	1000	3	0,3
	4	1000	57	5,7	1000	21	2,1	1000	20	2	1000	-	-	1000	-	-
	5	1000	56	5,6	1000	18	1,8	1000	20	2	1000	15	1,5	1000	7	0,7
	6	1000	39	3,9	1000	26	2,6	1000	15	1,5	1000	13	1,3	1000	2	0,2
Kontrol dosis 2	1	1000	38	3,8	1000	31	3,1	1000	22	2,2	1000	20	2	1000	12	1,2
	2	1000	28	2,8	1000	15	1,5	1000	14	1,4	1000	21	2,1	1000	11	1,1
	3	1000	40	4	1000	34	3,2	1000	26	2,6	1000	-	-	1000	-	-
	4	1000	24	2,4	1000	32	3,2	1000	19	1,9	1000	27	2,7	1000	17	1,7
	5	1000	39	3,9	1000	12	1,2	1000	18	1,8	1000	14	1,4	1000	8	0,8
	6	1000	28	2,8	1000	26	2,6	1000	14	1,4	1000	13	1,3	1000	4	0,4
Kontrol dosis 3	1	1000	31	3,1	1000	23	2,3	1000	26	2,6	1000	17	1,7	1000	9	0,9
	2	1000	19	1,9	1000	23	2,3	1000	19	1,9	1000	11	1,1	1000	14	1,4
	3	1000	19	1,9	1000	17	1,7	1000	13	1,3	1000	9	0,9	1000	22	2,2
	4	1000	28	2,8	1000	14	1,4	1000	10	1	1000	-	-	1000	-	-
	5	1000	28	2,8	1000	26	2,6	1000	17	1,7	1000	15	1,5	1000	27	2,7
	6	1000	23	2,3	1000	17	1,7	1000	12	1,2	1000	8	0,8	1000	14	1,4

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Keterangan :

Kontrol non infeksi	: Pemberian CMC-Na 1% tanpa diinfeksi *P, Berghei*
Kontrol negatif	: Pemberian CMC-Na 1% dengan diinfeksi *P, Berghei*
Kontrol positif	: Pemberian artemisin dosis 4 mg/kg dengan diinfeksi *P, Berghei*
Dosis 1	: Pemberian terapi ekstrak daun widuri dosis 10 kg/BB kombinasi artemisin ¼ dari dosis standar
Dosis 2	: Pemberian terapi ekstrak daun widuri dosis 1 kg/BB kombinasi artemisin ¼ dari dosis standar
Dosis 3	: Pemberian terapi ekstrak daun widuri dosis 0,1 kg/BB kombinasi artemisin ¼ dari dosis standar

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L 7.2 Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria

No	Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Parasit				
			Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
1	Kontrol Negatif	1	3,7	3,4	3,8	4	4,2
		2	2,8	3,1	3,1	3,3	3,5
		3	3,1	3,1	3,2	3,1	3,7
		4	3,4	2,8	3,8	1	4,3
		5	1,5	2,8	3,1	3,6	3,6
	Rata-rata		2,9	3,04	3,4	3,6	3,86
2	Kontrol Positif	1	3,6	2,6	1,6	1,4	0,8
		2	3,1	2,5	1,3	1,2	0,7
		3	2,4	1,4	1,4	1,2	0,5
		4	2,5	2,2	2,1	1,8	0,7
		5	2,8	2,4	1,3	1,3	0,8
	Rata-rata		2,84	2,22	1,54	1,38	0,7
3	Dosis 10 kg/BB	1	4,9	2,4	2,1	1,6	0,8
		2	2,2	1,8	1,5	1,4	0,5
		3	2,8	1,6	1,4	1,4	0,3
		4	5,6	1,8	2	1,5	0,7
		5	3,9	2,6	1,5	1,3	0,2
	Rata-rata		3,88	2,04	1,7	1,44	0,5
4	Dosis 1 kg/BB	1	3,8	3,1	2,2	2	1,2
		2	2,8	1,5	1,4	2,1	1,1
		3	2,4	3,2	1,9	2,7	1,7
		4	3,9	1,2	1,8	1,4	0,8
		5	2,8	1,6	1,4	1,3	0,4
	Rata-rata		3,14	2,12	1,74	1,9	1,04
5	Dosis 0,1 kg/BB	1	3,1	2,3	2,6	1,7	9
		2	1,9	2,3	1,9	1,1	1,4
		3	1,9	1,74	1,3	0,9	2,2
		4	2,8	2,6	1,7	1,5	3,7
		5	2,3	2,7	1,2	0,8	1,4
	Rata-rata		2,4	2,32	1,74	1,2	1,72

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L 7.3 Perhitungan % Parasitemia

% Penghambatan = $\frac{parasitemia\ kontrol\ negatif - parasitemia\ dosis}{parasitemia\ kontrol\ negatif}$ x 100%

No	Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Parasitemia (%)			
			Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4
1	Kontrol Negatif	1	3,4	3,8	4	4,2
		2	3,1	3,1	3,3	3,5
		3	3,1	3,2	3,1	3,7
		4	2,8	3,8	1	4,3
		5	2,8	3,1	3,6	3,6
	Rata-rata		3,04	3,4	3,6	3,86
2	Kontrol Positif	1	2,6	1,6	1,4	0,8
		2	2,5	1,3	1,2	0,7
		3	1,4	1,4	1,2	0,5
		4	2,2	2,1	1,8	0,7
		5	2,4	1,3	1,3	0,8
	Rata-rata		2,22	1,54	1,38	0,7
	% Pengahambatan	1	23,53	57,9	65	80,95
		2	19,35	58,06	63,64	80
		3	50	56,25	61,29	86,49
		4	21,43	44,74	55	83,72
		5	14,28	58,06	63,88	77,77
	Rata-rata		25,72	55,002	61,76	81,79
3	Dosis 10 kg/BB	1	2,4	2,1	1,6	0,8
		2	1,8	1,5	1,4	0,5
		3	1,6	1,4	1,4	0,3
		4	1,8	2	1,5	0,7
		5	2,6	1,5	1,3	0,2
	Rata-rata		2,04	1,7	1,44	0,5
	% Penghambatan	1	29,41	44,74	60	80,95
		2	41,93	51,61	57,57	85,71
		3	48,39	56,25	54,84	91,89
		4	35,71	47,37	62,5	83,72
		5	7,14	51,61	63,89	94,44
	Rata-rata		32,52	50,32	59,76	87,342
4	Dosis 1 kg/BB	1	3,1	2,2	2	1,2
		2	1,5	1,4	2,1	1,1
		3	3,2	1,9	2,7	1,7
		4	1,2	1,8	1,4	0,8
		5	1,6	1,4	1,3	0,4

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

	Rata-rata		2,12	1,74	1,9	1,04
	% penghambatan	1	8,82	42,10	50	71,43
		2	51,61	54,84	86,36	68,57
		3	0	40,62	12,90	54,05
		4	57,14	52,63	65	81,39
		5	42,14	54,84	63,89	88,89
	Rata-rata		32,09	49,01	45,63	78,816
5	Dosis 0,1 kg/BB	1	2,3	2,6	1,7	0,9
		2	2,3	1,9	1,1	1,4
		3	1,74	1,3	0,9	2,2
		4	2,6	1,7	1,5	2,7
		5	2,7	1,2	0,8	1,4
	Rata-rata		2,32	1,74	1,2	1,72
	% penghambatan	1	32,35	55,26	57,5	78,67
		2	25,81	64,52	66,67	61
		3	45,16	71,88	70,97	40,54
		4	7,14	55,26	62,5	30,88
		5	3,57	61,29	77,78	61,11
	Rata-rata		22,81	61,64	66,88	55,22

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L 7.4 Presentase penghambatan parasitemia mencit pada hari ke-4

No	Perlakuan	Ulangan	% Penghambatan
1	Kontrol positif	1	80,95
		2	80
		3	86,49
		4	83,72
		5	77,77
	Rata-rata		81,79
2	Dosis 10 kg/BB	1	80,95
		2	85,71
		3	91,89
		4	83,72
		5	94,44
	Rata-rata		87,342
3	Dosis 1 kg/BB	1	71,43
		2	68,57
		3	54,05
		4	81,39
		5	88,89
	Rata-rata		78,816
4	Dosis 0,1 kg/BB	1	78,67
		2	61
		3	40,54
		4	30,88
		5	61,11
	Rata-rata		55,22

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 8. Data Uji Statistik

Two-way ANOVA: Hasil versus Perlakuan; Hari

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

Analysis of Variance for Hasil, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Dosis	3	497,7	497,7	165,9	0,89	0,450
Hari	3	22339,6	22339,6	7446,5	40,02	0,000
Dosis*Hari	9	3783,4	3783,4	420,4	2,26	0,029
Error	64	11909,7	11909,7	186,1		
Total	79	38530,4				

S = 13,6415 R-Sq = 69,09% R-Sq(adj) = 61,85%

Unusual Observations for Hasil

Obs	Hasil	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
10	7,1400	32,5160	6,1006	-25,3760	-2,08 R
13	0,0000	31,9420	6,1006	-31,9420	-2,62 R
14	57,1400	31,9420	6,1006	25,1980	2,07 R
52	86,3600	55,6300	6,1006	30,7300	2,52 R
53	12,9000	55,6300	6,1006	-42,7300	-3,50 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method (BNT) and 95.0 % Confidence

Perlakuan	N	Mean	Grouping
4	20	57.48	A
1	20	56.07	A
3	20	52.36	A
2	20	51.49	A

Means that do not share a letter are significantly different

Grouping Information Using Tukey Method (BNT) and 95.0 % Confidence

Perlakuan	N	Mean	Grouping
4	20	74.11	A
3	20	61.06	B
2	20	53.99	B
1	20	28.25	C

Means that do not share a letter are significantly different

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Grouping Information Using Tukey Method (BNT) and 95.0 % Confidence

Perlakuan	Hari	N	Mean	Grouping
4	4	5	87.34	A
1	4	5	81.79	A B
3	4	5	72.87	A B C
2	3	5	67.08	A B C
1	3	5	61.76	A B C D
2	2	5	61.64	A B C D
4	3	5	59.76	A B C D
3	3	5	55.63	B C D E
1	2	5	55.00	B C D E
2	4	5	54.44	B C D E
4	2	5	50.32	C D E F
3	2	5	49.01	C D E F
4	1	5	32.52	D E F
3	1	5	31.94	D E F
1	1	5	25.72	E F
2	1	5	22.81	E F

Means that do not share a letter are significantly different

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 9. Dokumentasi

1. Analisis Kadar Air Daun Widuri (*Calotropis gigantea*)

Gambar 1. Sampel daun widuri

Gambar 2. Analisis kadar air (dalam desikator)

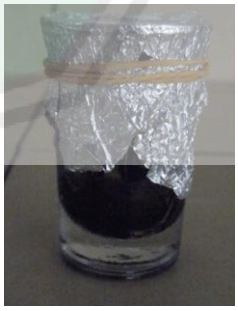
2. Ekstraksi Maserasi Daun Widuri (*Calotropis gigantea*)

Gambar 3. Maserasi dengan pelarut etanol

Gambar 3. Proses penyaringan

Gambar 4. Filtrat hasil maserasi dengan metanol

Gambar 5. Pemekatan filtrat dengan rotary evaporator



Gambar 6. Ekstrak pekat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Antimalaria pada Mencit *Mus musculus*

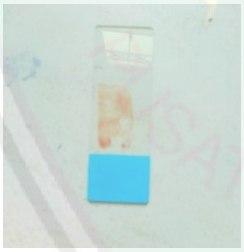
Gambar 7. Pembiusan mencit donor

Gambar 8. Pengambilan darah jantung mencit donor

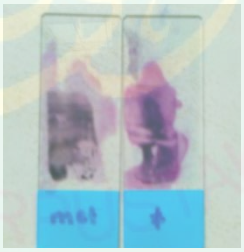
Gambar 9. Darah jantung mencit donor

Gambar 10. Resuspensi darah infeksi *Plasmodium berghei* pada larutan PBS

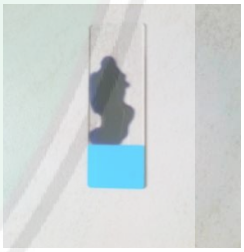
Gambar 11. Penginfeksian parasit pada mencit kontrol



Gambar 12. Hapusan darah mencit



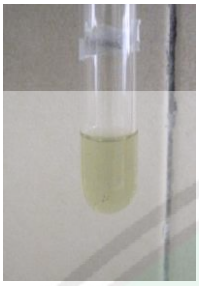
Gambar 13. Pewarnaan hapusan dengan giemsa



Gambar 14. Pencucian setelah pewarnaan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Uji Fitokimia dengan Reagen



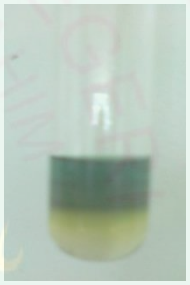
Gambar 15. Ekstrak etanol Sebelum diuji

Gambar 16. Uji saponin (-)

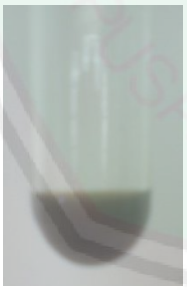
Gambar 17. Uji favonoid (-)

Gambar 18. Uji alkaloid dragendroff (-)

Gambar 19. Uji alkaloid mayer (-)



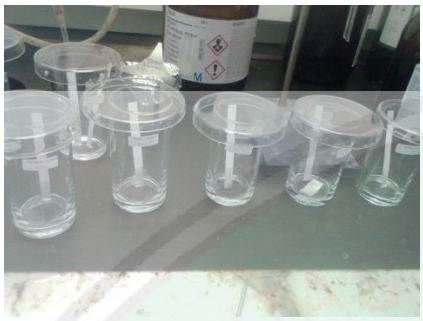
Gambar 20. Uji steroid (+)



Gambar 21. Uji tanin (+)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5. Identifikasi Senyawa Aktif dengan KLT



Gambar 22. Pemisahan golongan senyawa steroid

Gambar 23. Pemisahan golongan senyawa tanin

Gambar 24. Spot hasil pemisahan senyawa steroid

Gambar 25. Spot hasil pemisahan senyawa tanin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG