

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder

4.1.1 Maserasi Daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa Pelarut Etanol

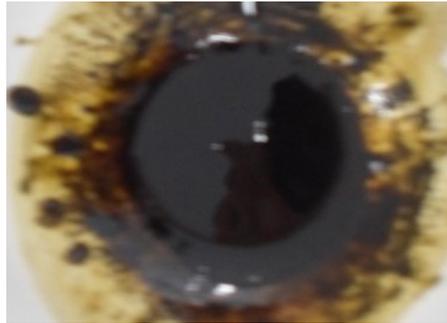
Sampel Daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa di ambil dari batangnya langsung dan diperkirakan jangan terlalu tua, kemudian dikeringkan tanpa sinar matahari langsung . Tujuan dari pengeringan tanpa sinar matahari langsung adalah agar kandungan senyawa yang terdapat di dalam sampel tidak mengalami kerusakan. Sampel kering dibuat halus dengan jalan diblender, sehingga potongan tersebut homogen seperti gambar dibawah ini :



Gambar 12. a) Daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa kering
b) Serbuk Daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa

Isolasi dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol, metoda maserasi ini bertujuan agar zat aktif yang berada didalam rongga sel akan larut, sehingga zat aktif akan terdesak keluar dari sel. Sedangkan tujuan dilakukannya remaserasi agar mendapat zat aktif yang banyak, karena etanol yang baru daya tarik atau daya serapnya akan lebih kuat menarik zat aktif pada daun sehingga zat aktif yang dihasilkan akan lebih banyak. Hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring. 3 Liter Filtrat yang diperoleh kemudian

dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga pelarutnya habis dan diperoleh ekstrak etanol 150 mL, untuk menghilangkan pelarut ekstrak etanol yang didapat diuapkan agar semua pelarut benar-benar hilang. Ekstrak kasar yang diperoleh bentuknya berupa gel, seperti pada gambar berikut ini :



Gambar 13. Ekstrak kasar *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa

Penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator* ini dilakukan karena tekanan yang diperoleh dari *rotary evaporator* menyebabkan etanol dapat menguap dibawah titik didihnya sehingga suhu yang digunakan tidak terlalu tinggi dan tidak merusak ekstrak yang diperoleh. Digunakan pelarut etanol karena pelarut etanol dapat menembus semua jaringan tanaman untuk menarik senyawa aktif keluar dari jaringan sel bahan. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, sifatnya yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol dapat melarutkan hampir semua bahan organik baik senyawa polar maupun senyawa semipolar, sehingga senyawa-senyawa kimia aktif seperti flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin dapat terlarut dalam pelarut.

4.1.2 Uji Pendahuluan Daun Segar *Thespesia populnea* (L.) Soland ex correa

Uji pendahuluan bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun segar *Thespesia populnea* (L.)

Soland ex correa . Hasil Uji fitokimia yang peneliti lakukan adalah sebagai berikut :

Tabel 4. Data Uji Fitokimia Daun Segar

Senyawa metabolit	flavonoid	alkaloid	tanin	saponin	steroid	terpenoid	fenolik
Hasil uji	+	+	+	+	--	+	+

Hasil uji ini hampir serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Patil *et al* (2012) akar dan bunga dari tanaman *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, terpenoid, dan glikosida.

4.1.3 Fraksinasi Ekstrak Etanol Pekat

Ekstrak etanol pekat yang diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan pelarut non polar yaitu *n*-heksana dengan perbandingan 1:1. Fraksinasi dilakukan hingga fraksi *n*-heksana berwarna bening (hampir mendekati warna *n*-heksana semula) yang mengindikasikan bahwa semua senyawa non polar yang terkandung di dalam ekstrak etanol sudah tertarik ke fraksi *n*-heksana.

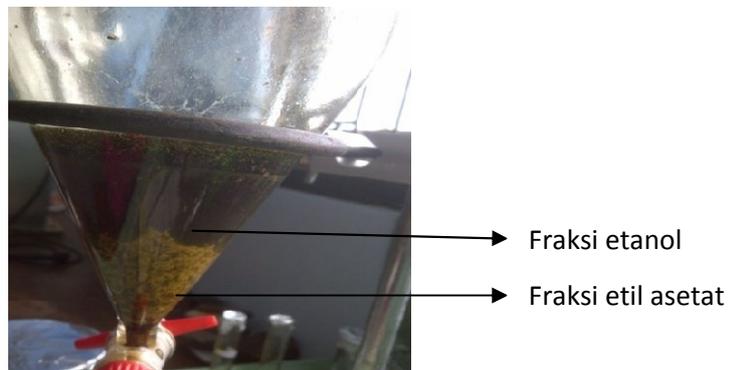


Gambar 14. Fraksinasi etanol dengan *n*-Heksan

Fraksinasi dengan pelarut organik yang bersifat nonpolar seperti *n*-heksana bertujuan untuk mengurangi kandungan senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar yang terdapat dalam ekstrak sehingga

diharapkan dapat menyederhanakan tahapan proses isolasi selanjutnya. Hasil dari fraksinasi diperoleh fraksi *n*-heksana berwarna hijau dan fraksi etanol berwarna hijau kehitaman.

Fraksi etanol sisa yang diperoleh kemudian difraksinasi kembali dengan pelarut polar yaitu etil asetat dengan perbandingan 1:1. Fraksinasi dilakukan hingga fraksi etil asetat berwarna bening yang mengindikasikan bahwa semua senyawa semipolar yang terkandung di dalam fraksi etanol sudah tertarik ke fraksi etil asetat. Hasil dari fraksinasi diperoleh fraksi etil asetat berwarna coklat kemerahan dan fraksi etanol warna hijau yang ditunjukkan pada gambar berikut:



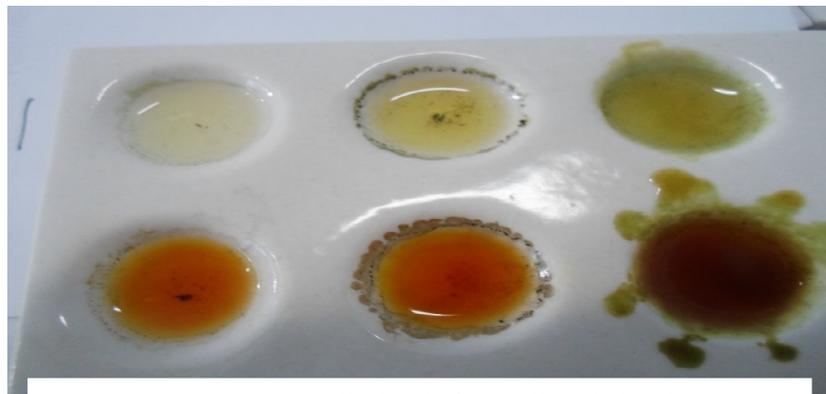
Gambar 15. Fraksinasi etil asetat - etanol

Dari seluruh hasil fraksinasi, masing-masing fraksi dilakukan uji fitokimia kembali untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang masih terkandung di dalam masing-masing fraksi. Hasil uji fitokimia masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel berikut :

Tabel 5. Uji fitokimia masing-masing fraksi

Metabolit sekunder	Fraksi		
	Etil asetat	<i>n</i> -Heksan	Etanol
Favonoid	+++	–	+
Fenolik	+++	–	+
Tanin	+++	–	+
Alkaloid	+	–	+
Saponin	++	–	+
Steroid	–	–	–
terpenoid	++	–	+

Uji fitokimia pada tabel di atas menunjukkan bahwa fraksi etanol mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa golongan fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid. Dibandingkan dengan fraksi etil asetat maka fraksi etil asetat mengandung lebih banyak senyawa metabolit yaitu flavonoid, fenolik, tanin, saponin, terpenoid. Hal ini dilihat dari perbedaan warna yang mencolok yang ditunjukkan dari fraksi tersebut, sedangkan untuk fraksi n heksan hanya mengandung tanin. Berikut gambar uji fitokimia hasil fraksinasi :



Gambar16. Uji Fitokimia Hasil Fraksinasi

Untuk melihat mana fraksi yang paling aktif untuk antimalaria maka diuji dengan hewan uji yaitu *Mus musculus* jatan, dimana menurut literatur senyawa metabolit sekunder yang digunakan untuk antimalaria adalah flavonoid maka digunakan fraksi etil asetat yang mengandung lebih banyak flavonoidnya. Sehingga untuk pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder menggunakan KLT dan kromatografi kolom digunakan fraksi etil asetat.

4.1.4 Pemilihan eluen menggunakan KLT

Sebelum dilakukan proses pemisahan menggunakan teknik kromatografi kolom, terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen terbaik menggunakan KLT. Pemilihan jenis eluen terbaik dilakukan dengan mencoba campuran pelarut yang memiliki perbedaan polaritasnya yaitu

n-heksan : etil asetat dan etil asetat:etanol yang bertindak sebagai fase gerak. Fase gerak ini di variasikan volumenya untuk dapat menentukan perbandingan fase gerak yang mana yang baik digunakan dan dapat memisahkan senyawa dengan baik. Campuran pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol merupakan sistem eluen universal yang sering direkomendasikan sebagai fase gerak dalam kromatografi karena mudah diuapkan dan mudah diatur tingkat kepolaran eluen.

Penentuan sistem eluen dengan KLT dilakukan dengan metode *trial and error*. Ekstrak etil asetat ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan berbagai variasi perbandingan *n*-heksana : etil asetat (*v/v*) dan etil asetat : etanol (*v/v*). Variasi terdiri dari perbandingan 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 Spot hasil elusi diamati menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm untuk dilihat pola pemisahannya. Dengan mengamati jumlah noda/spot terbanyak dan jarak pemisahan antar noda cukup terpisah maka dapat digunakan sebagai dasar pemilihan campuran eluen terbaik yang akan diterapkan dalam pengujian kemurnian suatu senyawa menggunakan KLT selanjutnya (Suirta, 2007). Hasil pemilihan eluen terbaik menggunakan KLT masing-masing sistem eluen dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil KLT pada fraksi etil asetat

Pelarut	Perbandingan	Noda	Pelarut	perbandingan	Noda
n- Heksana	10 : 0	2	Etil asetat : Etanol	10 : 0	3
	9 : 1	2		9 : 1	1
Etil asetat	8 : 2	2	8 : 2	2	
	7 : 3	2	7 : 3	3	
	6 : 4	2	6 : 4	6	
	5 : 5	3	5 : 5	3	
	4 : 6	3	4 : 6	2	
	3 : 7	2	3 : 7	2	

2 : 8	2	2 : 8	2
1 : 9	2	1 : 9	1
0 : 10	3	0 : 10	2

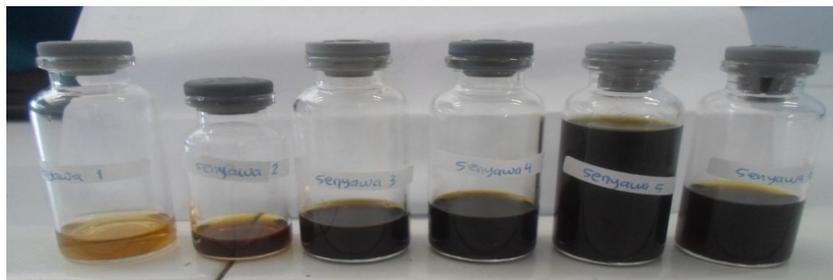
Berdasarkan tabel di atas hasil pemisahan eluen terbaik yaitu perbandingan eluen etil asetat : etanol (6 : 4) yang menghasilkan 6 spot. Selanjutnya eluen tersebut akan digunakan untuk pengujian kemurnian senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dari kromatografi kolom.

4.1.5 Pemisahan senyawa dengan kromatografi kolom

Sebanyak 1,0 gram (1000 mg) ekstrak fraksi etil asetat kering yang telah dihaluskan dan ditambahkan sedikit silica gel dimasukkan ke atas permukaan kolom di atas kertas saring. Fase diam yang digunakan adalah *silica gel* 70-230 mesh sebanyak 50 gram dan fase gerak digunakan etil asetat : etanol dengan 6: 4. Proses pemisahan diawali dengan mengaktifkan silika gel dengan n- heksan dan dioven selama 3 jam dengan suhu 100°C. Setelah aktif barulah silika gel dimasukkan ke dalam kolom dan letakkan zat yang ingin dipisahkan tadi di atas silika. Eluen mulai dialiri sedikit demi sedikit dan eluat yang di hasilkan di tampung dengan menggunakan vial selama 5-15 menit secara berkala.

Dari hasil kolom dapatlah 29 vial yang memiliki perbedaan warna kekentalan masing-masing, Selanjutnya seluruh eluat yang dihasilkan tersebut diamati pola pemisahannya menggunakan teknik KLT.

Berdasarkan pola noda hasil analisis KLT dan harga Rf (lihat lampiran 2), eluat dapat digabung dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok fraksi yaitu fraksi A (vial 1 dan 2) fraksi B vial 3, fraksi C (vial 4,5,6 dan 7), fraksi D (vial 8,9,10,11), fraksi E (vial 12,13,14,15,16,17,18,19,20,28,29) dan fraksi E (vial 21,22,23,24 ,25,26,27) berikut gambar ke 6 fraksi yang dipisahkan dari kolom :

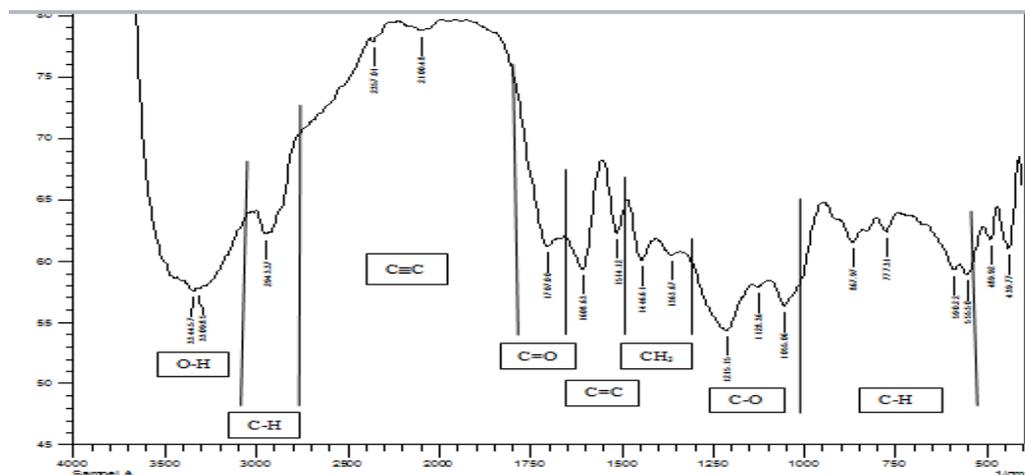


Gambar 17. Keenam Fraksi dengan Nilai Rf Yang Sama

Kemudian keenam fraksi tersebut diuji kemudian untuk melihat senyawa metabolit sekunder didalamnya, fraksi 5 yang memiliki banyak flavonoid, hasil ini diidentifikasi dengan menggunakan IR. Sampel terlebih dahulu diuapkan untuk menghilangkan pelarutnya selanjutnya diuji dengan KLT 2 dimensi untuk melihat apakah benar hanya ada 1 senyawa didalam fraksi atau senyawa 5 tersebut. Hal ini dibuktikan dengan adanya 1 spot dari 2 pelarut yang berbeda. Barulah sampel dikirim untuk identifikasi dengan spektroskopi Infra Merah (IR)

4.1.6 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi berupa kristal (padatan) berwarna coklat. Karakterisasi senyawa tersebut dilakukan menggunakan jenis IR *Prestige-21* Shimadzu. Karena panjang energi IR lebih kecil dari pada energi sinar tampak maupun sinar ultra ungu (UV), maka energi IR tak mampu mentransisikan elektron melainkan hanya menyebabkan molekul bergetar. Oleh karena itu metode ini berguna untuk menentukan gugus fungsional senyawa organik. Atom-atom dalam suatu molekul tidak diam, melainkan bervibrasi (bergerak). Adanya vibrasi tersebut dapat dilihat dari spectrum infra merah yang terdiri dari beberapa pita atau serapan. Spektrum IR senyawa hasil isolasi dapat diamati pada gambar 18.



Gambar 18. Spektrum IR senyawa hasil isolasi

Pita lebar kuat dekat $3309,85$ dan $334,57\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus hidroksil atau fenol bebas (-OH). Pita sedang tetapi tak jenuh. Ini didukung oleh adanya pita lebar dekat $2100,48$ - $2357,01\text{ cm}^{-1}$ akibat rentangan gugus $\text{C}\equiv\text{C}$. Adanya vibrasi tajam pada daerah 1707 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus karbonil (C=O). Adanya gugus alkil dapat terlihat dengan munculnya pita karakteristik yang sesuai dengan C-H, jika terdapat vibrasi sekitar 1450 - 1375 cm^{-1} maka terdapat gugus -CH₃ dan adanya pita tajam di daerah 1300 - 800 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus alkohol (C-O/CN). Pita lebar pada 600 - 900 cm^{-1} adalah pita yang disebabkan oleh *stretching* C-H Aromatik. Sehingga dapat dinyatakan bahwa senyawa aktif Baru laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa p* mengandung gugus -OH, C-H Alifatik, C=O, C=C Aromatik, -CH₃, C-O dan C-H Aromatik. Dari semua gugus fungsi yang terkandung dalam senyawa yang diisolasi pada Baru laut *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* dapat diduga bahwa struktur senyawa yang diisolasi adalah termasuk jenis senyawa flavonoid.

B. Uji aktivitas senyawa hasil isolasi pada daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa*

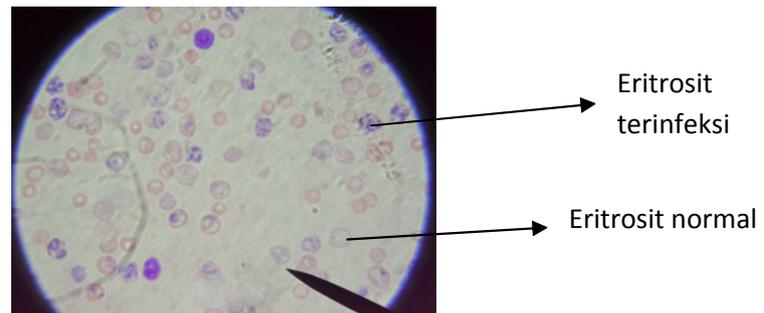
Uji aktivitas biologis dari ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* dilakukan untuk melihat bagaimana pengaruh ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* pada hewan uji yaitu *Mus musculus* jantan yang telah terinfeksi parasit malaria yaitu *Plasmodium berghei*. Pada percobaan ini digunakan tikus putih jantan (*Mus musculus*) sebagai binatang percobaan karena tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina.

Ekstrak kental (crude extract) yang tidak lagi mengandung pelarut etanol selanjutnya akan dilakukan uji aktivitas biologisnya kepada hewan uji yaitu *Mus musculus* jantan yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*. Pada kelompok perlakuan 1 (P0) hanya diinfeksi *Plasmodium berghei* sedangkan pada perlakuan 2 (P1) diinfeksi dan diberi obat malaria yaitu klorokuin. Perlakuan (P3) - (P5) diberikan dosis daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* yang telah ditentukan berdasarkan berat badan mencit tersebut. Sebelum pemberian ekstrak mencit diinfeksi parasit terlebih dahulu sampai 5-7 hari, setelah itu diperiksa darahnya untuk melihat berapa persen jumlah darah yang telah diinfeksi.

Hal ini berbeda dengan (Jerry, 2010). Penginfeksian dengan *P. Berghei* dilakukan selama 3 hari karena pada hari ke-3 post infeksi, parasit *P. Berghei* telah berkembang menginfeksi darah mencit sebesar 30-40% . hal ini mungkin dikarenakan daya tahan tubuh setiap mencit berbeda-beda dan juga *Plasmodium* dari tubuh mencit yang diinfeksi sedikit.

Pengamatan apusan darah mencit di bawah mikroskop menunjukkan perbedaan karakteristik eritrosit normal dan terinfeksi. Eritrosit normal

berbentuk cakram bikonkaf, berwarna kekuningan dan tidak berinti, sedangkan eritrosit yang terinfeksi parasit lebih pucat, bertitik-titik dan lebih besar dibanding eritrosit normal . Berikut gambar eritrosit mencit dibawah mikroskop:



Pada **Gambar 19.** Eritrosit di bawah mikroskop dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100X sehingga dari data pengamatan diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 7. Persen pertumbuhan dan persen penghambat setiap perlakuan

perlakuan	%pertumbuhan H0-H3	%penghambat H0-H3	%pertumbuhan H4-H6	%penghambatan H4-H6
P0	32,09	0,00	43,18	0,00
P1	24,44	23,83	17,38	59,75
P2	20,65	35,65	23,94	44,56
P3	29,08	9,37	23,84	44,79
P4	16,22	49,47	23,68	45,14

Keterangan:

P0 = diinfeksi *P. berghei*

P1 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi klorokuin

P2 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,028 g/KgBb

P3 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,056 g/KgBb

P4 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,084 g/kgBb

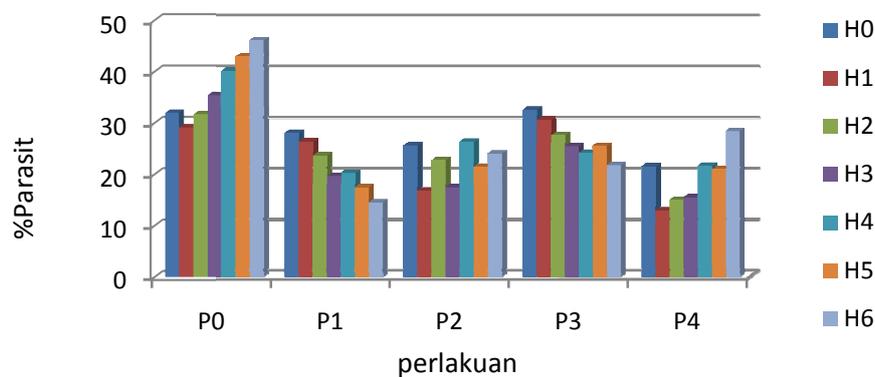
Data persen pertumbuhan dan persen penghambatan dibedakan berdasarkan perlakuan pemberian gavage ekstrak (H0-H3) dan tanpa gavage (H4-H6).

Dari data persen pertumbuhan masing-masing perlakuan, dibandingkan dengan persen pertumbuhan kontrol negatif maka diperoleh data persen penghambatan. Pada perlakuan pertama (P0) hanya diinfeksi, memiliki persen penghambat 0%, berarti tidak ada apapun yang menghambat parasit tersebut sehingga data yang diperoleh selalu meningkat hingga hari ke-6. Pada perlakuan 2(P1) memiliki persen penghambat yang paling besar, klorokuin dapat menghambat parasit dengan bagus hingga pengamatan hari ke-6.

Persen penghambatan parasit pada perlakuan P3-P5 untuk H0-H3 dapat dilihat bahwa P2 memiliki persen penghambat paling besar yang menyatakan bahwa pada dosis ini penghambatan parasit lebih bagus dari perlakuan yang lain pada hari ke-1 hingga hari ke-3, tetapi setelah pengamatan parasetimia diperpanjang hingga hari ke-6 hanya sedikit persennya, hal ini berarti apabila tidak diberikan ekstrak maka pertumbuhan parasitnya lebih banyak dan penghambatnya berkurang. Perbandingan persen penghambat pada H0-H3 dan H4-H6 khususnya untuk dosis pemberian ekstrak P2,P3 terdapat peningkatan persen penghambatan, tetapi persen penghambatan yang paling bagus terdapat pada P3 karena pesen penghambat selalu meningkat walaupun tidak diberikan ekstrak. Pada P4 pertumbuhan tidak bagus karena persen penghambatnya tidak meningkat, dosis pada P4 ini merupakan dosis tinggi yang menyebabkan mencit overdosis sehingga menyebabkan zat yang terkandung dalam ekstrak tersebut menjadi toksik yang dapat merusak organ, jaringan ataupun merusak kinerja sel pada mencit tersebut, sehingga memicu pertumbuhan parasit malari.

Dari data diatas maka ekstrak pada perlakuan P3 dengan pemberian Dosis efektif 0,056 g/KgBb dapat menurunkan parasit secara baik dengan memperlihatkan peningkatan persen penghambat secara baik hingga pengamatan hari ke-6 setelah pemberian ekstrak.

Keberhasilan terapi malaria tidak hanya dapat dilihat dari nilai persen penghambatan parasit saja, namun juga dapat dilihat dari profil pertumbuhan parasit selama tujuh hari pengamatan seperti Grafik pertumbuhan parasit setiap kelompok uji pada setiap harinya berikut ini:



Gambar 20. Persentase parasitemia ekstrak kasar

Keterangan gambar :

P0 = diinfeksi *P. berghei*

P1 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi klorokuin

P2 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,028 g/KgBb

P3 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,056 g/KgBb

P4 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,084 g/kgBb

Grafik di atas memperlihatkan diagram batang yang baik untuk penurunan parasit adalah pada perlakuan P3. Berdasarkan analisis anova setiap perlakuan pada hari H0 (awal), H2, H4, H6, tidak memiliki perbedaan yang nyata (signifikan) berarti setiap perlakuan penurunan parasit hampir sama.

Menurut hipotesis H_0 : rata-rata %parasitemia *Mus musculus* jantan antar perlakuan tidak berbeda nyata , H_1 : rata-rata %parasitemia *Mus musculus* jantan antar perlakuan berbeda nyata berdasarkan perhitungan maka $F_{hitung} < F_{tabel}$ pada taraf signifikan 0,05 (H_0 diterima) dalam artian bahwa rata-rata %parasitemia *Mus musculus* jantan antar perlakuan tidak berbeda secara signifikan. Sedangkan pada (H1,H3,H5) memiliki F_{hitung} lebih besar dibandingkan F_{tabel} sehingga rata-rata parasitemia setiap harinya memiliki perbedaan yang signifikan . selanjutnya dilakukan Uji tukeys, uji tukeys ini dilakukan untuk melihat pertumbuhan parasit yang signifikan pada setiap perlakuan, dari hasil uji tukeys pertumbuhan parasit pada setiap harinya ada yang memiliki perbedaan yang signifikan dan ada yang tidak memiliki

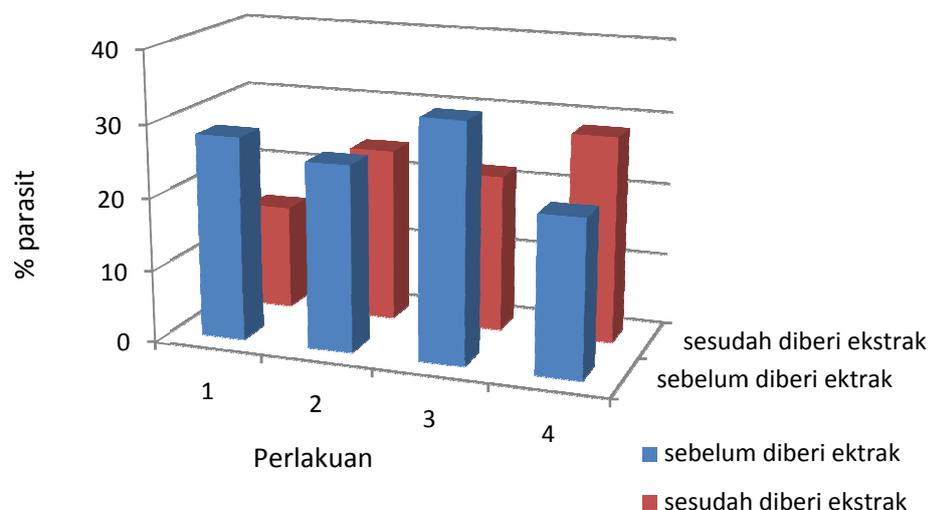
perbedaan yang signifikan. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji pada lampiran 4 dan 5.

Untuk melihat pengaruh ekstrak pada mencit sebelum dan sesudah pemberian ekstrak maka dilakukan T-test dengan cara membandingkan mencit yang terinfeksi sebelum pemberian ekstrak dan sesudah pemberian ekstrak, dari hasil T-test maka persentase parasit sesudah dan sebelum pemberian ekstrak sangat berbeda jauh. Dari hasil T-test maka dibuat hipotesis dimana hasilnya.

H0 : Tidak Terdapat perbedaan Rata-rata persentase parasitemia sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kasar *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*

H1 : Terdapat perbedaan Rata-rata persentase parasitemia sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kasar *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*

Berdasarkan Lampiran 5 dan 6 terdapat perbedaan Rata-rata persentase parasitemia sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kasar *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* adalah perlakuan P3 dan P4 sedangkan pada P2 tidak terdapat perbedaan Rata-rata persentase parasitemia sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kasar *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*. Berikut grafik peningkatan parasit sebelum dan sesudah pemberian ekstrak:



Gambar 21. Perbedaan sebelum dan sesudah diberi ekstrak

Sebelum diberi ekstrak P1,P2,P3,P4 memiliki jumlah parasit berkisar 20%-30%, setelah pemberian ekstrak maka menurun hingga 10%-27% . untuk P0 tidak menurun karena P0 tidak diberi apapun sehingga setelah hari keenam jumlah parasit bertambah banyak. Jadi ekstrak kasar daun *Thespesia populnea* (L.) *Soland ex correa* dapat menurunkan jumlah parasit yang terinfeksi malaria dalam darah sehingga mampu dijadikan obat antimalaria, dan untuk dosis yang efektif digunakan adalah dosis yang dapat menurunkan jumlah parasit yang stabil yaitu pada dosis efektif 0,056 g/Kgbb untuk mencit.

Tetapi peneliti juga melakukan uji coba dengan menggunakan fraksi etil asetat yang diketahui banyak memiliki kandungan flavonoidnya. Hasil yang didapat adalah:

Tabel 8. Data hasil uji dengan menggunakan fraksi etil asetat etil asetat

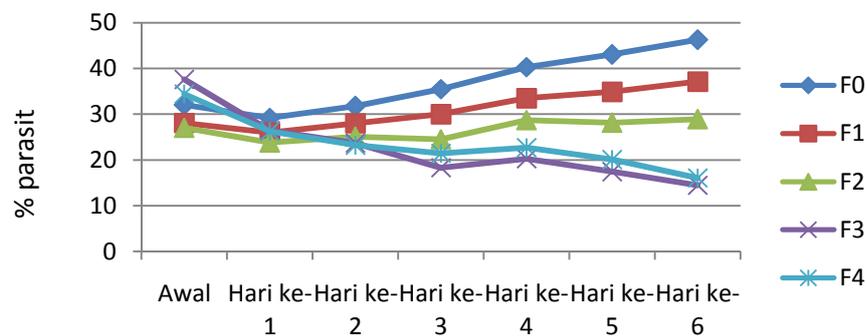
perlakuan	%pertumbuhan H0-H3	%penghambat H0-H3	%pertumbuhan H4-H6	% penghambatan H4-H6
F0	32,09	0,00	43,18	0,00
F1	24,44	23,83	17,38	59,75
F2	24,62	23,27	31,63	26,74
F3	28,70	10,58	18,84	56,36
F4	29,62	7,70	33,04	23,46

Persen penghambatan parasit dengan pemberian ekstrak pada H0-H3 dapat dilihat bahwa F2 memiliki persen penghambat paling besar yang menyatakan bahwa pada dosis ini penghambatan parasit lebih bagus dari perlakuan yang lain pada hari ke-1 hingga hari ke-3, tetapi setelah pengamatan parasetimia diperpanjang hingga hari ke-6 terlihat bahwa perlakuan 3(F3) memiliki nilai penghambat paling besar yaitu 56,36%.

Dengan melihat perbandingan persen penghambat pada H0-H3 dan H4-H6 khususnya untuk dosis pemberian ekstrak F2, F3, F4 terdapat perbedaan dimana untuk F2 persen penghambatan hanya bagus pada saat pemberian ekstrak, ketika ekstrak tidak diberikan lagi hingga hari ke-6, maka parasit

kembali naik. Pada F3 dan F4 penurunan parasit berlangsung terlihat secara baik hingga hari ke-6 tetapi yang memiliki persen penghambat yang paling besar yaitu F3 56,36%.

Dari data diatas maka ekstrak pada perlakuan F3 dengan pemberian Dosis efektif 0,056 g/KgBb dapat menurunkan parasit secara baik hingga pengamatan hari ke-6 setelah pemberian ekstrak. Grafik pertumbuhan parasit setiap perlakuan uji pada setiap harinya berikut ini :



Gambar 22. Persentase Parasitemia fraksi etil asetat

Keterangan gambar :

F0 = diinfeksi *P. berghei*

F1 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi klorokuin

F2 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,028 g/KgBb

F3 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,056 g/KgBb

F4 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,084 g/kgBb

Dari data grafik diatas dapat dilihat bahwa pada F0 hanya diinfeksi, jumlah parasit meningkat hingga terus menerus sampai hari keenam. Pada kontrol positif diberi klorokuin jumlah parasit berkurang hingga hari keenam, hal ini berarti bahwa klorokuin dapat mengurangi jumlah parasit sehingga dapat menyembuhkan penyakit malaria. Pada perlakuan F2 dengan pemberian ekstrak kasar Dosis efektif 0,028 g/Kgbb untuk mencit, parasit menurun dan pada hari keempat tanpa gavage maka parasit naik kembali sedikit dan pada hari ke-6 nya parasit menurun kembali dan tidak stabil. Jika dibandingkan dengan kontrol positif (F1) maka perlakuan yang baik untuk antimalaria apabila persen penghambatan parasit selalu meningkat baik setelah di beri ekstrak maupun sebelum pemberian ekstrak, hal ini tidak ditemukan pada F2.

Pada perlakuan F3 dan F4 persen penghambatan selalu meningkat, tetapi F3 lebih terlihat peningkatan persen penghambatannya dan ini berarti pada perlakuan ini dapat dengan baik menurunkan pertumbuhan parasit.

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

Seperti parasit malaria pada manusia, *P. berghei* ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* dan dapat menginfeksi hepar setelah masuk pembuluh darah akibat gigitan nyamuk betina. Setelah mengalami multiplikasi dan perkembangan selama beberapa hari, parasite meninggalkan hepar dan menginvasi eritrosit. Multiplikasi parasit di darah menyebabkan keadaan patologis seperti anemia dan merusak organ-organ penting dalam tubuh, seperti paru-paru, hepar (Baeti, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

- c. Ekstrak daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* dengan dosis efektif 0,056 g/KgBb dapat menurunkan jumlah parasit dengan persen penghambat sebesar 9,37%- 44,79% hingga hari ke-6 pengamatan.
- d. Hasil karakterisasi dari hasil isolasi daun Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa* menggunakan IR menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi mengandung gugus -OH, C-H Alifatik, C=O, C=C Aromatik, -CH₃, C-O dan C-H Aromatik. Dapat diduga senyawa tersebut termasuk jenis flavonoid.

5.2 SARAN

1. Untuk penelitian berikutnya disarankan menggunakan H-NMR, C-NMR, IR dan Spektroskopi Massa untuk karakterisasi hasil isolasi agar dapat memberikan hasil struktur senyawa yang tepat untuk sampel tersebut.
2. Penggunaan ekstrak kasar daun Baru Laut yang biasa digunakan dalam masyarakat dapat dijadikan salah satu alternatif untuk mengobati penyakit malaria.
3. Pada penelitian selanjutnya apabila dilakukan pemisahan dan pemurnian senyawa, disarankan menggunakan pelarut yang bebas dari kandungan air atau pelarut tersebut didestilasi terlebih dahulu, sehingga tidak memerlukan waktu yang lama dalam pemisahan senyawa hasil isolasi dengan pelarutnya tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulah, M. 2010. *Skrining Dan Potensi Kulit Buah Pepaya Mentah Sebagai Obat Antimalaria Alami*. www.directory.umm.ac.id. (Januari 2014)
- Abhijit.,Jitendra ND. 2012. *Traditional use of medicinal plants as febrifuge by the tribals of Purulia district, West Bengal, India*. <http://www.apjtc.com/zz/2012s2/51.pdf>. (Oktober 2013)
- Ayoola, GA., Coker, HAB., Adesegun, SA., Adepoju-Bello, AA., Obaweya, K., Ezennia, EC., and Atangbayila, TO. 2008. *Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria*. *Trop J Pharm Res*, September 2008: 7(3): 1019-1024, University of Benin.
- Bayu A. 2009. *Hutan mangrove sebagai salah satu sumber produk alam laut.Oseana*.Vol XXXIV No.2 (15-23). (Oktober 2013)
- Baeti., Devi N. 2010. *Efek terapi kombinasi klorokuin dan serbuk lumbricus rubellus terhadap ekspresi gen icam-1 pada mencit swiss Yang diinfeksi plasmodium berghei anka*. FK universitas sebelas maret. Surakarta. (skripsi)
- Berliana, 2012, *Aktifitas Tanaman Asli Indonesia Puspa (Schima Wallichii) Sebagai Senyawa Antimalaria Baru* http://insentif.ristek.go.id/PROSIDING2012/file-KO-Word_43.pdf . (Oktober 2013)
- Boghog. 2009. *Steroid numbering.png*. <http://id.wikipedia.org>. (november 2013)
- Elakkiya. S., Ananthi. T. 2011. *Studies on anti-inflammatory activity of Thespesia populnea Linn on the drug induced male albino rats*. Department of Biochemistry, S.T.E.T Women's College, Mannargudi, India. www.jocpr.com. *J. Chem. Pharm. Res.*, 2011, 3(5):473-477.
- Elisa. 2010. *Konservasi keanekaragaman hayati*. www.ugm.ac.id.(Januari 2014)
- Ferdinan., Faul., Jaenne. 2011. *Buletin jendela dan data dan informasi kesehatan di indonesia epidemiologi malaria di indonesia*. <http://www.depkes.go.id>. Volume 26, Issue 17, 2012 .
- Firdaus. 2010. *Teknik dalam laboratorium organik*. <http://www.unhas.ac.id>. (Oktober. 2013)

- Gandasoebrata. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat: Jakarta.
- Hafid., fuad.A., Maharani.W., Aty.W. 2011. *Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Batang Cempedak (Artocarpus Champeden Spreng) dan Artesunat pada Mencit Terinfeksi Parasit Malaria*. Jurnal Indonesia Media Assoc. Volume 61. Nomor 4 April.2011. Departemen Farmakognosi dan Fitokimia. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Handayani. 2003. *Senyawa metabolit sekunder*. <http://repository.ipb.ac.id> (Oktober 2013)
- Harborne. JB. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne. JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.
- Hutomo., Rahadi., Sutarno., Winarno., dan Kusmardi. 2005. *Uji antimalaria ekstrak buah morinda citrifolia dan aktivitas makrofag pada mencit (mus musculus) setelah diinfeksi plasmodium berghei*. Surakarta: jurusan biologi FMIPA UNS surakarta. <http://biosains.mipa.uns.ac.id/F/F0302/F030206.pdf> (Oktober2013)
- Hendayana,S. 1994. *Kimia analitik instrumen edisi kesatu*. Semarang: Ikip Semarang press
- Hendra,S. 2010. *Potensi bunga karamunting (melastoma malabathricum l.) Terhadap diare pada mencit jantan (mus musculus) yang diinduksi minyak jarak (oleum ricini)*. <http://dc396.4shared.com/doc/jmCM-fgB/preview.html>. (Oktober 2013)
- Hisar. 2007. *Memory-Enhancing Activity of Thespesia populnea in Rats*. *Pharmaceutical Biology*. Mani Vasudevan and Milind Parle Pharmacology Division, Department of Pharmaceutical Sciences, Guru Jambheshwar University of Science and Technology. Vol. 45, No. 4, pp. 267–273.
- Jambou.R., Fatima.El., Valery.Cs, and Georges EG. 2011. *In vitro culture of Plasmodium berghei-ANKA maintains infectivity of mouse erythrocytes inducing cerebral malaria*.<http://www.ncbi.nlm.nih.>(Januari,2014).
- Khopkar SM. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press

- Kholkute. 2008. *Coordinating unit of survey of Medicinal plants of western ghats of India*. <http://www.icmr.nic.in> .(Oktober 2013)
- Lenny, S. 2006. *Senyawa terpenoida dan steroid*. Medan: FMIPA universitas sumatera Utara. Karya ilmiah
- Lmrg. 2010. *Life cycle of P. Berghei*. <https://www.lumc.nl/con/1040/81028091348221/810281121192556/811070740182556/811070747452556/>
- Lokaria, E. 2012. *Isolasi, uji aktivitas ekstrak j. Multifida l. Terhadap leukosit Musmuculus didinduksi imunos dan aplikasinya pada pembelajaran kmiia dengan menggunakan modul*. Bengkulu: program pasca sarjana S2 PMIPA .(Tesis)
- Majalah Farmasi Indonesia. 2006. *Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi-fraksinya*. 136-142.
- Markham,K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoida*.Terjemahan Kosasih Padmawinata.Sumatera Utara Bandung: ITB. (Oktober 2013)
- Meloan CE. 1999. *Chemical Separation*. New York: J Willey.
- Miller HE., F Rigelhof.,L Marquart., A Prakash, M Kanter. 2000. *Antioxidant content of whole grain breakfast cereal, fruits and vegetables*. Journal of The American Collage of Nutrition Vol 19(3): 3125-3195. (Oktober 2013).
- Nugroho., Astuti. 2011. *Aktivitas anti malaria invivo kombinasi buah sirih daun miyana madu dan kuning telur pada mencit yang terinfeksi plasmodium berghei*. Jakarta: pusat medis dan teknologi asar kesehatan jakarta. 3 (39) 129-137.
- Orwa. 2012. *Thespesia*. <http://www.worldagroforestry.org>. (Oktober 2013).
- Patil., Argade., Ghule., Venkatnarayanan., dan Shinde. 2011. *Protective effects of thesipesia populnea (l.) Sol ex. Correa in inflammatory, nociceptive and arthritic conditions on experimental animals*. British journal of pharmaceutical research 2(4): 215-227
- Partika,SR. 2012. *Uji aktivitas ekstrak batang j. Multifida. L terhadap jumlah Eritrosit m. Musmusculus yang diinfeksi p. Berghei dan Aplikasinya dalam pembelajaran kimia dengan menggunakan Media audio visual*. Bengkulu : program pasca sarjana S2 PMIPA .(Tesis)

- Poerkoesoesoemo. 2003. *Malaria*. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/30919/5/Chapter%20I.pdf>.(Oktober 2013)
- Prabowo. 2004. *Epidemiologi Malaria*. <http://repository.usu.ac.id>. (Oktober 2013)
- Raaman, N. 2006. *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency: Pitam Pura.
- Rahardjo, TN. 2011. *Pengamatan Hematologi Pada mencit Pasca Infeksi Plasmodium Berghei Iradiasi Gamma Stadium Eritrositik*. <http://nhc.batan.go.id>.
- Raja Yahya dan Hasidah MS. 2009. *Infeksi Plasmodium berghei dan Kesannya ke atas Pengisyratan MAP Kinase Eritrosit Perumah*. Jurnal Sains Malaysia. Vol 38, No.5 Tahun 2009. Malaysia
- Rusila NY., M. Khazali, dan I N.N. Suryadiputra. 1999. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. PHKA/WI-IP: Bogor.
- Roger Guillemin. 2006. *Flavonoid fisetin promotes ERK-dependent long-term potentiation and enhances memory*. <http://www.pnas.org/content/103/44/16568.figures-only>
- Rome FAO., McMurry, J., and R.C. Fay. 2004. *McMurry Fay Chemistry*. 4th edition. Belmont, CA.: Pearson Education International.
- Samsudin. 2008. *Azadirachtin Metabolit Sekunder dari Tanaman Mimba sebagai Bahan Insektisida Botani*. Lembaga Pertanian Sehat.
- Saravanakumar, Venkateshwaran, Vanitha, Ganesh, Vasudevan and Sivakumar. 2009. *Evaluation of antibacterial activity, phenol and flavonoid Contents of thespesia populnea flower extracts* . Pak. J. Pharm. Sci., Vol.22, No.3, July 2009, pp.282-286.
- Sastroamidjodjo, H. 2001. *Spektroskopi*. Liberty: Yogyakarta
- Sastroamidjodjo, H. 1996. *Sintesis senyawa bahan alam*. Liberty: Yogyakarta
- Sastroamidjodjo, H., 1985. *Kromatografi*. Liberty: Yogyakarta.
- Sompie, Ibnu. 2010. *Mus musculus* .<http://www.thecrowdvoice.com/post/mengapa-Percobaan-medis-sering-memakai-tikus-18806257.html>. (Oktober 2013)
- Suirta, I W., Puspawati, N. M., dan Gumiati, N. K. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Mimba (Azadirachta indica A. Juss) terhadap Larva Nyamuk Demam Berdarah (Aedes aegypti)*. Jurnal Kimia. 1 (1): 47-54.
- Susanna., Dewi., Zakianis., Ema.H, Haryo K.A. 2007. *Pemanfaatan spirulina platensis sebagai suplemen Protein sel tunggal (pst) mencit (mus musculus)*. Universitas indonesia: UI

- Toromiro . 2013. *Thespesia populnea*. <http://en.wikipedia.org>.(Oktober 2013).
- Ukhty N. 2011. *Kandungan Senyawa Fitokimia, Total Fenol, dan Aktivitas Antioksidan Lamun Syringodium isoetifolium* [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor. (Oktober 2013).
- Wardiyono. 2013. *Thespesia polpulnea*. <http://www.proseanet.org/>.
- Widyawaruyanti, A. (2007). *Potensi dan Mekanisme Antimalaria Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dari Kulit Batang Artocarpus Champeden Spreng, Disertasi*. Program Pascasarjana Universitas Airlangga: Surabaya. (Oktober 2013)
- Wili,P. 2010. *Terpenoid I (Pendahuluan dan Sintesis)* . www.ipb.ac.id. (Oktober 2013)
- Wink. 1999. *metabolit sekunder manfaat dan perkembangannya dalam dunia farmasi*.<http://lib.ugm.ac.id/>.(Oktober.2013)
- Yuliasti,T. 2013. *Pengaruh Ekstrak Daun Jatropha Multifida L Terhadap Jumlah Eritrosit Mus Musculus Jantan Dan Isolasi Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat*. Bengkulu: FKIP universitas bengkulu. Skripsi

RIWAYAT HIDUP

1. Identitas Diri

No	Nama	Ois Nurcahyanti
1.	Jenis kelamin	Perempuan
2.	NPM	A1F010035
3.	Tempat, Tanggal Lahir	Pelangkian, 21-08-1991
4.	Alamat di Bengkulu	Jl. Soekarno Hatta No 03 Anggut atas Bengkulu
5.	Nomor HP	085381706668
6.	Email	oizakena@gmail.com



2. Riwayat Pendidikan

No.	Jenjang Pendidikan	Spesialisasi	Tahun Lulus	Tempat
1.	SD	-	2003	SDN 4 Kepahiang
2.	SMP	-	2006	SMPN 1 Kepahiang
3.	SMA	IPA	2009	SMAN 1 Kepahiang
4.	Perguruan Tinggi	Pendidikan Kimia	2014	Universitas Bengkulu

3. Pengalaman Berorganisasi

No.	Tahun	Nama Organisasi	Kedudukan dalam Organisasi
1.	2007-2008	RISMA	Anggota risma
2.	2010-2011	HIMAMIA	Anggota bidang Pendidikan dan Penalaran
3.	2011-2012	HIMAMIA	Anggota bidang Pendidikan dan Penalaran
4.	2006-2010	BMB	Anggota Tari

4. Prestasi yang Pernah Diraih

No.	Prestasi	Tingkat	Tahun
-----	----------	---------	-------

1.	Juara harapan 1 lomba MTQ	kabupaten	2005
2.	Duta Tari Pagelaran Seni	Kabupaten	2007
3.	Juara Harapan 1 Festival Tari Tabot Kreasi	Propinsi	2008
4.	Juara 2 Lomba Doll	Propinsi	2013
5.	Asisten Dosen Praktikum Kimia	Program Studi	2010-2014
6.	Anggota JPD propinsi	Kabupaten	2013

Semua data yang penulis isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggung jawabkan secara hukum. Dan apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, penulis sanggup menerima resiko. Demikian biodata ini penulis buat dengan sebenarnya untuk melengkapi naskah skripsi.

Bengkulu, Maret 2014

OIS NURCAHYANTI

NPM. A1F010035

