

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN BARU
LAUT (*Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa) PADA *Mus
musculus* TERINFEKSI *Plasmodium berghei* DAN
KARAKTERISASI HASIL ISOLASINYA**



SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelara Sarjana Strata I pada Program Studi Pendidikan Kimia
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Bengkulu**

Oleh :

OIS NURCAHYANTI
NPM. A1F010035

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS BENGKULU
2014**

UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN BARU LAUT (*Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa) PADA *Mus musculus* TERINFEKSI *Plasmodium berghei* DAN KARAKTERISASI HASIL ISOLASINYA

SKRIPSI

Oleh :

OIS NURCAHYANTI
NPM. A1F010035

Disahkan Oleh:

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Dekan FKIP,

Ketua Jurusan PMIPA,

Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M. Pd

Dra. Diah Aryulina, M.A., Ph.D

NIP. 19611207 198601 1 001

NIP. 19620718 198702 2 001

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN
BARU LAUT (*Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa) PADA
Mus musculus TERINFEKSI *Plasmodium berghei* DAN
KARAKTERISASI HASIL ISOLASINYA**

SKRIPSI

Oleh :

OIS NURCAHYANTI

A1F010035

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Program Studi Kimia
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Bengkulu

Dilaksanakan pada:

Hari, Tanggal : Rabu, 5 Maret 2014
Pukul : 08.00 WIB – 10.00 WIB
Tempat : Ruang Dosen Program Studi Pendidikan Kimia
Dekanat FKIP Universitas Bengkulu

Skrripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

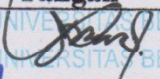



Dr. AGUS SUNDARYONO, M.Si

Dr. M. LUTFI FIRDAUS, M.T

NIP. 19600806 198703 1 005

NIP. 19731022 200003 1 001

Skrripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Tim Penguji :

Penguji	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I	Dr. Agus Sundaryono, M. Si NIP. 19600806 198703 1 005		17-03-2014
Penguji II	Dr. M. Lutfi Firdaus, M.T NIP. 19731022 200003 1 001		17-03-2014
Penguji III	Drs. Amrul Bahar, M.Pd NIP. 19541023 198403 1 002		17-03-2014
Penguji IV	Sura Menda Ginting, M. Sc NIP. 19810131 200501 2 003		17-03-2014

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto :

1. *Hampirilah orang yang berilmu karena tiap-tiap kemuliaan yang tidak dikuatkan dengan ilmu, maka kehinaanlah yang akan terjadi*
2. *Maju bersama Allah menuju masa depan yang cemerlang*
3. *Kemauanlah yang menjadikan orang-orang besar dalam sejarah*

Persembahan :

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillahirobbil alamin, Skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. *Kedua orang tuaku Ayah (A. Tamrin) dan Ibuku di surga (Nurul Huda) serta ibuku yang telah setia menemani (Yulita Isnaini) yang selalu mendukung serta memnyayangiku selama ini dan selalu menjadi penyemangatku.*
2. *Keluarga yang sangat aku sayangi my beloved sister ayuk Gusti, ayuk Filo, kak Tanio, ayuk Puput, bang Dani dan kak Yano yang selalu memberikan semangat dan selalu menjadi kebanggaanmu serta selalu mendo'akan yang terbaik untuk adek kalian ini.*
3. *Laboran uni Depi dan mb Susi yang telah membantu selama penelitian*
4. *Teman seperjuangan dikebun biologi kang Deni, Rahmat, Yoga, dang Fauzi, Arpin, Edo, yang telah membantu dalam penelitian sehingga berjalan dengan lancar.*
5. *Sahabatku yang selalu aku sayangi Dwi, Yeyen, Siska, Winda, Sela, Aang, Allan, Anto yang mengerti aku selama penelitian dan memberikan semangat. Aku sayang kalian*
6. *Teman seperjuangan KOBA Tri, Fanny, Pipit, Theo, kalian luar biasa*
7. *Anak-anak muridku SMA 3 kota Bengkulu XI IPA 1 dan XI IPA 3 yang selalu membuat aku semangat karena tingkah mereka dan yang membantu menghitung parasit*

8. *Sahabat-sahabat KKN yang gokil dan suka ngeledekin, kalian bener-bener ngangenin*
9. *Untuk onyet makasih atas semua warna dan koreksian yang pedas level 12 nya, tetap menjadi yang terbaik*
10. *Keluarga besar Kechepul yang selama ini berjuang bersama dan selalu mengisi hari-hari, berbagi suka dan duka di Kechepul*
11. *M6 Mona yang sudah mengurus semua perjalanan hingga mendapatkan hasil ini, thanks a lot mb*
12. *Almamaterku Universitas Bengkulu.*



SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : **Ois Nurcahyanti**
NPM : A1F010035
Prodi : Pendidikan Kimia
Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Perguruan : Universitas Bengkulu

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya ilmiah yang disusun berdasarkan prosedur penelitian/pengembangan yang saya lakukan sendiri dan bukan merupakan duplikasi skripsi / karya ilmiah orang lain.

Demikian pernyataan keaslian skripsi ini saya buat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Bengkulu, Maret 2014

Yang menyatakan,



OIS NURCAHYANTI

**ANTIMALARIA ACTIVITY TEST OF BARU LAUT LEAVES
EXTRACT (*Thespesia Populnea (L.) Soland ex correa*) TO *Mus
musculus* INFECTED WITH *Plasmodium berghei* AND ITS
ISOLATED RESULTS CHARACTERIZATION**

Ois Nurcahyanti¹, M. Lutfi Firdaus², Agus Sundaryono³
Faculty of Chemical Education Program Teacher Training and Education
University of Bengkulu

ABSTRACT

This study aims to (1) determining the effect of leaf extract *Thespesia Populnea (L.) Soland ex correa* as an anti-malaria drugs in *Mus musculus* animal that have been infected by *Plasmodium berghei* (2) knowing the characterization of the isolation result of *Thespesia Populnea (L.) Soland ex correa* leaves using Infrared Spectroscopy (IR). The antimalaria activity of these leaves was tested by using *Mus muculus* males that have been infected with *Plasmodium berghei*, and it was observed within sixth day. *Thespesia Populnea (L.) Soland ex correa* leves extract could reduce malaria parasites in animal *Mus musculus* infected with *Plasmodium berghei* with increasing of percent barrier for 6 days, with dose suggested 0.056 g / kg. From the characterization of the isolated compounds using IR, it is assumed that secondary metabolites such as flavonoid was one of the metabolites that inhibit the growth of malaria parasites.

Key words :Baru Laut leaves, *Thespesia Populnea (l.) Soland ex Correa*, *Plasmodium berghei*, Flavonoid, Antimalaria.

- ¹ : S1 Chemistry Education Student
² : Co-Supervisor, email: ml.firdaus@gmail.com
³ : Supervisor, email: sundaryono_2005@yahoo.fr

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK DAUN BARU LAUT
(*Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*) Pada *Mus musculus*
terinfeksi *Plasmodium berghei* dan KARAKTERISASI HASIL
ISOLASINYA**

Ois Nurcahyanti¹, M. Lutfi Firdaus², Agus Sundaryono³
Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Bengkulu

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk (1) Mengetahui pengaruh ekstrak daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* sebagai obat anti malaria pada hewan *Mus musculus* yang telah diinfeksi *Plasmodium berghei* (2) Mengetahui karakterisasi dari hasil isolasi daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* dengan menggunakan Spektroskopi Infra Merah (IR). Untuk menguji aktivitas antimalaria dari daun ini maka digunakan *Mus musculus* jantan yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*, dilakukan pengamatan hingga hari ke-6. Ekstrak daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* dapat menurunkan parasit malaria pada hewan uji *Mus musculus* yang terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan peningkatan persen penghambat selama 6 hari, dengan dosis yang menunjukkan efek peningkatan parasit baik yaitu dosis 0,056 g/KgBb. Karakterisasi dari senyawa hasil isolasi ini menggunakan IR yang menduga bahwa senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dimana senyawa metabolit ini merupakan salah satu senyawa metabolit yang menghambat pertumbuhan parasit malaria.

Kata kunci : Daun Baru Laut, *Thespesia Populnea (l.) Soland ex Correa*, *Plasmodium berghei*, Flavonoid, Antimalaria.

¹ : Mahasiswa Pendidikan Kimia FKIP Universitas Bengkulu

² : Pembimbing Pendamping: ml.firdaus@gmail.com

³ : Pembimbing Utam: sundaryono_2005@yahoo.fr

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji aktivitas antimalaria ekstrak daun baru laut (*thespesia populnea (l.) soland ex correa*) pada *mus musculus* terinfeksi *plasmodium berghei* dan karakterisasi hasil isolasinya”.

Skripsi ini dapat selesai tidak hanya karena usaha dan kemampuan penulis sendiri, melainkan begitu banyak bantuan, saran, informasi dan bimbingan dari berbagai pihak baik secara langsung, maupun tidak langsung. Untuk itulah dalam kesempatan ini penulis menghaturkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M. Pd, sebagai Dekan FKIP UNIB.
2. Ibu Dra. Diah Aryulina, M. A, Ph. D sebagai Ketua Jurusan PMIPA.
3. Ibu Dewi Handayani, M. Si dan Ibu Elvinawatit, M. Si sebagai ketua dan sekretaris Progran Studi Pendidikan Kimia.
4. Bapak Dr. Agus Sundaryono, M. Si sebagai pembimbing utama yang telah banyak memberikan waktu, ilmu, perhatian, semangat, masukan, bantuan dan nasehat yang berarti sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan baik.
5. Bapak Dr. M. Lutfi Firdaus, M. T selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, perhatian dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Drs. Amrul Bahar, M. Pd dan ibu Sura Menda Ginting, M. Sc selaku dosen penguji, terimakasih atas saran yang telah diberikan Bapak ibu dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama penulis belajar di bangku kuliah.
7. Kedua Orang tua dan keluarga besar penulis yang selalu mendukung dan

mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Teman-teman Mahasiswa kimia angkatan 2010 (Kechepul, kelompok chemistry 10), kakak-kakak dan adik-adik yang telah memberi dukungan, masukan, dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan yang memerlukan perbaikan dan penyempurnaan, namun penulis berharap kiranya skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Maret 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
ABSTRAK	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Ruang Lingkup Penelitian	4
1.4 Keaslian Penelitian	4
1.5 Tujuan Penelitian.....	5
1.6 Kegunaan penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Studi Pustaka	6
2.2 Landasan Teori	7
2.2.1 Tanaman <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland ex. Correa	7
2.2.2 Morfologi	7
2.2.3 Metabolit Sekunder	8
a. Flavonoid	10
b. Alkaloid	12
c. Steroid dan Terpenoid	13

d. Saponin	14
e. Tanin	15
2.2.4 Ekstraksi	16
2.2.5 Kromatografi Lapis Tipis	17
2.2.6 Kromatografi Kolom	18
2.2.7 Spektroskopi Infra Merah (IR)	20
2.2.8 Mencit	22
2.2.9 Penyakit malaria	23
2.2.10 <i>Plasmodium berghei</i>	24
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2 Peralatan penelitian	26
3.3 Bahan-bahan penelitian	26
3.4 Cara kerja penelitian.....	26
3.4.1 Uji Fitokimia	26
a. Uji alkaloid.....	27
b. Uji steroid terpenoid.....	27
c. Uji flavonoid	28
d. Uji saponin	28
e. Uji tanin.....	28
3.4.2 Isolasi Dan Fraksinasi Daun Baru Laut	28
a. Isolasi	28
b. Fraksinasi	29
c. Pemisahan dengan KLT	30
d. Pemisahan dengan kromatografi kolom.....	31
3.4.3 Identifikasi dan karakterisasi	31
3.4.4 Uji aktivitas senyawa hasil isolasi	32
a. Penyediaan mencit.....	32
b. Metode pengujian.....	32

1. Dosis pemberian	32
2. Pemberian perlakuan.....	33
3. Pemeriksa parasitemia	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder.....	36
4.1.1 Maserasi	36
4.1.2 Uji pendahuluan.....	37
4.1.3 Fraksinasi.....	38
4.1.4 Pemilihan eluen menggunakan KLT	40
4.1.5 Pemisahan dengan kolom	42
4.1.6 Identifikasi	43
4.2 Uji aktivitas senyawa hasil isolasi pada daun <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i>	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
A. Kesimpulan	53
B. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland. Ex Correa	7
Gambar 2. Stuktur dari Flavonoid	10
Gambar 3. Struktur kimia dari flavone, flavonone, isoflavone, chalcone	11
Gambar 4. Struktur kimia morfin	13
Gambar 5. Struktur Umum Steroid	13
Gambar 6. Struktur kimia beberapa terpenoid	14
Gambar 7. Struktur Kimia Saponin	15
Gambar 8. Struktur kimis tanin	16
Gambar 9. KLT	17
Gambar 10. Kolom	19
Gambar 11. <i>P. Berghei</i>	25
Gambar 12. a) daun <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland ex correa kering b) serbuk daun <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland ex correa	36
Gambar 13. Ekstrak kasar <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland	37
Gambar 14. Fraksinasi etanol dengan n-Heksan	38
Gambar 15. Fraksinasi etil asetat – etanol	39
Gambar 16. Uji Fitokimia Hasil Fraksinasi	40
Gambar 17. Keenam Fraksi Yang Memiliki Nilai Rf Yang Sama	42
Gambar 18. Spektrum IR hasil senyawa isolasi	43
Gambar 19. Eritrosit di bawah mikroskop	45
Gambar 20. Persen parasitemia ekstrak kasar	47

Gambar 21. Perbedaan sebelum dan sesudah pemberian ekstra.....	49
Gambar 22. Persentase Parasitemia fraksi etil asetat	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penggolontgan steroida berdasarkan nilai n.....	14
Tabel 2. Penggolongan radiasi infra merah	20
Tabel 3. Perlakuan ekstrak kasar dan fraksi etil asetat.....	34
Tabel 4. Data Uji Fitokimia Daun Segar	38
Tabel 5. Uji fitokimia masing-masing	39
Tabel 6. Hasil KLT pada fraksi etil asetat.....	41
Tabel 7. Persen pertumbuhan dan pesen penghambat pada setiap perlakuan .	46
Tabel 8. Data hasil uji dengan menggunakan fraksi.....	50

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman hayati atau *Biodiversity* dimana hutan tropika Indonesia merupakan sumber terbesar keanekaragaman jenis-jenis tanaman, mengandung lebih dari 400 spesies meranti-merantian dari Famili Dipterocarpaceae (yang merupakan jenis kayu pertukangan paling komersil di Asia Tenggara) dan diperkirakan menyimpan 25.000 spesies tumbuhan berbunga. Negara Indonesia sebagai salah satu pusat *Biodiversity* dunia menyimpan potensi keanekaragaman hayati yang tidak ternilai harganya. Selama ini lebih dari 6000 spesies tanaman dan binatang telah dimanfaatkan untuk kebutuhan hidup sehari-hari masyarakat, dan lebih dari 7000 jenis ikan laut dan tawar selama ini mendukung kebutuhan masyarakat (Elisa, 2010).

Propinsi Bengkulu merupakan propinsi yang memiliki kondisi geografis dan keadaan wilayah yang masih banyak hutan dan sangat dimungkinkan banyak ditemukan berbagai jenis tanaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, baik digunakan secara langsung maupun diolah terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai obat. Salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat adalah tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa.

Berbagai tanaman yang berpotensi sebagai obat telah banyak diteliti sekarang ini baik tanaman khas dari suatu daerah maupun tanaman dunia. Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa merupakan tanaman yang banyak dijumpai di pinggir pantai. Menurut informasi yang diperoleh dari salah satu masyarakat di kabupaten Kaur Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa merupakan tanaman yang dapat dijadikan sebagai tanaman obat, dimana tanaman ini menyembuhkan penyakit malaria, dengan cara daunnya dibuat ramuan dan diminumkan kepada penderita malaria.

Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa merupakan tanaman yang banyak terdapat diberbagai daerah khususnya daerah tropis seperti kabupaten Kaur dan Bengkulu ini sendiri, hanya saja masyarakat tidak banyak tahu senyawa apa yang terkandung didalam tanaman ini, dan bagaimana manfaat tanaman ini sebagai tanaman obat yang di jadikan sebagai obat malaria di daerah Kaur.

Menurut Poerkoesoesoemo (2003) Indonesia merupakan daerah tropis yang sering dijadikan perpindahan atau beresiko malaria. Malaria adalah penyakit berbahaya yang disebabkan oleh gigitan nyamuk anopheles yang sudah terinfeksi oleh parasit. Obat antimalaria dapat dibagi berdasarkan cara kerja selektifnya pada fase yang berbeda dari siklus hidup parasit. Obat yang bekerja terhadap merozoit di eritrosit (fase eritrosit) sehingga tidak terbentuk skizon baru dan tidak terjadi penghancuran eritrosit disebut skizontosida darah (klorokuin, kuinin dan meflokuin). Obat yang bekerja pada parasit stadium pre-eritrositer (skizon yang baru memasuki jaringan hati) sehingga dapat mencegah parasit menyerang eritrosit disebut skizontosida jaringan (pirimetamin dan primakuin). Obat yang dapat membunuh gametosit yang berada dalam eritrosit sehingga transmisi ke nyamuk dihambat disebut gametosida (klorokuin, kina dan primakuin). Obat yang dapat menghambat perkembangan gametosit lebih lanjut di tubuh nyamuk yang menghisap darah manusia sehingga rantai penularan putus disebut sporontosida (primakuin dan proguanil). Pengobatan yang diberikan adalah pengobatan radikal malaria dengan membunuh semua stadium parasit yang ada di dalam tubuh manusia. Adapun tujuan pengobatan radikal untuk mendapat kesembuhan klinis dan parasitologik serta memutuskan rantai penularan (Widya, 2007).

Berdasarkan informasi yang didapat mengenai tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa sebagai obat antimalaria maka dilakukan uji bioassay dimana digunakan hewan uji yaitu *Mus musculus* jantan yang terinfeksi *Plasmodium berghei*. Menurut Raja yahya (2009) *Plasmodium berghei* merupakan salah satu parasit malaria yang menginfeksi hewan rodensia, mempunyai kisaran hidup yang kompleks. Kisaran hidup

seksual *P. berghei* yang mengambil masa lebih kurang 24 jam dalam perumahan vertebrata bermula apabila *sporozoit* dari nyamuk terinfeksi memasuki edaran darah dan menyerang sel parenkim hepar. Dalam *hepatosit*, *skizon eksoeritrosit* hasil pembiakan *sporozo* secara *skizoni*, menjalani proses pematangan dan penunasan untuk membentuk merozoit, pemecahan hepatosit membebaskan beribu-ribu *merozoit* ke dalam aliran darah dan penukaran *merozoit* kepada *trofozoit* dan seterusnya *skizon* berlaku dalam sel eritrosit.

Infeksi *P. berghei* merupakan model yang banyak digunakan dalam meneliti aktivitas antimalaria, dan alat yang ampuh untuk studi genetik dan pathogenesis. *P. berghei* ANKA menginfeksi darah yang diperoleh dari tikus yang terinfeksi rentan kultur dalam berbagai kondisi (Jambou, 2011).

Beberapa peneliti telah meneliti Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* ini sebagai antiperadangan, dari penelitian ini menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang baik terkait dengan bunga dan akar dari *Thespesia populnea*, dari berbagai macam penelitian mengenai Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* belum pernah didapat penelitian aktivitas antimalaria dan bagaimana isolasinya dari tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa*.

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin melakukan penelitian mengenai “ Uji aktivitas antimalaria ekstrak daun Baru Laut *Thespesia Populnea* (l.) *Soland ex correa* Pada *Mus musculus* terinfeksi *Plasmodium berghei* dan Karakterisasi hasil isolasi menggunakan IR”.

1.2 Rumusan Masalah

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

- a. Bagaimana pengaruh ekstrak daun Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* sebagai obat antimalaria terhadap hewan *Mus musculus* yang telah diinfeksi *Plasmodium berghei* ?
- b. Bagaimana karakterisasi hasil isolasi dari daun Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* dengan menggunakan spektroskopi Infra Merah ?

1.3 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah:

- a. Tanaman yang akan diteliti adalah daun Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* dengan cara maserasi menggunakan etanol teknis 70%.
- b. Teknik pemisahan dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom.
- c. Uji aktifitas ekstrak daun Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* dilakukan pada hewan *Mus musculus* jantan yang telah diinfeksi *Plasmodium berghei*.
- d. Senyawa hasil isolasi di karakterisasi dengan menggunakan Spektroskopi Infra Merah (IR).

1.4 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai uji aktivitas antimalaria ekstrak daun baru laut *Thespesia Populnea* (L.) *Soland ex correa* pada *Mus musculus* yang diinfeksi *P. berghei* dan karakterisasi hasil isolasi menggunakan IR belum pernah dilakukan dan belum ditemui dalam publikasi ilmiah.

1.5 Tujuan Penelitian

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

- a. Mengetahui pengaruh ekstrak daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* sebagai obat anti malaria pada hewan *Mus musculus* yang telah diinfeksi *Plasmodium berghei*.
- b. Mengetahui karakterisasi dari hasil isolasi daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* dengan menggunakan Spektroskopi Infra Merah (IR).

1.6 Kegunaan Penelitian

a) Bagi Peneliti

Dapat menambah pengetahuan, wawasan dan keterampilan sesuai dengan bidang ilmu yang telah ditekuni selama ini

b) Bagi Masyarakat

1. Memberikan informasi bahwa daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* dapat digunakan sebagai ramuan untuk mengatasi penyakit malaria.
2. Sebagai bahan informasi bagi masyarakat tentang adanya senyawa kimia yang terkandung di dalam daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*.

c) Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

1. Sebagai informasi ilmiah bahwa tanaman Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* mengandung senyawa kimia yang dapat dijadikan salah satu obat tradisional.
2. Memberikan informasi mengenai senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstra daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Studi pustaka

Patil (2011) menyatakan “Akar dan bunga dari tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa menunjukkan anti-inflamasi yang baik yang memberikan bukti bahwa tanaman ini dapat bekerja baik terhadap penyakit arthritis”. Tetapi penelitian ini tidak menjelaskan bagaimana kinerja tumbuhan ini terhadap hewan uji. Sedangkan menurut Hasil penelitian Hisar (2007) menunjukkan bahwa TPE (The ethanol extract of *Thespesia populnea*) menunjukkan tingkat asetilkolin secara signifikan sebagai pengurangan aktivitas cholinesterase di otak yang diujicobakan pada tikus, TPE mungkin terbukti menjadi obat yang berguna karena efeknya yang menguntungkan, seperti peningkatan memori, penurunan kolesterol, antikolinesterasi, dan kegiatan anti – inflamasi. Oleh karena itu, *Thespesia populnea* tampaknya menjanjikan untuk meningkatkan memori, dan akan berguna untuk menggali potensi tanaman sebagai tanaman obat untuk pasien penderita Alzheimer. Tetapi penelitian ini tidak menjelaskan senyawa apa yang dapat menyebabkan TPE dapat menyembuhkan penyakit alzheimer.

“Kandungan flavonoid dari *Thespesia populnea*, dimana dari hasil penelitian ini Flavonoid yang dilaporkan memiliki banyak aktivitas farmakologi, antioksidan, sitotoksik, aktivitas kemoprevensi dan mereka memiliki efek antiproliferatif kuat terkait dengan penghambatan perkembangan siklus sel dan induksi apoptosis (Saravanakumar *et al*, 2009)”.

Pada penelitian selanjutnya menurut Elakkiya, *et al* (2011) “Ekstrak etanol dari bunga *Thespesia populnea* menunjukkan aktivitas inflamasi terhadap eksperimen dengan menginduksi edema kaki pada tikus”. Pada penelitian ini melaporkan adanya phytoconstituents aktif dan pengaruh mereka pada jalur prostaglandin. Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mengisolasi prinsip anti-inflamatory dan mekanisme ekstrak yang terlibat.

Penelitian dengan menggunakan langsung *Plasmodium berghei* telah banyak dilakukan salah satunya menurut Hutomo (2005) yang telah meneliti menggunakan *Mus musculus* yang telah diinfeksi *Plasmodium berghei*, Ekstrak buah *M. citrifolia* dengan pelarut alkohol 70% pada dosis 200 mg dan 150 mg/kg BB, dapat menghambat pertumbuhan *P. berghei* yaitu dengan menurunkan angka parasitemia pada hari ke-5 menjadi 3,576% dan 4,109%, walaupun mempunyai efek yang lebih rendah dari obat malaria fansidar. Ekstrak buah *M. Citrifolia* dengan pelarut alkohol 70% pada dosis 200 mg/Kg BB dapat meningkatkan jumlah makrofag yang memfagositosis lateks. Penelitian dari Hutomo ini menggunakan dosis yang sedikit berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan.

2.2 Landasan teori

2.2.1 Tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa

Thespesia Populnea dijumpai di pantai di seluruh daerah tropis, tidak tumbuh di hutan bakau. Bijinya mengapung di air laut, memungkinkan persebaran oleh arus air laut. *Thespesia populnea* hanya sedikit dijumpai di daratan tepi hutan bakau atau dibudidayakan. Jenis ini merupakan jenis yang cocok untuk daerah yang sangat kering. *Thespesia populnea* kemungkinan berasal dari Asia tropis tetapi saat ini tumbuh di seluruh daerah tropis. Jenis ini cukup umum di sepanjang pantai Asia Tenggara, dan juga dibudidayakan lebih jauh di pedalaman. Waru laut (Jawa), salimuli (Maluku).



Gambar 1. Tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa

Adapun klasifikasi dari tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa adalah:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Ordo : Malvales
Family : Malvaceae
Genus : *Thespesia*
Species : *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa
(Orwa, 2012)

2.2.2 Morfologi

Tanaman Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa merupakan tanaman berupa Semak sampai pohon berukuran sedang dengan mahkota yang rapat. Batang tertutup rapat dengan sisik coklat sampt keperakan, menggundul. Daun berseling, tunggal, helaian daun membundar, mendelta, membundar telur atau melonjong. Perbungaan merupakan bunga aksiler yang soliter, besar, warna kuning muda dengan ungu tua di tengah; bunga kuning membuka pada sekitar jam 10 pagi, menjadi orange-kemerahan di siang hari, kemudian memudar menjadi pink pada pohon dan tidak gugur selama beberapa hari. daun mahkota membundar telur sungsang menyerong. Buah kapsul membundar, bersudut 5 (Wardiyono, 2013).

2.2.3 Senyawa metabolit sekunder

Metabolit sekunder adalah hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Metabolit sekunder sangat bervariasi dalam jumlah dan jenisnya dari setiap organisme. Beberapa dari senyawa metabolit sekunder tersebut diantaranya dapat memberikan efek fisiologis dan

farmakologis seperti senyawa aktif atau komponen bioaktif. Zat metabolit sekunder dapat diketahui jenisnya antara lain kumarin, salanin, liatriol, nimbin, dan azadirachtin . Pemanfaatan dari zat metabolit sekunder sangat banyak. Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, antikoagulan darah, menghambat efek karsinogenik (Lenny, 2006).

Sampai dengan saat ini telah diidentifikasi lebih dari 100.000 senyawa metabolit sekunder yang dapat digolongkan ke dalam:

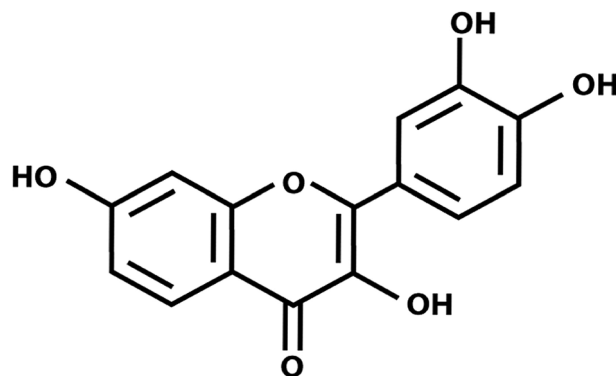
1. Senyawa tanpa atom nitrogen dalam strukturnya (seperti golongan terpen, poliketid, saponin, poliasetilen, dll., dan
2. Senyawa mengandung nitrogen (golongan alkaloid, amina, glikosida sianogenik, asam amino non protein, protein/enzim tertentu, dll.) (Wink, 1999).

Dugaan bahwa metabolit sekunder merupakan produk samping (*waste products*) dari proses metabolisme primer, dan tidak ada manfaatnya bagi organisme penghasil banyak ditentang. Alasannya, sebagai *waste product* metabolit sekunder harus bersifat *inert* dan tidak dapat lagi dimanfaatkan/dimetabolisir oleh organisme penghasilnya. Pada kenyataannya beberapa alkaloid, asam-amino non protein, glikosida sianogen (kesemuanya metabolit sekunder) masih dapat mengalami biodegradasi dan dimanfaatkan pada masa germinasi dari spora organisme penghasil. Selain hal itu, sulit dimengerti bahwa metabolit sekunder yang mempunyai struktur kimia yang besar dan kompleks, dan tentunya juga melewati proses biosintesis yang kompleks), merupakan *waste products*. Sekitar seratus tahun yang lalu Stahl menyatakan bahwa metabolit sekunder memang tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan, akan tetapi sangat dibutuhkan untuk kelangsungan hidupnya, yaitu merupakan senyawa yang berguna untuk menangkal

serangan dari predator dan untuk bertahan terhadap lingkungan (Wink, 1999). Beberapa senyawa metabolit sekunder adalah sebagai berikut :

A. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada teh, buah-buahan, sayuran, anggur, bir dan kecap. Metabolit sekunder juga dapat dimanfaatkan untuk antiagen pengendali hama penyakit pada tanaman yang ramah lingkungan Samsudin (2008). Flavonoid adalah sekelompok senyawa polifenol yang terdapat dalam tanaman. Tanaman mangrove banyak mengandung senyawa flavonoid, karena tanaman mangrove merupakan tanaman sejati yang memiliki daun, akar, batang sejati. Flavonoid yang ditemukan pada tanaman mangrove berperan sebagai antioksidan dengan menghambat peroksidasi dari lipid dan berpotensi menginaktifkan oksigen triplet. Pada tanaman, flavonoid memiliki beragam fungsi, diantaranya dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimikrobal, fotoreseptor, dan skrining cahaya. Struktur dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.

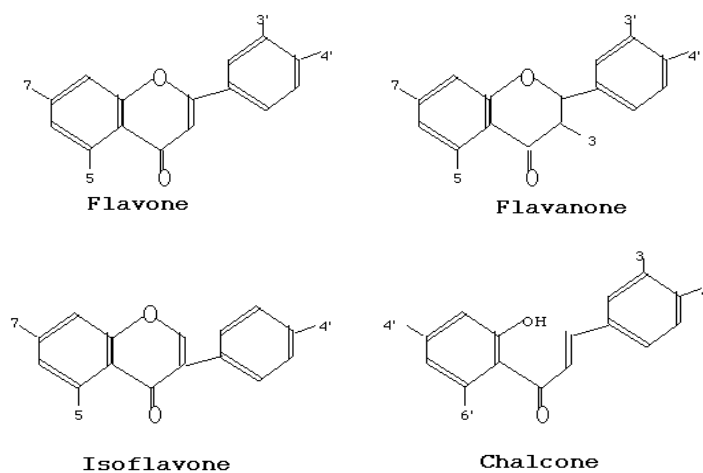


Gambar 2. Stuktur kimia dari flavonoid (Handayani, 2003)

Selain bagi tumbuhan, manusia pun dapat ikut merasakan manfaat adanya flavonoid dalam makanan yang mereka konsumsi. Flavonoid memiliki kemampuan antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan

membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Harborne, 1987).

Flavonoid melakukan aktivitas antioksidan dengan cara menekan pembentukan spesies oksigen reaktif, baik dengan cara menghambat kerja enzim maupun dengan mengikat logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas. Berdasarkan tingkat oksidasi rantai propane, flavonoid dapat dibedakan atas beberapa golongan, yaitu flavon, flavonol, isoflavon, kalkon, dihidrokalkon, auron, antisianidin, katekin dan leukoantisianidin. Dari semua golongan tersebut flavon, flavonol dan antisianidin adalah golongan yang paling sering ditemukan. Penggolongan flavonoid berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil ditunjukkan pada gambar sbb:



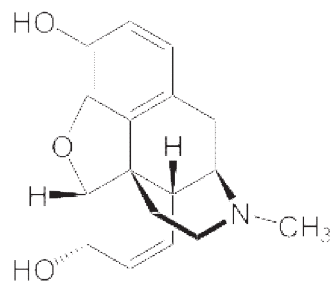
Gambar 3. Struktur kimia dari flavone, flavonone, isoflavone chalcone (Markham, 1988)

B. Alkaloid

Senyawa Alkaloid merupakan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Alkaloid bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam bagian siklik (Harborne, 1987). Alkaloid biasanya tidak berwarna, bersifat optis aktif, berbentuk kristal, namun terkadang ditemukan dalam bentuk cairan pada suhu ruang, dan terasa pahit di lidah (Harborne, 1996). Alkaloid merupakan hasil metabolit sekunder dengan kelompok molekul substansi organik yang tidak bersifat penting bagi organisme yang menghasilkannya atau memanfaatkannya. Senyawa alkaloid dikelompokkan menjadi tiga bagian, yaitu alkaloid sesungguhnya, protoalkaloid, dan pseudoalkaloid. Alkaloid banyak terdapat pada tanaman maupun buah-buahan. Alkaloid yang diperoleh dari tanaman mangrove pada umumnya bersifat neurotoxin atau racun alami yang tidak terlalu membahayakan manusia.

Protoalkaloid merupakan amin yang relatif sederhana dimana di dalam nitrogen asam amino tidak terdapat cincin heterosiklik, dan diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino, dan biasanya senyawa ini bersifat basa (Sastrohamidjojo, 1996).

Senyawa alkaloid, yakni indol memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi radikal bebas atau antioksidan secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama. Alkaloid kerap kali bersifat racun bagi manusia, namun ada sebagian yang memiliki aktivitas fisiologis pada kesehatan manusia sehingga dapat digunakan secara luas dalam dunia pengobatan dan kesehatan (Harborne, 1987). Salah satu jenis alkaloid yaitu morfin struktur kimianya adalah sebagai berikut:

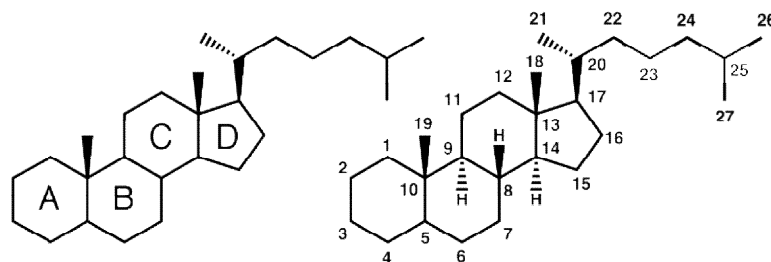


Gambar 4. Struktur kimia morfin (Handayani, 2003)

C. Steroid dan Terpenoid

Steroid merupakan turunan dari golongan senyawa triterpenoid. Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dari triterpena yaitu lanosterol dan saikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat (Harborne, 1987). Golongan triterpenoid/ steroid ditemukan hampir pada semua jenis tanaman mangrove. Golongan ini memiliki banyak manfaat, yaitu antiradang, antiinflamasi, antikarsinogenik, dan pengontrol diabetes dalam fase uji klinis.

Adapun struktur utama dari steroid adalah :



Gambar 5. Struktur Umum Steroid (Boghog, 2009)

Terpenoid adalah komponen-komponen tumbuhan yang memiliki bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan disebut minyak atsiri. Secara umum minyak atsiri adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen yang tidak bersifat aromatik yang disebut terpenoid. Sebagian besar terpenoid

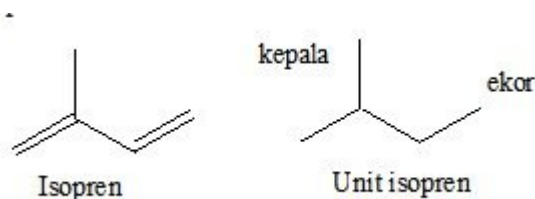
mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C-5 yang disebut isoprena. Secara umum terpenoid terdiri dari unsur-unsur C dan H dengan rumus molekul umum $(C_5H_8)_n$.

Tabel 1. Klasifikasi terpenoid berdasarkan nilai n

Nama	Rumus	Sumber
Monoterpen	$C_{10}H_{16}$	Minyak Atsiri
Seskuiterpen	$C_{15}H_{24}$	Minyak Atsiri
Diterpen	$C_{20}H_{32}$	Resin Pinus
Triterpen	$C_{30}H_{48}$	Saponin, Damar
Tetraterpen	$C_{40}H_{64}$	Pigmen, Karoten
Politerpen	$(C_5H_8)_n$ n 8	Karet Alam

Dari rumus di atas sebagian besar terpenoid mengandung atom karbon yang jumlahnya merupakan kelipatan lima. Penyelidikan selanjutnya menunjukkan pula bahwa sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C_5 yang disebut *unit isopren*. Unit C_5 ini dinamakan demikian karena kerangka karbonnya seperti senyawa isopren (Wili, 2010).

Beberapa contoh terpenoid :

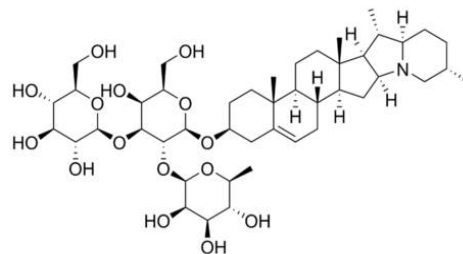


Gambar 6. Struktur kimia beberapa terpenoid (Wili, 2010)

D. Saponin

Saponin adalah golongan glikosida dan sterol yang apabila dihidrolisis secara sempurna akan menghasilkan gula dan satu fraksi non-gula yang disebut sapogenin atau genin. Saponin merupakan

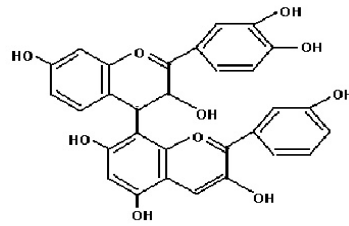
senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisis darah. Hemolisis darah merah oleh saponin ini merupakan hasil interaksi antara saponin dengan senyawa-senyawa yang terdapat pada permukaan membran sel, seperti kolesterol, protein dan fosfolipid. Saponin larut dalam air, sedikit larut atau tidak sama sekali dalam etanol dan metanol pekat yang dingin (Harborne, 1987). Adapun struktur kimia dari saponin adalah :



Gambar 7. Struktur kimia Saponin (Handayani, 2003)

E. Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh dan memiliki batang sejati. Secara kimia terdapat dua jenis tanin, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi hampir terdapat disemua tumbuhan paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae terutama pada tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis, penyebarannya terbatas hanya pada tumbuhan berkeping dua. Tetapi kedua jenis tanin ini banyak dijumpai bersamaan dalam tumbuhan yang sama. Sebagian besar tumbuhan yang banyak mengandung tanin akan dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang pahit. Salah satu fungsi tanin pada tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harborne, 1987). Adapun struktur kimia dari tanin adalah:



Gambar 8. Struktur kimia tanin (Hendra, 2010)

2.2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat terlarut secara selektif dari suatu bahan dengan pelarut tertentu. Pemilihan metode yang tepat tergantung pada tekstur, kandungan air tanaman yang diekstraksi, dan jenis senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1987). Metode ekstraksi maserasi umum digunakan untuk mengekstraksi sampel yang relatif tidak tahan panas. Metode ini hanya dilakukan dengan merendam sampel dalam suatu pelarut dengan jangka waktu tertentu, biasanya dilakukan selama 24 jam tanpa menggunakan pemanas, kelebihan metode ini diantaranya sederhana dan bisa menghindari kerusakan komponen senyawa akibat panas. Kelemahan metode ini ditinjau dari segi waktu dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut relatif banyak dan waktunya lebih lama (Meloan, 1999).

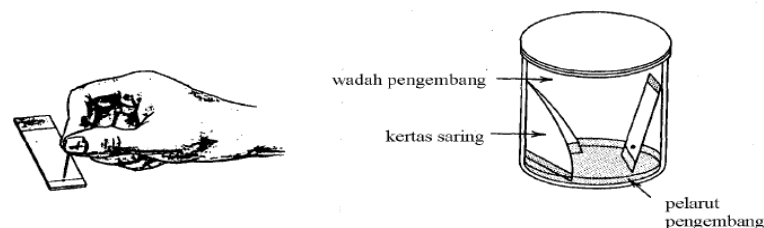
Metode ekstraksi sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat mempercepat waktu kontak antara sampel dan pelarut meskipun pada suhu ruang. Hal ini menyebabkan proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat. Sonikasi mengandalkan energi gelombang yang menyebabkan proses kavitasi, yaitu proses pembentukan gelembung-gelembung kecil akibat adanya transmisi gelombang ultrasonik untuk membantu difusi pelarut ke dalam dinding sel tanaman. Ekstraksi dapat dilakukan dengan metoda maserasi, sokletasi, dan perkolasi. Sebelum ekstraksi dilakukan, biasanya serbuk tumbuhan dikeringkan lalu dihaluskan dengan derajat kehalusan tertentu,

kemudian diekstraksi dengan salah satu cara di atas. Ekstraksi dengan metoda sokletasi dapat dilakukan secara bertingkat dengan berbagai pelarut berdasarkan kepolarannya, misalnya n-heksana, Eter, Benzena, Kloroform, Etil asetat, Etanol, Metanol, dan Air. Ekstraksi dianggap selesai bila tetesan terakhir memberikan reaksi negatif terhadap senyawa yang diekstraksi. Untuk mendapatkan larutan ekstrak yang pekat biasanya pelarut ekstrak diuapkan dengan menggunakan alat rotari evaporator (Harborne, 1996).

2.2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik pemisahan komponen-komponen campuran senyawa-senyawa yang melibatkan partisi suatu senyawa di antara padatan penyerap (*adsorbent*, fasa diam) yang dilapiskan pada pelat kaca atau plastik kaku dengan suatu pelarut (fasa gerak) yang mengalir melewati *adsorbent* (padatan penyerap). Pengaliran pelarut dikenal sebagai proses pengembangan oleh pelarut (elusi). Karena kesederhaan dan kecepatan analisisnya, KLT mempunyai peranan penting dalam pemisahan senyawa-senyawa yang volatilitasnya relatif rendah, baik senyawa organik maupun senyawa anorganik (Khopkar, 2003).

Di dalam analisis dengan KLT, satu contoh dalam jumlah yang sangat kecil ditempatkan (sebagai titik noda) di atas permukaan pelat tipis fasa diam (*adsorbent*), kemudian pelat diletakkan dengan tegak dalam bejana pengembang yang berisi sedikit pelarut pengembang lihat gambar dibawah ini :



Gambar 9. Penggunaan KLT (Firdaus, 2010)

Oleh aksi kapiler, pelarut mengembang naik sepanjang permukaan lapisan pelat dan membawa komponen-komponen sampel. Komponen-komponen contoh memanjat pelat KLT dengan kecepatan yang berbeda-beda, tergantung pada kelarutan komponen dalam pelarut dan derajat kekutan komponen teradsorpsi pada fasa diam. Hasilnya adalah sederetan bercak-bercak (noda-noda) yang tegak lurus terhadap permukaan pelarut dalam bejana.

Kecepatan senyawa-senyawa sebagai komponen-komponen contoh memanjat pelat dibandingkan dengan kecepatan pelarut yang mendahuluinya. Harga perbandingan ini dikenal sebagai harga R_f , dan didefinisikan sebagai:

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

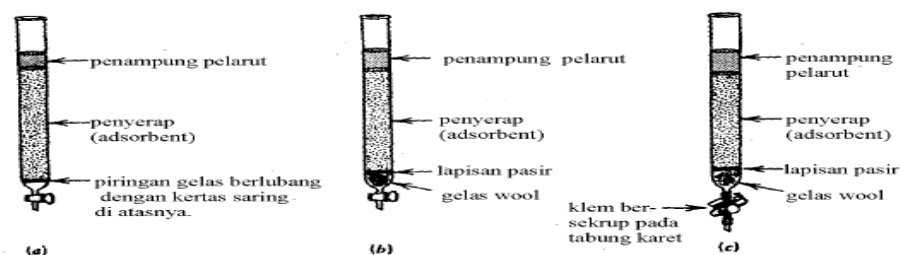
Dengan titik asal adalah titik tengah noda contoh yang terdapat pada pelat KLT (Firdaus, 2010).

2.2.6 Kromatografi Kolom

Kromatografi cair yang dilakukan dalam kolom besar merupakan metode kromatografi terbaik untuk pemisahan dalam jumlah besar (lebih dari 1 g). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita pada bagian atas kolom penyerap yang berada dalam tabung kaca, tabung logam, dan tabung plastik. Pelarut atau fasa gerak dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita senyawa pelarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah, dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari atas kolom (Firdaus, 2010).

Dengan menggunakan cara ini, skala isolasi flavonoida dapat ditingkatkan hampir ke skala industri. Pada dasarnya, cara ini meliputi penempatan campuran flavonoida (berupa larutan) diatas kolom yang berisi serbuk penyerap (seperti selulose, silika atau poliamida), dilanjutkan dengan elusi beruntun setiap komponen memakai pelarut yang cocok. Kolom hanya berupa tabung kaca yang dilengkapi dengan keran pada salah satu ujung (Markham, 1988).

Beberapa kolom mempunyai pelat kaca yang berlubang-lubang kecil atau berpori-pori pada dasarnya yang berfungsi untuk menahan penyerap dalam kolom, dan keran untuk mengontrol aliran fasa cair yang melalui kolom. Perbandingan panjang kolom dengan diameter kolom paling sedikit 10:1.



Gambar 10. Kromatografi kolom (Firdaus, 2010)

Di dalam prosedur yang digunakan untuk kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan dilarutkan ke dalam sesedikit mungkin pelarut yang sesuai (maksimum volume pelarut yang digunakan untuk melarutkan contoh harus tidak lebih dari 1/20 volume kemasan kolom). Jika total campuran tidak larut dalam pelarut sejumlah itu, maka dapat ditambahkan sedikit pelarut polar. Dengan bantuan pipet, larutan campuran dipindahkan ke atas puncak padatan penyerap dalam kolom, berikut penjelasan berupa gambar prosedur dari kromatografi kolom (Firdaus, 2010).

2.2.7 Spektrofotometri Infra Red (IR)

Spektrofotometri Infra Red atau Infra Merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75–1.000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000–10 cm^{-1} dengan menggunakan suatu alat yaitu Spektrofotometer Inframerah. Metode ini banyak digunakan pada laboratorium analisis industri dan laboratorium riset karena dapat memberikan informasi yang berguna untuk analisis kualitatif, serta membantu penerapan rumus bangun suatu senyawa.

Tabel 2. Penggolongan radiasi infra merah

No.	Daerah Inframerah	Panjang Gelombang (λ) dalam μm	Bilangan Gelombang dalam cm^{-1}	Frekuensi (Hz)
1.	Dekat	0,78 – 2,5	13.000 – 4.000	3,8 – 1,2 (10^{14})
2.	Pertengahan	2,5 – 50	4.000 – 200	1,2 – 0,06 (10^{14})
3.	Jauh	50 – 1000	200 – 10	6,0 – 0,3 (10^{12})
4.	Untuk analisis instrumen	2,5 – 15	4.000 – 670	1,2 – 0,2 (10^{14})

Bila radiasi infra merah dilewatkan melalui suatu cuplikan, maka molekul-molekulnya dapat menyerap atau mengabsorpsi energi dan terjadilah transisi diantara tingkat vibrasi dasar (ground state) dan tingkat vibrasi tereksitasi (excited state). Contoh, suatu ikatan C-H yang bervibrasi 90 trillion kali dalam satu detik harus menyerap radiasi infra merah pada frekwensi tersebut untuk pindah ke tingkat vibrasi tereksitasi pertama. Pengabsorbsian energi pada berbagai frekuensi dapat dideteksi oleh spektroskopi infra merah, yang memplot jumlah radiasi infra merah yang diteruskan melalui cuplikan sebagai fungsi frekuensi radiasi. Plot tersebut disebut spektrum infra merah yang akan

memberikan informasi penting tentang gugus fungsional suatu molekul (Hendayana, 1994).

Konsep radiasi inframerah pertama kali diajukan oleh Sir William Herschel melalui percobaannya mendispersikan radiasi matahari dengan prisma. Ternyata pada daerah sesudah sinar merah menunjukkan adanya kenaikan temperatur tertinggi yang berarti pada daerah panjang gelombang radiasi tersebut banyak kalori (energi tinggi). Daerah spektrum tersebut yang dikenal sebagai infrared (IR, di seberang atau di luar merah). Supaya terjadi peresapan radiasi inframerah, maka ada beberapa hal yang perlu dipenuhi, yaitu:

- a. Absorpsi terhadap radiasi inframerah dapat menyebabkan eksitasi molekul ke tingkat energi vibrasi yang lebih tinggi dan besarnya absorpsi adalah terkuantitasi.
- b. Vibrasi yang normal mempunyai frekuensi sama dengan frekuensi radiasi elektromagnetik yang diserap.
- c. Proses absorpsi (spektra IR) hanya dapat terjadi apabila terdapat perubahan baik nilai maupun arah dari momen dua kutub ikatan. Spektrum peresapan IR merupakan perubahan simultan dari energi vibrasi dan energi rotasi dari suatu molekul.

Kebanyakan molekul organik cukup besar sehingga spektrum peresapannya kompleks. Konsep dasar dari spektra vibrasi dapat diterangkan dengan menggunakan molekul sederhana yang terdiri dari dua atom dengan ikatan kovalen. Dengan menggunakan Hukum Hooke, dua atom tersebut dihubungkan dengan sebuah pegas. Persamaan yang diturunkan dari Hukum Hooke menyatakan hubungan antara frekuensi, massa atom, dan tetapan dari kuatnya ikatan (force constant of the bond) (Firdaus, 2010).

2.2.8 Mencit

Menurut Foundation for Biomedical Research (FBR), 95% hewan laboratorium adalah tikus. Ilmuwan dan peneliti bergantung pada tikus karena beberapa alasan. Salah satunya, pengerat ini kecil, mudah disimpan dan dipelihara serta bisa beradaptasi baik dengan lingkungan baru. Hewan ini berkembang biak dengan cepat dan berumur pendek (2-3 tahun) sehingga beberapa generasi tikus dapat diamati dalam waktu singkat.

Selain itu, tikus relatif murah dan dapat dibeli dalam jumlah besar dari produsen komersial yang mengembang biakkan pengerat khusus untuk penelitian. Umumnya, tikus patuh dan hewan ini mudah ditangani peneliti, meski ada beberapa jenis sulit ditangani. Sebagian besar tikus percobaan medis hampir identik secara genetis, kecuali jenis kelamin. Menurut National Human Genome Research Institute, hal ini membantu menyeragamkan hasil percobaan medis. Sebagai syarat minimum, tikus memiliki ras sama (Susana, 2010).

Alasan lain tikus digunakan sebagai model uji medis adalah genetik mereka, karakteristik biologi dan perilakunya sangat mirip manusia, dan banyak gejala kondisi manusia dapat direplikasi pada tikus. “Tikus merupakan mamalia yang memiliki banyak proses seperti manusia dan bisa digunakan menjawab pertanyaan banyak penelitian,” menurut perwakilan National Institutes of Health (NIH) Office of Laboratory Welfare Jenny Haliski. Selama dua dekade terakhir, kesamaan itu makin kuat. Kini, ilmuwan dapat mengembangkan ‘tikus transgenik’ yang membawa gen mirip penyebab penyakit manusia. Tikus juga membuat penelitian efisien karena anatomi, fisiologi dan genetiknya dipahami dengan baik oleh peneliti.

Beberapa tikus SCID (severe combined immune deficiency) secara alami terlahir tanpa sistem kekebalan tubuh dan dapat menjadi

model penelitian jaringan normal dan ganas manusia. Berikut contoh gangguan manusia dimana tikus digunakan sebagai modelnya. Hipertensi, diabetes, katarak, obesitas, kejang, masalah pernapasan, ketulian, parkinson, alzheimer, kanker, cystic fibrosis, HIV dan AIDS, penyakit jantung, muscular dystrophy, cedera kabel spinal (Sompie, 2010).

2.2.9 Penyakit malaria

Malaria adalah penyakit yang mengancam keselamatan jiwa yang disebabkan oleh parasit yang ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk yang terinfeksi. Malaria menyebabkan Negara dengan tingkat penyakit malaria tinggi mengalami penurunan angka pertumbuhan ekonomi hingga 1,3%. Malaria disebabkan parasit jenis Plasmodium Parasit ini ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk yang terinfeksi. Ada beberapa jenis parasit yang ditularkan kepada pada manusia antara lain :

- a. Plasmodium falciparum
- b. Plasmodium vivax
- c. Plasmodium malariae
- d. Plasmodium ovale.
- e. Plasmodium falciparum
- f. Plasmodium vivax

Berbagai jenis malaria diatas merupakan jenis yang paling sering dijumpain, namun yang paling mematikan adalah jenis Plasmodium falciparum Tingkat penularan malaria dapat berbeda tergantung pada faktor setempat, seperti pola curah air hujan (nyamuk berkembang biak pada lokasi basah), kedekatan antara lokasi perkembangbiakan nyamuk dengan manusia, dan jenis nyamuk di wilayah tersebut. Beberapa daerah memililki angka kasus yang cenderung tetap sepanjang tahun – Negara tersebut digolongkan sebagai "endemis malaria ". Di daerah

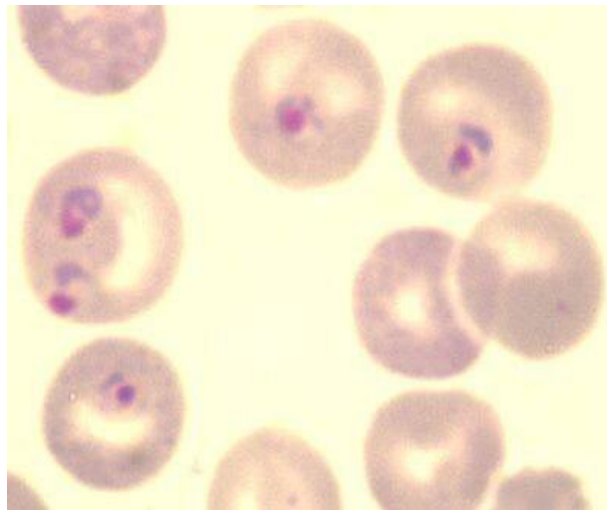
lain, ada “*musim malaria*” yang biasanya berhubungan dengan musim hujan. Epidemik yang luas dan berbahaya dapat terjadi ketika parasit yang bersumber dari nyamuk masuk ke wilayah di mana masyarakatnya memiliki kontak dengan parasit namun memiliki sedikit atau bahkan sama sekali tidak memiliki kekebalan terhadap malaria. Atau, ketika orang dengan tingkat kekebalan rendah pindah ke wilayah yang memiliki kasus malaria tetap. Epidemik ini dapat dipicu dengan kondisi iklim basah dan banjir, atau perpindahan masyarakat akibat konflik (Prabowo, 2004).

2.2.10 *Plasmodium berghei*

P. berghei merupakan species *Plasmodium* sp. yang umum dan baik digunakan sebagai model untuk studi eksperimental malaria pada manusia. *P. berghei* telah terbukti mirip dengan penyebab malaria pada manusia dalam fisiologi dan siklus hidupnya (Yahya, 2009). Klasifikasi *P. berghei* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
filum	: Protozoa
subfilum	: Apicomplexa
kelas	: Sporozoasida
subkelas	: Coccidiasina
ordo	: Eucoccidiorida
subordo	: Haemospororina
famili	: Plasmodiidae
genus	: <i>Plasmodium</i>
species	: <i>Plasmodium berghei</i>

Pada preparat ulas darah dengan pewarnaan Giemsa, salah satu tahap hidup *P. berghei* di dalam sel darah merah dapat terlihat seperti gambar 11.



Gambar 11. *P. berghei*. [Sumber: LUMC-LMRG 2010]

P. berghei memiliki dua tahapan dalam setiap siklus hidupnya, yaitu: fase seksual (sporogoni) dan fase aseksual (skizogoni). Mencit yang tertular malaria oleh parasit jenis plasmodium berghei yang diberi obat tradisional ini dapat bertahan hidup lebih lama ketimbang yang tidak diberikan tanaman obat tradisional, dengan pemberian obat tradisional ini kerusakan hati dan limpa akibat ulah bibit penyakit malaria bisa dicegah (Nugroho , 2011).

Aktivitas antimalaria pada hewan pengerat seperti *Mus musculus* biasanya digunakan *P.berghei*, dimana plasmodium ini merupakan suatu hemoprotzoa yang menyebabkan penyakit malaria padarodensia, terutama rodensia kecil. Secara analitis molekuler tampaknya ada persamaan antara malaria roden dengan malaria *Plasmodium falciparum*. Maka dalam rangka menunjang penelitian yang mengarah pada *Plasmodium falciparum* Digunakan *Plasmodium berghei*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari November 2013 hingga Februari 2013 di Laboratorium Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Laboratorium 7 UNIB, Laboratorium Basic Science UNIB, Kebun Biologi UNIB.

3.2 Peralatan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Plat KLT silika, Kolom Kromatografi dengan diameter 2cm, Tabung Reaksi (50mL, 10mL, 5mL, 100mL), Neraca Analitik, Gelas Kimia (250mL,100mL), Botol Semprot, Pengaduk, Rotary Evaporator, Pipet Kapiler, Apusan Tipis, Spektroskopi Infra Merah, Uv Box 366 nm, Mikroskop, Kamera Digital, S spuit 10mL, Alat Gavage, Nampan, Kawat Kasa, Botol Dot Mencit, Gunting, Cawan Penguap, Erlenmeyer (250mL,100mL), Aluminum Foil, Oven, Kaca Arloji, Corong Pisah, Statif Dan Klem, Botol Vial, Gelas Ukur, Plat Tetes.

3.3 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan- bahan yang digunakan adalah : Daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*, H₂SO₄ 2M, Pereaksi Mayer, Wagner, Metanol PA, Pita Magnesium, HCl 37%, Etanol 96%, FeCl₃, n-Heksan, Etil asetat, *Mus musculus* terinfeksi *Plasmodium Berghei*, Aquades, EDTA, Giemsa 10%, Minyak emersi, Klorokuin, Spritus putih, Pakan mencit, Sekam padi, Silika gel, Ninhidrin.

3.4 Cara Kerja Penelitian

3.4.1 Uji fitokimia

Uji fitokimia Harbone (1987) Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan komponen aktif secara kualitatif yang terdapat

pada ekstrak kasar Baru laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*. Analisis fitokimia ditujukan untuk mengetahui keberadaan alkaloid, steroid dan terpenoid, saponin, flavonoid, dan senyawa fenolik.

a. Uji alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 M kemudian diuji dengan tiga pereaksi alkaloid atau bisa memilih salah satu saja pereaksi alkaloid tersebut, yaitu pereaksi Dragendorff, Meyer, dan Wagner . Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan, dengan pereaksi Wagner membentuk endapan coklat dan dengan pereaksi Dragendorff membentuk endapan merah sampai jingga.

- a Pereaksi Mayer dibuat dengan cara menambahkan 1,36 HgCl₂ dengan 0,5 gram kalium iodida lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 100 mL dalam labu takar. Pereaksi ini tidak berwarna.
- b Pereaksi Wagner dibuat ditambahkan 2,5 gram iodin dan 2 gram kalium iodida, kemudian dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 200 mL dalam labu takar. Pereaksi ini berwarna coklat (Ukhty, 2011).

b. Uji steroid dan terpenoid

0,5 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam asetat glacial sebanyak 2 mL dan asam sulfat pekat sebanyak 3 tetes untuk membentuk lapisan terbentuk warna biru sampai hijau menunjukkan steroid positif. Warna merah kecoklatan sampai ungu menunjukkan uji terpenoid positif (Ayoola. *et al*, 2008).

c. Uji flavonoid

Sejumlah sampel ditambah serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume sama) dan 420 mL alkohol, kemudian campuran dikocok. Hasil uji positif sampel mengandung flavonoid, yaitu terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol ((Ukhty, 2011).

d. Uji saponin

Sampel diambil sebanyak 2 gram dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 20mL aquades yang mendidih, kemudian disaring. Filtrat dikocok selama 15 menit. Terbentuknya lapisan busa setinggi 2 cm mengidentifikasi bahwa pada sampel mengandung saponin (Raaman, 2006).

e. Uji tanin

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan aquades mendidih , kemudian disaring. Filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan $FeCl_3$ adanya warna hijau kecoklatan atau biru-hitam menunjukkan sampel mengandung tanin (Ayoola. *et al*, 2008)

3.4.2 Isolasi dan fraksinasi daun Baru Laut *Thespesia populnea* (L.)

Soland ex correa

a. Isolasi

Sebanyak 1000 g daun Baru Laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* segar dibersihkan dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dalam ruangan yang tidak disinari langsung oleh matahari dan dipotong kecil- kecil. Dimaserasi atau direndam dalam 6 Liter etanol teknis dalam wadah kaca, kemudian disimpan jangan sampai terkena cahaya matahari langsung dan di tutup dengan kain

atau aluminum foil untuk mencegah kontah langsung dengan cahaya selama 5 hari sambil dikocok-kocok secara berkala, kemudian dilakukan remaserasi dengan menyaring ekstrak lama dan merendam daun dengan etanol kembali selama 5 hari. Hasil maserasi dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian di uapkan hingga diperoleh ekstrak etanol pekat, kemudian dilakukan uji fitokimia kembali untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekundernya (Yuliasti, 2013).

b. Fraksinasi

Ekstrak etanol pekat yang diperoleh dari isolasi tadi selanjutnya difraksinasi cair-cair dengan corong pisah. Ekstrak etanol tersebut dicairkan dengan etanol 100mL kemudian dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat berturut-turut dengan pelarut *n*- heksana dan etil asetat.

Ekstrak etanol ditempatkan dalam corong pisah, ke dalamnya ditambahkan pelarut *n*- heksana dengan perbandingan 1:1, kemudian dikocok secara perlahan hingga tercampur, kemudian didiamkan hingga tepat memisah menjadi dua fraksi yang terdiri dari fraksi *n*-heksana dan fraksi ekstrak. Fraksi *n*- heksana dipisahkan dan fraksi ekstrak difraksinasi kembali hingga 3 kali, atau hingga fraksi *n*-heksana berwarna bening. Fraksi *n*- heksana yang telah terkumpul dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* dan penangas air. Selanjutnya fraksi ekstrak difraksinasi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1, proses fraksinasi ini dilakukan tiga kali hingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi etanol. fraksi etanol ini kemudian dipekatkan kembali dengan *rotary evaporator* dan diuapkan hingga semua pelarut menguap.

Fraksi ekstrak etanol, *n*-Heksana, dan etil asetat selanjutnya dilakukan uji fitokimia kembali untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam masing-masing fraksi tersebut. Setelah dilakukan uji fitokimia, maka fraksi dipekatkan sampai diperoleh massa yang tetap dan dilakukan penyelidikan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

c. Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Disiapkan plat silica yang berukuran 2x10 cm, plat ini diberikan tanda di bawah dan tanda diatas dimana tanda bawah 1 cm dan tanda di atas yaitu 0,5 cm, dan jarak tempuh eluen ini nanti yaitu 8,5 cm. Selanjutnya dibuat eluen dengan membandingkan pelarut organik dengan kepolaran bertingkat berturut-turut, yaitu *n*-heksana: etil asetat dan etil asetat: etanol. Pelarut-pelarut ini dicampur dengan perbandingan volume yaitu 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10.

Dari hasil uji fitokimia pada masing- masing fraksi, diperoleh fraksi yang bereaksi positif terhadap flavonoid. Fraksi ini digunakan dalam penyelidikan KLT. Fraksi tersebut kemudian dipekatkan dengan cawan penguap hingga diperoleh ekstrak kental. Untuk penentuan eluen, penotolan cuplikan pada plat KLT dilakukan dengan menggunakan pipet kapiler dan diusahakan diameter totolan sekecil mungkin karena jika diameter totolan besar itu akan mengakibatkan terjadinya penyebaran noda-noda dan timbulnya noda berekor.

Plat KLT yang sudah ditotolkan dikembangkan pada chamber yang jenuh secara tegak lurus, sehingga komponen kimia akan terpisah membentuk pita yang berupa garis horizontal. Bagian bawah dari plat KLT dicelupkan dalam eluen yang terdapat dalam chamber. Proses ini dilakukan dalam chamber yang tertutup rapat.

Fase gerak cair akan bergerak naik pada gel silika melalui kerja kapiler sampai batas atas plat.

Plat KLT kemudian dikeringkan dengan cara diangin – anginkan selama 5-10 menit kemudian pelat disinari dengan ultraviolet(UV) UV 366 nm. Dengan mengamati jumlah spot atau noda terbanyak dan jarak pemisah antar noda cukup terpisah maka dapat digunakan sebagai dasar pemilihan eluen yang baik yang akan diterapkan dalam pemisahan campuran senyawa menggunakan kromatografi kolom(Sureta. *et al*, 2007).

d. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Untuk pengisian kolom, sebagai fraksi diam digunakan silika gel. Mula-mula silika gel diaktifkan dengan pelarut n-heksana dan dikeringkan dalam oven. Silika gel yang telah aktif dibasahi dengan eluen kemudian dimasukkan kedalam kolom dan dipadatkan. Pada bagian atas silika di taruh kertas saring dan diatas kertas saring dimasukkan 1 gram sampel yang sudah dicampur sedikit silika gel. Setelah itu dimasukkan eluen yang telah ditentukan melalui proses KLT tadi dan kran kromatografi kolom dibuka. Fraksi yang terpisah ditampung dalam botol kaca tiap 5 atau 15 menit dengan botol kecil. Setiap fraksi dianalisis dengan KLT. Fraksi yang memiliki spot yang sama disatukan dan dianalisis kembali dengan KLT (Yuliasti, 2013).

3.4.3 Identifikasi / Karakterisasi

Ekstrak senyawa dari daun *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* yang telah dipisahkan dengan kromatografi kolom diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer IR . Sampel akan dikirim ke Laboratorium Pusat penelitian Kimia, LIPI Tangerang Selatan, Banten.

3.4.4 Uji aktivitas senyawa hasil isolasi pada daun *Thespesia populnea* (L.)

Soland ex correa

a. Penyediaan Mencit (*M. Musculus*)

M. musculus jantan yang telah terinfeksi plasmodium berghei diperkirakan diambil dari universitas Bengkulu ini sendiri. Sebelum diberi perlakuan maka mencit tersebut diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 1 minggu, dimana kandang mencit dibuat dari nampan plastik yang diberi sekam padi sebagai alas dan ditutup dengan ram kawat. Mencit dipelihara di dalam kandang dan diberikan penerangan, selama pemeliharaan mencit rata-rata suhu ruangan minimum 23,6°C dan maksimum 26°C, serta kelembapan 80,6%, pakan dan pergantian sekam dilakukan secara terus menerus. Proses inokulasi atau transfer *P. Berghei* dengan cara menyediakan mencit donor atau mencit yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*. Tiga ekor mencit yang telah terinfeksi atau mencit donor ini diambil darahnya dari jantung dengan spuit 1 mL yang telah diinjeksi EDTA terlebih dahulu 0,1 mL, kemudian disuntikkan kepada mencit target sekitar 0,2mL/mencit melalui intraperitoneal.

b. Metode Pengujian

1) Dosis *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa*

Belum diketahui literatur yang menyatakan dosis penggunaan ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* Pada penelitian ini konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* juga belum diketahui. Jadi untuk penelitian ini digunakan dosis yang disesuaikan dengan penelitian serupa. Pada penelitian Titien, Ekalokaria, serta Rika (2012) dosis yang diberikan adalah 0,028 g/Kgbb dan 0,056 g/Kgbb. Untuk itu agar didapat berat daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* yang akan diberikan pada mencit dengan cara gavage dikonversikan sebagai berikut:

Dosis efektif 0,028 g/Kgbb untuk mencit

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 0,028 \text{ g/Kgbb} = 0,00084 \text{ g ekstrak daun Baru Laut}$$

Dosis efektif 0,056 g/Kgbb untuk mencit

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 0,056 \text{ g/Kgbb} = 0,00168 \text{ g ekstrak daun Baru Laut}$$

Dosis efektif 0,084 g/Kgbb untuk mencit

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 0,084 \text{ g/Kgbb} = 0,00252 \text{ g ekstrak daun Baru Laut}$$

Dalam penelitian ini digunakan juga obat umum malaria yaitu klorokuin diphospat sebagai pembanding dengan dosis 250 mg/KgBb yang sering dikonsumsi orang dewasa 600 mg/70kgbb (dalam 3 tablet pada hari pertama penanganan) sehingga klorokuin tablet dapat ditentukan dosisnya dengan dikonversikan terhadap berat badan mencit adalah : 600 mg klorokuin x 0,0026 = 1,56 mg, dimana 0,0026 merupakan angka konversi berat badan manusia 70 kg terhadap berat badan mencit. Klorokuin dapat diencerkan dengan aquadest dimana 1,56 mg dilarutkan dalam 0,25 mL aquadest (Partika sari, 2012).

2) Pemberian Perlakuan

M. musculus (mencit) jantan yang dinilai sehat yang digunakan dalam percobaan dengan berat badan mencit 30-50 g. Selama pemeliharaan perubahan bobot badan hewan tidak melebihi 10% dan secara visual menunjukkan perilaku normal. *M. musculus* yang telah mengalami adaptasi dipilih sebanyak 30 ekor, kemudian dibagi 5 kelompok masing-masing terdiri dari 3 ekor *M. Musculus*. Pemberian perlakuan dibagi 2 tahap dimana tahap pemberian ekstrak kasar (*Ekstrak 1*) daun Baru Laut yang kedua tahap pemberian ekstrak dari fraksi yang paling banyak mengandung Metabolit sekundernya terutama flavonoid (*Ekstrak 2*) .berikut rincian dari dua tahap tersebut :

Tabel 3. Perlakuan Ekstrak Kasar (P) dan Fraksi etil asetat (F)

No.	Perlakuan	n	Pemberian perlakuan
1	P0,F0	3	diinfeksi <i>P. Berghei</i>
2	P1,F1	3	diinfeksi p. berghei dengan diberi klorokuin 600 mg/kgBb (1,56mg klorokuin/0,25ml aquadest)
3	P2	3	diinfeksi <i>P. berghei</i> dengan pemberian ekstrak 1 <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i> dengan dosis (1) adalah 0,028 g/KgBb dengan 0,00084 g <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i>
4	P3	3	diinfeksi <i>P. berghei</i> dengan pemberian ekstrak 1 <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i> dengan dosis (2) adalah 0,056 g/KgBb dengan 0,00168 g ekstrak <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i>
5	P5	3	diinfeksi <i>P. berghei</i> dengan pemberian ekstrak 1 <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i> dengan dosis (3) adalah 0,084 g/kgBb dengan 0,00252 g ekstrak <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i>
6	F2	3	diinfeksi <i>P. berghei</i> dengan pemberian ekstrak 2 <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i> dengan dosis sama seperti P3 pada ekstrak 1
7	F3	3	diinfeksi <i>P. berghei</i> dengan pemberian ekstrak 2 <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i> dengan dosis sama seperti P4 pada ekstrak 1
8	F4	3	diinfeksi <i>P. berghei</i> dengan pemberian ekstrak 2 <i>Thespesia populnea (L.) Soland ex correa</i> dengan dosis sama seperti P5 pada ekstrak 1 <i>Soland ex correa</i>

Pada setiap perlakuan khususnya pada perlakuan yang diberikan ekstrak perlakuan dilakukan selama enam hari, dimana hari 1,2,dan 3 digavage dengan ekstrak dan dosis tertentu berdasarkan berat badan dan setelah 4 jam kemudian diperiksa parasitnya. Hari ke 4,5, dan 6 tidak di gavage hanya diperiksa parasitnya saja.

3) Pemeriksaan Parasitemia

Pemeriksaan parasitemia dilakukan dengan cara darah diambil dari ekor mencit kemudian dibuat apusan darah tipis. Sediaan tersebut diletakan di atas rak datar kemudian dibersihkan dengan methanol (spritus putih) selama 1 menit, dikeringi kemudian digenangi larutan Giemsa 10% selama ± 45 menit. Sediaan dicuci dengan air mengalir sebentar sehingga larutan Giemsa hilang dan dikeringkan pada suhu kamar. Sediaan darah diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dengan diberi minyak emersi. Dari hapusan darah tipis yang telah terinfeksi *P. berghei* kemudian dihitung persen pertumbuhan dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\%pertumbuhan = \frac{P(d_1 - d_0) + \dots + P(d_6 - d_5)}{6}$$

Ket : $P(dx-dx-1)$ = % parasetemia hari x dikurangi % parasetemia hari
Sebelumnya

$$\%penghambat = 100\% - \left[\frac{Xe}{Xk} \times 100\% \right]$$

Ket : Xe = % pertumbuhan rata-rata parasit pada tiap kelompok uji

Xk = % pertumbuhan rata-rata parasit pada kontrol negatif (Hafid, 2011)

Namun, secara teoritis menurut Abdullah (2010) dalam jurnalnya menyatakan bahwa pada hari ke-3 setelah infeksi, parasit mulai menginfeksi sel darah merah ditunjukkan oleh persentase parasetemia yang tinggi (30-40%). Tetapi dalam penelitian yang dilakukan oleh Rahardjo(2011) pengamatan parasitimia pada hari ke 2,3,6,9,12,15,18, pengamatan berlangsung hingga hari ke- 18 penelitian ini menggunakan waktu yang sangat lama. Menurut Baeti (2010) parasetemia 30-40% didapat pada hari ke-3 sampai hari ke-5 post infeksi.