

# SKRIPSI

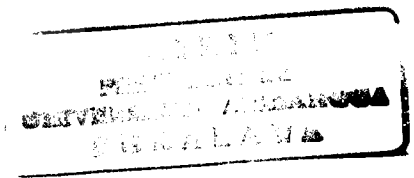
**DYAH SULISTYORINI WAHYU WARDHANI**

**POTENSI ANTIMALARIA FRAKSI AKTIF DARI  
EKSTRAK DIKLOROMETANA KULIT BATANG  
CEMPEDAK (*ARTOCARPUS CHAMPEDEN* SPRENG.)  
TERHADAP *PLASMODIUM BERGHEI* IN VIVO**



# 127108

War  
2



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA  
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM  
SURABAYA  
2007**

## Lembar Pengesahan

# POTENSI ANTI MALARIA FRAKSI AKTIF DARI EKSTRAK DIKLOROMETANA KULIT BATANG CEMPEDAK (*ARTOCARPUS CHAMPEDEN SPRENG.*) TERHADAP *PLASMODIUM BERGHEI IN VIVO*

## SKRIPSI

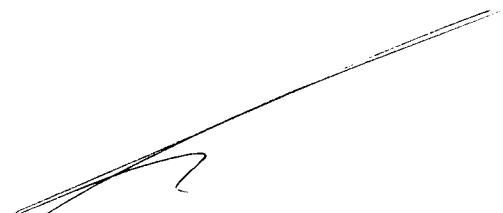
Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada  
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga  
2007

Oleh :

**DYAH SULISTYORINI WAHYU WARDHANI**  
NIM : 050312734

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Noor Cholies Zaini  
NIP. 130355372

Pembimbing Serta



Dr. Aty Widawaruyanti, MSi.  
NIP. 131877884

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, karena hanya dengan rahmat dan karuniaNya, kami dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **POTENSI ANTIMALARIA FRAKSI AKTIF DARI EKSTRAK DIKLOROMETANA KULIT BATANG CEMPEDAK (*Artocarpus Champeden* SPRENG.) TERHADAP *Plasmodium Berghei* IN VIVO** ini.

Tentu terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari dorongan dan bantuan dari semua pihak. Oleh karena itu, kami ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada

- Allah SWT, atas segala ridho, rahmat dan karunia yang telah diberikan selama pengerjaan skripsi ini.
- Prof. Dr. Noor Cholies Zaini selaku dosen pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktu dan tenaganya untuk memberikan petunjuk, bimbingan serta dorongan sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi ini.
- Dr. Aty Widyawaruyanti, MSi, Apt selaku dosen pembimbing serta yang juga telah berkenan memberikan petunjuk, bimbingan serta dorongan sehingga kami dapat menyelesaikan skripsi ini dan dosen wali yang telah memberi bimbingan selama 4 tahun.
- Dr. Achmad Fuad Hafid, MS, Apt dan Dra. Heny Arwati, M.Sc, Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan.
- Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas selama saya mengikuti kuliah dan melakukan penelitian ini.
- Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas selama saya mengikuti kuliah dan melakukan penelitian ini.
- Kepala Bagian Laboratorium Ilmu Bahan Alam dan seluruh staf karyawan yang telah menyediakan fasilitas penelitian dan membantu kelancaran penelitian.
- Seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membimbing dan membagi ilmunya.

- Kedua orang tua : Ir. Wahyu Waskito dan Sri Harjatie, serta seluruh keluarga besar, atas segala doa, bimbingan dan dorongan yang tidak pernah berhenti diberikan.
- Teman-teman seperjuangan di bahan alam, khususnya "Cempedak, Johar, Bidara Laut, Sambiloto" : Dian, Siska, Gugus, Esti, Diah Eta, Rima, Maisya, Aan, Eko, Iin, Yuyun, Dini, Rulli (yang sempat bergabung dengan cempedak), Wiwid, Aries, Folis, Boni, Reza, Astri, Ega, Grace dan lain-lainnya.
- Teman-teman angkatan 2003, khususnya Reguler Genap yang sudah berbagi suka dan duka selama 4 tahun.
- Seluruh karyawan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu kelancaran studi penyusun.
- Serta pihak-pihak bersangkutan yang belum sempat saya sebut namanya

Semoga Allah SWT senantiasa berkenan memberikan balasan atas segala kebaikan dan bantuan yang telah banyak diberikan selama ini. Kami mohon maaf yang sedalam-dalamnya apabila ada kesalahan selama penyusunan skripsi dan apabila ada kekurangan-kekurangan dalam penyusunannya. Semoga skripsi ini nantinya akan berguna bagi kita semua. Amien.

Penyusun

**RINGKASAN**

**POTENSI ANTIMALARIA FRAKSI AKTIF DARI EKSTRAK  
DIKLOROMETANA KULIT BATANG CEMPEDAK (*A. CHAMPEDEN*  
SPRENG) TERHADAP *PLASMODIUM BERGHEI* IN VIVO**

Dyah Sulistyorini Wahyu Wardhani

Malaria merupakan salah satu penyebab utama kematian pada anak-anak dan dewasa di negara-negara tropis. Jumlah kematian akibat malaria terus meningkat tiap tahunnya. Hal ini terjadi seiring dengan meningkatnya resistensi terhadap obat antimalaria yang ada. Salah satu upaya dalam mencari obat alternatif sebagai antimalaria, digunakan obat yang berasal dari tanaman, salah satunya adalah cempedak (*A. champeden* Spreng). Cempedak merupakan tanaman asli Indonesia yang secara empiris telah terbukti dapat mengobati malaria. Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak diklorometana dari cempedak mempunyai aktivitas antimalaria. Untuk mengetahui fraksi aktif dari ekstrak diklorometana kulit batang cempedak, perlu dilakukan fraksinasi lebih lanjut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimalaria fraksi dari ekstrak diklorometana kulit batang cempedak.

Tahapan pertama adalah ekstraksi dengan n-heksana, kemudian residunya dimaserasi dengan diklorometana. Hasil maserasi dipekatkan dengan rotavapor, hingga didapatkan ekstrak diklorometana. Ekstrak ini kemudian difraksinasi dengan menggunakan Kromatografi Kolom Vakum (VLC) dengan 4 macam eluen yang mempunyai kepolaran bertingkat. Dari hasil fraksinasi ini didapatkan fraksi-fraksi yang nantinya akan diuji aktivitas antimalariannya.

Uji aktivitas dilakukan dalam 2 tahap. Pertama dilakukan uji pendahuluan terhadap 7 fraksi yang diperoleh dengan satu dosis yaitu 10 mg/ Kg BB mencit. Fraksi uji dipreparasi dalam bentuk larutan dalam larutan DMSO. Uji aktivitas antimalaria fraksi dari ekstrak DCM kulit batang *cempedak* dilakukan terhadap pertumbuhan *P. berghei* yang dilakukan dengan metode *in vivo* 4 – day suppressive Peter's test. Hasil uji menunjukkan fraksi yang paling aktif, yaitu fraksi II. Fraksi II ini kemudian diuji aktivitasnya dengan metode yang sama dalam 5 dosis, yaitu : 100; 10; 1; 0,1; dan 0,01 mg/ Kg BB mencit untuk menentukan potensi dari fraksi tersebut.

Penghitungan persen parasitemia dilakukan dari tiap kelompok dosis dari D0 – D4. Dari data tersebut dapat diolah menjadi data persen pertumbuhan masing masing dosis. Harga persen pertumbuhan dari tiap kelompok dosis kemudian dibandingkan dengan persen pertumbuhan kontrol negatif. Hasil perbandingan ini dikonversikan menjadi data persen penghambatan masing masing dosis. Data dosis uji dari ekstrak air ini bersama dengan data persen penghambatannya dianalisis dengan metode analisa probit dan diperoleh harga ED<sub>50</sub>. Harga ED<sub>50</sub>

untuk aktivitas antimalaria dari fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *Artocarpus champeden* Spreng sebesar 0,018 mg / kg BB.

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka perlu dilakukan suatu pemisahan lebih lanjut dari fraksi kulit batang *Artocarpus champeden* Spreng untuk mendapatkan senyawa yang aktif sebagai antimalaria.



## ABSTRACT

### **Potency of antimalarial active fraction from Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.) stem bark dichlormethane extract against *Plasmodium berghei* in vivo**

*Artocarpus champeden* Spreng was empirically proven for antimalaria. By using dichlormethane, stem bark from *A. champeden* Spreng was extracted and then fractionated in order to obtain seven fractions. All of the fractions were tested for antimalarial activity against *Plasmodium berghei* in BalB/c mice, based on by Peter's test (the 4 – day suppressive test of blood schizontocidal action) methode, intraperitonially. The result showed that the most active fraction was F.II with ED<sub>50</sub> value 0,018 mg/ Kg in body weight.

Keywords : *Artocarpus champeden* Spreng, stem bark dichlormethane extract, antimalarial activity, ED<sub>50</sub> value



## DAFTAR ISI

BAB	HALAMAN
LEMBAR PENGESAHAN.....	i
KATA PENGANTAR.....	ii
RINGKASAN.....	iv
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan umum.....	3
1.3.2 Tujuan khusus.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman <i>Artocarpus champeden</i> Spreng.....	5
2.1.1 Klasifikasi tanaman.....	5
2.1.2 Nama daerah.....	5
2.1.3 Deskripsi tanaman.....	5
2.1.4 Kandungan kimia.....	6
2.2 Tinjauan Tentang Malaria.....	7
2.3 Tinjauan Tentang <i>Plasmodium berghei</i> .....	8
2.3.1 Klasifikasi <i>P. berghei</i> .....	8
2.3.2 Morfologi <i>P. berghei</i> .....	8
2.3.3 Siklus hidup <i>P. berghei</i> .....	9
2.3.4 Pembiakan <i>in vivo P. berghei</i> .....	12



4.3.5	Pembiakan <i>P. berghei</i> dan penghitungan % parasitemia.....	24
1.	Pembiakan <i>P. berghei</i> pada mencit donor.....	24
2.	Pembuatan preparat hapusan darah tepi.....	24
3.	Penghitungan parasitemia.....	25
4.3.6	Penentuan fraksi aktif terhadap <i>P. Berghei</i> .....	25
1.	Pembagian kelompok mencit dan penginfeksi <i>P. berghei</i> ..	25
2.	Pengujian aktivitas antimalaria fraksi dari Ekstrak DCM terhadap <i>P. berghei</i> .....	26
4.3.7	Penentuan potensi fraksi aktif terhadap <i>P. berghei</i> .....	26
1.	Pembagian kelompok mencit dan penginfeksi <i>P. berghei</i> ..	26
2.	Pengujian aktivitas antimalaria fraksi aktif terhadap <i>P. berghei</i> .....	27
4.3.8	Evaluasi hasil.....	28
4.3.9	Analisis data.....	28
V.	HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	31
VI.	PEMBAHASAN.....	43
VII.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
	DAFTAR PUSTAKA.....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel	5.1	Berat Hasil Ekstraksi Kulit Batang Cempedak.....	31
Tabel	5.2	Berat Fraksi dari Ekstrak DCM Kulit Batang Cempedak.....	32
Tabel	5.3	Hasil penghitungan persen parasitemia selama D0-D6 uji pendahuluan aktivitas antimalaria fraksi-fraksi dari ekstrak DCM kulit batang <i>A.champeden</i> Spreng. terhadap <i>P. berghei</i> dan kontrol negatif .....	33
Tabel	5.4	Hasil penghitungan persen parasitemia rata-rata fraksi-fraksi dari ekstrak DCM kulit batang <i>A. champeden</i> Spreng. dan kontrol negatif.....	35
Tabel	5.5	Hasil penghitungan persen pertumbuhan, persen pertumbuhan rerata dan persen penghambatan uji pendahuluan aktivitas antimalaria fraksi-fraksi dari ekstrak DCM kulit batang <i>A.champeden</i> Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi <i>P. berghei</i> dan kontrol negatif .....	37
Tabel	5.6	Hasil penghitungan persen parasitemia dan persen pertumbuhan selama D0-D6 uji antimalaria fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang <i>A.champeden</i> Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi <i>P. berghei</i> dan kontrol negatif .....	38
Tabel	5.7	Hasil penghitungan persen parasitemia rata-rata fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang <i>A. champeden</i> Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi <i>P. berghei</i> dan kontrol negatif .....	40
Tabel	5.8	Hasil penghitungan persen pertumbuhan dan persen penghambatan fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang <i>A.champeden</i> Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi <i>P. berghei</i> dalam lima dosis dan kontrol negatif...	41

## DAFTAR GAMBAR

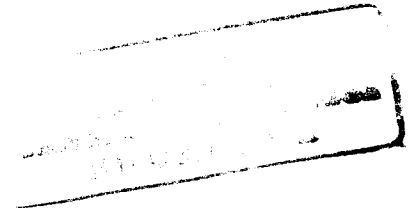
Gambar 2.1	Pohon dan Kulit Batang Cempedak ( <i>A. champeden</i> Spreng.)	7
Gambar 4.1	Skema pembuatan ekstrak diklorometana dari kulit batang cempedak ( <i>A. champeden</i> Spreng.)	22
Gambar 4.2	Skema penyiapan parasit uji fraksi paling poten dari ekstrak diklorometana kulit batang cempedak ( <i>A. champeden</i> ) terhadap pertumbuhan <i>P.berghei in vivo</i> pada mencit	29
Gambar 4.3	Skema rancangan penelitian dan uji aktivitas antimalaria fraksi ekstrak DCM cempedak ( <i>A. champeden</i> Spreng.) terhadap pertumbuhan <i>P.berghei in vivo</i>	30
Gambar 5.1	Hasil Identifikasi flavonoid setelah disemprot dengan $CeSO_4$	32
Gambar 5.2	Grafik hubungan % parasitemia dengan fraksi - fraksi dari ekstrak DCM kulit batang <i>A. champeden</i> Spreng dan kontrol negatif terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi <i>P.berghei</i> selama pengamatan dari D0-D6	35
Gambar 5.3	Grafik hubungan % parasitemia dengan fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang <i>A. champeden</i> Spreng dalam 5 dosis dan kontrol negatif terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi <i>P.berghei</i> selama pengamatan dari D0-D6	40
Gambar 5.4	Kurva Hubungan Probit Persen Penghambatan dengan log Dosis dari Fraksi 2 dari Ekstrak DCM Kulit Batang Cempedak	42

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat determinasi .....	50
Lampiran 2	Morfologi <i>P. berghei</i> .....	51
Lampiran 3	Pembuatan Larutan Uji Fraksi II DCM .....	52
Lampiran 4	Penghitungan Persen Parasitemia.....	53
Lampiran 5	Penghitungan Persen Pertumbuhan.....	54
Lampiran 6	Penghitungan Persen Penghambatan.....	55
Lampiran 7	Hasil Penghitungan Jumlah Eritrosit Terinfeksi dan % Parasitemia Dari Hapusan Darah Tipis Dari Ekor Mencit Pada Uji Aktivitas Antimalaria Selama D0-D6 Dari Fraksi II Ekstrak DCM Cempedak dan Kontrol Negatif Terhadap Mencit BalB/c Terinfeksi <i>P. berghei</i> .....	56
Lampiran 8	Hasil Analisis Probit Fraksi II dari Ekstrak DCM.....	58

## BAB I

## PENDAHULUAN

**1.1 Latar belakang masalah**

Malaria merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh 4 spesies protozoa dari genus *Plasmodium*, yaitu : *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, dan *P. ovale*, dengan vektor nyamuk *Anopheles*. Nyamuk yang terinfeksi membawa sporozoit *Plasmodium* dalam air liurnya. Sekali manusia tergigit dan terhisap darahnya oleh nyamuk ini, maka manusia itu tertular malaria. Hal ini biasanya terjadi dalam periode waktu pagi hingga malam hari. Sporozoit yang telah masuk ke dalam sel darah merah manusia tersebut kemudian melewati serangkaian tahapan dan berkembang menjadi *Plasmodium* yang menginfeksi sel darah merah. Gejala yang umumnya timbul pada manusia antara lain demam, menggigil, muntah, anemia, hemoglobinuria, dan kejang-kejang. Anak-anak dan wanita hamil lebih rentan terhadap penyakit ini. Bisa juga timbul komplikasi seperti splenomegali, sakit kepala kronis, dan hemoglobinuria yang disertai gagal ginjal.

Malaria merupakan salah satu penyebab utama kematian pada anak-anak dan dewasa di negara-negara tropis. Jumlah kematian akibat Malaria mencapai lebih dari satu juta orang per tahun, dan terus meningkat. Hal ini terjadi seiring dengan meningkatnya resistensi terhadap obat-obat antimalaria yang sudah ada. Kontrol terhadap penyakit ini dapat dilakukan dengan pencegahan penyebaran vektor dan pengobatan dengan obat antimalaria yang efektif. Pengobatan terhadap malaria telah mengalami banyak perkembangan, seiring dengan meningkatnya resistensi strain *Plasmodium* penyebab malaria. *Quinine* (kina), salah satu alkaloid yang terdapat dalam pohon *Cinchona*, telah lama digunakan sebagai antimalaria, namun mempunyai efek samping yang tidak diinginkan. Klorokuin sebagai obat antimalaria yang terjangkau dan banyak digunakan, sekarang sudah tidak efektif pada daerah endemik malaria yang disebabkan oleh *P. falciparum* dan juga terhadap *P. vivax*. Penemuan dan pengembangan derivat Artemisinin di Cina telah

memberikan alternatif obat antimalaria yang efektif untuk Asia tenggara dan daerah sekitarnya. Saat ini terapi kombinasi Artemisinin dianggap terapi terbaik untuk malaria yang disebabkan oleh *P. falciparum* (WHO, 2006). Untuk itu, pencarian dan penyelidikan bahan obat dari tumbuhan diharapkan dapat mencapai hasil yang baik dalam pengobatan malaria karena kira-kira 80% penduduk dunia masih menggunakan obat tradisional dalam pengobatan berbagai penyakit seperti malaria atau paling tidak untuk demam.

Indonesia mempunyai kekayaan flora yang berlimpah dan masyarakatnya masih banyak yang menggunakan tumbuhan sebagai obat tradisional. Dari sekian banyak jenis tanaman yang ada, beberapa diantaranya diketahui mempunyai potensi sebagai anti malaria. Salah satu tanaman yang diamati potensinya adalah cempedak (*Artocarpus champedon* Spreng). Cempedak (*A. champedon* Spreng). merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk dalam keluarga Moraceae. *Artocarpus*, yang tumbuh terpusat di Asia tenggara, banyak ditemukan di Indonesia dan digunakan antara lain sebagai bahan pangan, bahan bangunan, dan bahan ramuan obat tradisional, antara lain sebagai antimalaria, disentri, dan penyakit kulit (Hakim, 1998). Karena cempedak telah terbukti secara empiris dapat digunakan sebagai antimalaria, maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitasnya sebagai antimalaria. Dari penelitian yang pernah dilakukan, diketahui dalam cempedak terdapat beberapa senyawa flavon terisoprenilasi, yaitu 3-( $\gamma, \gamma$ -dimetilalil)-6-(3-metil-1-butenil)-7-metoksi-5,2',4'-trihidroksiflavan atau artokarpin, bersama-sama dengan suatu senyawa flavanon langka, yakni 5-hidroksi-7,2',4',6'-tetrametoksiflavanon atau heteroflavanon-A, pada kayu dan kulit batang tumbuhan *A. champedon* Spreng (Moraceae). (Hakim, 1998).

Penelitian terhadap ekstrak dari cempedak *in vivo* oleh Widyawaruyanti (Unpublish, 2004) menunjukkan ekstrak metanol mempunyai aktivitas pada mencit terinfeksi *P. berghei* dengan nilai  $ED_{50} = 0.48$  mg/ Kg BB. Selain ekstrak metanol, ekstrak DCM juga terbukti mempunyai potensi sebagai antimalaria. Ekstrak DCM yang diuji oleh Imami (2005) secara intraperitoneal mempunyai  $ED_{50}$  sebesar 0,038 mg/ Kg BB. Uji aktivitas antimalaria *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain 3D7 pada ekstrak metanol dan dan ekstrak DCM menunjukkan

### 1.3.2 Tujuan khusus

Menentukan potensi dengan harga  $ED_{50}$  dari fraksi yang paling aktif dari ekstrak DCM kulit batang cempedak terhadap *P. berghei* secara *in vivo*.

### 1.4 Hipotesa

Fraksi dari ekstrak DCM dari kulit batang cempedak mempunyai potensi antimalaria pada mencit terinfeksi *P. berghei*.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Menemukan dan mengembangkan potensi tanaman asli Indonesia, khususnya cempedak sebagai antimalaria untuk menambah alternatif pengobatan penyakit malaria.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan tentang *Artocarpus champeden* Spreng.

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Menurut Van Steenis (1978) dan Backer & Van den Brink (1965)

klasifikasi tanaman cempedak adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub Kelas	: Monochlamydae
Bangsa	: Urticales
Suku	: Moraceae
Marga	: <i>Artocarpus</i>
Jenis	: <i>Artocarpus champeden</i> Spreng
Sinonim	: <i>Artocarpus polyphema</i> Pers. (Heyne, 1987)

##### 2.1.2 Nama Daerah

Pada beberapa daerah, *A. champeden* Spreng. dikenal dengan berbagai nama diantaranya : nangka beurit ( Sumatra ) , nangka Cina ( Jawa , Indonesia ) , cempedak ( Indonesia , Jawa , Sunda , Madura ) (Van Steenis,1978 ; Backer & Van den Brink, 1965).

##### 2.1.3 Deskripsi Tanaman

Habitus : Pohon berumah satu, tinggi 10 – 20 meter, berbuah pada bulan Juli hingga September, ditanam atau tumbuh secara liar pada ketinggian 20 -650 m.

Batang : Membulat dengan banyak getah yang rekat.

Daun : Daun penumpu bulat telur memanjang. Daun kebanyakan tidak melekuk, hanya pada pohon muda dan tunas air dengan 3 – 5 taju; tangkai 1 – 3 cm; helaian daun eliptis sampai memanjang atau bulat telur terbalik, 10 – 25 kali 5 -10 cm, dengan pangkal pendek



- yang menyempit, tepi rata, serupa kulit, dari atas mengkilat, hijau tua.
- Bunga : Karangan bunga jantan atau betina. Bulir betina berbentuk gada memanjang; bunga tenggelam dalam poros, bagian yang bebas panjangnya  $\pm 3$  mm, pada ujung berpori muncul kepala putik yang tunggal berbentuk solet, yang seperti cacing. Bulir jantan silindris, hijau pucat atau kekuningan; bunga sangat kecil, dengan tenda bunga pendek bertaju dua, yang pipih dan satu benang sari.
- Buah : Buah semu, sering pada cabang, silindris memanjang, bau menusuk, bertonjolan ringan; tonjolan piramidal segi 4-7; daging sekeliling biji, seperti terdapat semacam lapisan berlendir.
- Biji : Biji panjangnya 2 – 3 cm, dilingkupi oleh semacam lapisan daging biji berwarna kuning tua, lembut, tipis mengandung banyak air dan terasa manis. (Van Steenis, 1978 ; Morton, 1987)

#### 2.1.4 Kandungan Kimia

Dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Euis Hakim (1998) dilaporkan adanya senyawa flavonoid yaitu siklocampedol yang terdapat pada kulit batang *A. champeden* Spreng. bersama sama dengan empat senyawa triterpen antara lain sikloeukalenol, glutinol, sikloartenon, dan 2,4-metilen sikloartenon serta bentuk sterol yaitu  $\beta$ -sitosterol. Kemudian dilaporkan juga adanya senyawa flavon terisoprenilasi, yaitu 3-( $\gamma$ ,  $\gamma$ -dimetilalil)-6-(3-metil-1-butenil)-7-metoksi-5,2',4'-trihidroksiflavanon atau artokarpin, bersama-sama dengan suatu senyawa flavanon langka, yakni 5-hidroksi-7,2',4',6'-tetrametoksiflavanon atau heteroflavanon-A, telah ditemukan masing-masing pada kayu dan kulit batang tumbuhan *A. champeden* Spreng. (Moraceae).



**Gambar 2.1 Pohon dan Kulit Batang Cempedak**

## 2.2 Tinjauan Tentang Malaria

Menurut Finegold (1999), Malaria merupakan penyakit infeksi protozoa pada manusia yang telah dikenal sejak lama. Walaupun telah dilakukan program pengontrolan terhadap penyebaran malaria, namun jumlah penderita penyakit ini semakin meningkat per tahunnya.

Terdapat 4 spesies *Plasmodium* yang menginfeksi dan menyebabkan malaria pada manusia, dengan penyebaran yang berbeda yaitu :

1. *P. falciparum* yang merupakan penyebab malaria jenis tertiana maligna. Parasit malaria ini terdapat di daerah dengan iklim panas dan lembab.
2. *P. vivax* yang merupakan penyebab malaria jenis tertiana benigna. Parasit malaria ini menjangkiti daerah tropis, sub tropis dan daerah yang memiliki 4 musim.
3. *P. malariae* yang merupakan penyebab malaria jenis kuartana. Parasit malaria ini menjangkiti daerah tropis saja
4. *P. ovale* yang merupakan penyebab malaria jenis tertiana ovale. Parasit malaria ini jarang ditemukan.

Parasit menginfeksi manusia dengan vektor nyamuk *Anopheles*. Manusia terinfeksi ketika sporozoit masuk ke dalam darah melalui sekresi saliva dari gigitan nyamuk yang terinfeksi. Sporozoit kemudian masuk dalam sel parenkim hati dan berkembang biak secara aseksual. Fase pada liver sampai ke sel darah merah disebut siklus preeritrosit. Fase selanjutnya yaitu fase eritrositik, yang

berlangsung pada sel darah merah. Bentuk awal pada sel darah merah disebut bentuk cincin (*ring form*). Kemudian, bentuk ini berkembang menjadi schizonts dewasa yang terdiri dari merozoit-merozoit. Sel darah merah kemudian pecah, melepaskan merozoit dan metabolit ke aliran darah. Setelah eritrositik, dimulai produksi gametosit. Merozoit berkembang menjadi gametosit jantan dan betina. Siklus seksual terjadi di dalam tubuh nyamuk sebagai vektor, hingga menghasilkan sporozoit yang menginfeksi manusia.

## 2.3 Tinjauan Tentang *P. berghei*

### 2.3.1 Klasifikasi *P. berghei*

Filum	: Protozoa
Sub Filum	: Sporozoa
Kelas	: Telosporea
Sub Kelas	: Coccidea
Suku	: Plasmodiidae
Marga	: <i>Plasmodium</i>
Jenis	: <i>Plasmodium berghei</i>

### 2.3.2 Morfologi *P. berghei*

Menurut LUMC (2002), *P. berghei* sebagai parasit penyebab malaria pada rodensia mempunyai beberapa bentuk parasit dalam darah, yaitu bentuk ring / cincin, trophozoit, skizon, dan gametosit.

#### a. Bentuk ring / cincin

Tampak seperti cincin dengan sitoplasma warna biru dengan nukleus / inti sel kromatin merah seperti titik, terdeteksi dengan pengecatan Giemsa dari hapusan darah tepi.

#### b. Bentuk trofozoit

Bentuk berupa amoeboid, inti sel warna merah, sitoplasma warna biru, dan dengan pembelahan nukleus, terjadi stadium skizon.

#### c. Bentuk skizon

Ukuran kira kira 27  $\mu\text{m}$  pada hari ke empat setelah infeksi dan pada eritrosit tampak titik titik kasar warna merah gelap yang tampak jelas (*maurer dot*), diakibatkan sitoplasma rusak karena populasi parasit mencapai  $\frac{2}{3}$  eritrosit.

d. Bentuk gametosit

Ada 2 macam bentuk : makro gametosit dan mikro gametosit. Makro gametosit berbentuk oval dengan noda biru yang mengandung kumpulan inti sel dan granula. Mikro gametosit bentuknya seperti renal atau kacang dengan noda biru lemah atau kemerahan mengandung nukleus yang mengkilat serta granula kecil dan tersebar.

Pada pemeriksaan hapusan / tetesan tebal darah tepi dijumpai parasit muda berbentuk cincin. Pada preparat tetesan darah tebal, stadium trophozoit juga berbentuk cincin, gametosit berbentuk oval, dengan bentuk cincin dan balon merah di luar gametosit dalam jumlah banyak. Pada preparat hapusan darah tepi, trophozoit muda berbentuk tanda seru atau koma dan cincin terbuka, gametosit berbentuk oval dan terdapat bintik Maurer pada eritrosit. Dengan pengecatan Giemsa, nukleus warna merah, plasma warna biru, eritrosit warna pink dan pigmen warna kuning tengguli ad hitam tengguli.

### 2.3.3 Siklus hidup *P. berghei*

Menurut LUMC (2002), siklus hidup malaria melalui 2 fase / tahapan yaitu fase aseksual (skizogoni) dan siklus seksual (sporogoni). Tempat berlangsungnya fase aseksual adalah melalui manusia yang sekaligus merupakan *hospes* (inang) sementara. Tempat berlangsungnya fase seksual atau tahap reproduksi yang diikuti oleh sporogoni adalah melalui nyamuk *Anopheles dirensi* betina yang memegang peranan ganda yaitu vektor dan hospes definitif.

#### 1. Siklus Aseksual

Proses infeksi malaria diawali dengan infiltrasi sporozoit melalui gigitan nyamuk anopheles betina yang telah terinfeksi parasit.

##### A. Fase pra eritrosit (eksoeritrosit)

Setelah masuk ke aliran darah, sporozoit *P. berghei* akan terikat menuju hepar dan menyerang sel sel hepatosit (sama seperti Plasmodium lainnya yang menyerang manusia). Invasi ini diperantarai oleh invaginasi membran plasma

hepatosit membentuk rongga / vakuola yang ditempati sporozoit (berlangsung mulai hitungan menit hingga hitungan jam setelah inokulasi). Sporozoit mengalami mobilisasi dari sel yang satu ke sel lainnya sebelum menyerang hepatosit dengan mekanisme membentuk vakuola tersebut. Di dalam hepatosit, terjadi proses pertumbuhan sporozoit menjadi trophozoit sekaligus maturasi skizon selama 47 – 52 jam, dalam 1 skizon terdapat 1500 – 8000 merozoit berinti satu. Dalam waktu 24 jam pasca infiltrasi sporozoit pada hepatosit dan 26 jam setelah itu terjadi tidak kurang dari 13 kali pembelahan inti untuk bisa menjadi merozoit. Terjadi pemecahan sel hati, merozoit – merozoit tersebut terlepas ke peredaran darah dan menyerang eritrosit.

B. Fase eritrosit, terdiri atas :

- Fase aseksual

Merupakan tahap perkembangan lebih lanjut dari fase seksual, ditandai oleh invasi merozoit pada eritrosit, *P. berghei* dapat menyerang pada retikulosit atau pada eritrosit dewasa. Di dalam eritrosit, terjadi peningkatan ukuran sel dan sitoplasma dari merozoit dan inilah yang dinamakan tahap trophozoit. Hemoglobin merupakan substansi vital bagi metabolisme trophozoit dan dihasilkan hemozoin sebagai hasil metabolisme. Karakter khas dari tahap ini adalah terdapat pigmen kecoklatan yang tersebar di sitoplasma.

Waktu yang diperlukan untuk pertumbuhan merozoit menjadi trophozoit dewasa adalah sekitar 16 jam. Setelah fase trophozoit usai, terjadi replikasi DNA parasit yang diikuti dengan pembelahan inti menghasilkan parasit berinti ganda (skizon), pada proses skizogoni selama 6 – 8 jam parasit membelah berkali kali membentuk sel yang berinti 8 – 24. Setelah tahap skizogoni selesai dilanjutkan pada pembentukan merozoit yang memerlukan waktu 22 – 24 jam. Skizon dalam retikulosit mengandung lebih banyak merozoit daripada yang ada dalam eritrosit dewasa. Skizon yang sudah matang maupun yang muda tidak akan ada lagi di peredaran darah tepi namun terdapat akumulasi pada pembuluh kapiler organ visceral seperti paru paru, limpa, hepar dan otak (tingkatan akumulasi dan letak akumulasi pada organ berbeda tergantung strain *P. berghei* nya). Setelah

pemecahan skizon, merozoit menyerang eritrosit baru dan terjadi peningkatan parasitemia.

- **Perkembangan seksual**

Pada perkembangan aseksual, tidak semua sel mengalami pembelahan namun sejumlah kecil parasit tersebut berdiferensiasi menjadi bentuk seksual (gametosit). Ada 2 jenis gametosit yaitu makrogametosit (betina) dan mikrogametosit (jantan). Sekitar 5 – 25% parasit *P. berghei* (bentuk merozoit dari skizon hati setelah terjadi invasi pada eritrosit) mengalami diferensiasi seksual secara langsung selama 26 – 30 jam.

Diperlukan waktu sekitar 18 – 22 jam untuk mengetahui bahwa sudah terjadi bentuk gametosit yang dapat diamati ciri cirinya seperti inti sel tunggal yang besar, distribusi granul pigmen pada sitoplasma, dan ukuran sel. Setelah 24 jam dapat diketahui adanya mikro gametosit yang ditandai dengan inti lebih besar, granul dan badan osmiofilik lebih sedikit daripada makro gametosit.

## 2. Siklus Seksual

- **Fertilisasi dan perkembangan zigot pada nyamuk**

Hanya gametosit dewasa yang dapat berkembang dalam abdomen nyamuk setelah terjadi penghisapan darah oleh nyamuk terhadap hospes terinfeksi. Perkembangan selanjutnya, gametosit tadi berubah menjadi gamet dimana makrogametosit berubah menjadi 1 makrogamet dan mikrogametosit berubah menjadi 8 mikrogamet dengan morfologi seperti sperma.

Setelah terbentuk gamet, sekitar 10 menit – 1 jam setelahnya terjadi penetrasi mikrogamet ke dalam makrogamet yang menghasilkan zigot diploid /  $2n$  (disebut dengan proses fertilisasi), yang dilanjutkan dengan pembelahan meiosis. Setelah meiosis, terjadi pembelahan zigot berinti (ookinet) dengan DNA haploid /  $n$  2 – 4 kali lebih banyak baru kemudian diikuti dengan pembelahan inti.

- **Ookista dan perkembangan sporozoit**

Ookinet dewasa yang bergerak aktif dapat menembus epitel lambung dan tinggal diantara membran sel paling inferior dan basal lamina dinding lambung. Pada tahap ini, ookinet berubah menjadi ookista dan terjadi replikasi mitosis sampai terdapat 1000 an sporozoit. Terjadi perbesaran diameter dari ookista dalam

waktu 10 – 12 hari. Jumlah ookista dan sporozoit berbeda untuk tiap spesies nyamuk Anopheles. Terjadi pemecahan ookista yang diikuti pelepasan sporozoit yang kemudian masuk ke dalam kelenjar saliva nyamuk. Terjadi migrasi sporozoit untuk keluar dari kelenjar saliva nyamuk, lalu sporozoit masuk ke ruang sekretori ekstrasel dan tinggal di sana hingga waktu infeksi ke dalam tubuh hospes tiba.

### 2.3.4 Pembiakan *in vivo* *P. berghei*

Rodensia yang sering digunakan dalam penelitian seperti mencit, tikus dan hamster umumnya sensitif terhadap infeksi *P. berghei* baik lewat gigitan nyamuk maupun injeksi peritoneal dari darah yang telah terinfeksi parasit. Untuk penelitian di laboratorium, hewan coba dapat diinfeksi dengan injeksi eritrosit yang telah terinfeksi pada tahap aseksual (bentukan cincin / trophozoit dan schizon) secara intravena maupun intraperitoneal. Berdasarkan penelitian, injeksi intraperitoneal dengan parasitemia 10% akan mampu memasuki aliran darah. Dengan injeksi secara intravena pada mencit, parasitemia mencapai level 0,5-1% pada hari ke-8 setelah penginfeksian. Hal ini mengindikasikan *P. berghei* memiliki laju multiplikasi 10x dalam 24 jam. (LUMC,2002)

## 2.4 Klasifikasi Obat Antimalaria

Menurut Siswandono dan Soekardjo (2000), berdasarkan perkembangan dan siklus kehidupan parasit di mana obat bekerja atau cara kerja, dapat dikelompokkan menjadi 4 golongan yaitu :

1. Schizontisida jaringan (schizontisida eritrositik) yang merupakan pencegahan kausal.

Mekanisme kerja : dengan destruksi jaringan primer plasmodia dan merozoit di hepar, yang dimulai dari tahap infeksi eritrositik, lalu mencegah invasi eritrositik dan lain lain penyebaran infeksi ke nyamuk Anopheles.

Contoh : klorguanid, pirimetamin dan primakuin.

2. Schizontisida jaringan, yang digunakan pada upaya preventif kekambuhan. Mekanisme kerja : berlangsung pada bentuk skizon di jaringan laten, jaringan sekunder, atau hipnozoit dari *P. vivax* dan *P. ovale* di hepatosit.

Contoh : primakuin dan pirimetamin.

3. Schizontisida darah (skizontosida eritrositik), yang digunakan untuk pengobatan klinik dan supresif.

Mekanisme kerja : berlangsung pada merozoit pada fase eritrositik aseksual dari parasit malaria dan mengganggu skizogoni eritrositik.

Contoh : amodikuin, artemisin, klorkuin, kinin, tetrasiklin (bekerja cepat)

: pirimetamin, klorguanid, sulfonamida (bekerja lambat)

4. Gametosida

Mekanisme kerja : dengan destruksi bentuk eritrosit seksual (gametosit) dari parasit malaria sehingga mencegah penyebaran plasmodia ke dalam tubuh nyamuk Anopheles.

Contoh : klorokuin, primakuin, dan kinin

5. Sporozoitosisida

Mekanisme kerja : dengan membunuh sporozoit setelah masuk dalam darah setelah gigitan nyamuk. Duration of action sangat singkat karena sporozoit segera ke sel hepar sehingga banyak obat anti malaria kurang aktif terhadap bentuk sporozoit tersebut.

Contoh : pirimetamin, klorguanid, dan primakuin.

6. Sporontosida

Mekanisme kerja : mencegah pembentukan oosit dan sporozoit

Contoh : pirimetamin, klorguanid, dan primakuin.

## 2.5 Tinjauan Tentang Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Tanaman dengan metode *In Vivo*

Menurut Phillipson (1991), pada umumnya dilakukan 2 tes untuk pengujian aktivitas antimalaria dengan *P. berghei* secara *in vivo*, yang biasanya digunakan untuk dasar skrining ekstrak tanaman, yaitu dengan metode Peter dan metode Rane.



### 2.5.1 Tes Peter ( the 4 – day suppressive test of blood schizontocidal action)

Mencit jantan ( misal Swiss albino ) dengan berat lebih kurang 20 gram ditempatkan dalam ruang yang bersuhu sekitar  $22 \pm 2^{\circ} \text{C}$  sebanyak 5 kelompok dan diberi nutrisi dengan menu standar. Darah dari mencit standar dengan parasitemia yang sudah tinggi ( sekitar 20 % eritrosit yang terinfeksi ) dilarutkan dalam medium kultur sampai tiap 0,2 ml mengandung  $10^7$  eritrosit yang terinfeksi. Tiap mencit diberi 0,2 ml secara intravena pada hari ke 0. Ekstrak tanaman bias dilarutkan atau dibuat suspensi dengan triturasasi sonifikasi setelah penambahan 0,2 % larutan Tween atau 0,5 % larutan CMC atau 0,5 % larutan DMSO. Larutan ekstrak dalam air diberikan setiap hari dengan rentang dosis 1 – 100 mg/kg BB mencit , dimulai sejak hari dimulainya penginfeksian selama 4 hari berturut turut lewat secara per oral atau subkutan. Pada hari ke 5 , diambil sampel darah dari ekor dan dilakukan pewarnaan dengan pewarna Giemsa. Lalu diukur persentase jumlah eritrosit yang terinfeksi / ada parasit malarianya dibandingkan total eritrosit yang diamati. Harga  $ED_{50}$  ( dalam kasus ini menunjukkan adanya penekanan / penghambatan parasit sebanyak 50 % populasi). Biasa dihitung dengan log dosis vs aktivitas probit.

### 2.5.2 Tes Rane

Dasar dari tes ini adalah perbandingan efek dari perlakuan standar pemberian *P. berghei* yang membunuh mencit dalam 5 hari dengan perpanjangan waktu bertahan 12 hari , dengan perlakuan pemberian sebuah dosis tunggal ekstrak yang diujicoba. Kelompok standar diberikan  $10^6$  sel donor yang terinfeksi secara intraperitonial pada hari ke 1 dan larutan ekstrak tanaman atau suspensi dalam oleum Arachidis yang telah disonifikasi melalui rute subkutan dengan interval dosis 640 , 320 , 160 dan 80 mg / kg BB mencit pada hari ke 4.

Penilaian aktivitas berdasarkan jumlah yang masih hidup , lebih dari 2 x lipat dibandingkan kelompok kontrol. Minimum Effective Dose ( MED ) yang didapat dibandingkan Maximum Tolerated Dose ( MTD ) yang mengakibatkan tak lebih dari 1/5 jumlah mencit mati karena efek toksik. Dosis yang lebih rendah diperlukan untuk memperoleh harga MED. Tes dapat digunakan untuk

mengetahui profil obat karena menyertakan ukuran perbandingan antara efikasi dengan toksisitasnya.

Kedua tes tersebut tidak berlaku untuk pengujian untuk senyawa dengan masa kerja yang lama dan bila diperlukan maka dapat dilakukan uji dengan *P. yoelli* atau *P. vinckei* pada mencit. Tes malaria pada rodensia juga diperlukan untuk pengujian senyawa dengan aktivitas anti malaria yang bersifat skizontosida dan gametosida jaringan.

## 2.6 Tinjauan tentang Ekstraksi

Ekstraksi suatu bahan tanaman tergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tersebut dan juga senyawa yang akan diisolasi. Umumnya menggunakan pelarut dari yang kurang polar sedikit demi sedikit meningkat sampai yang paling polar. Pelarut yang bersifat non polar seperti petroleum eter dan heksana. Pelarut yang kurang polar seperti eter, kloroform dan diklorometana. Pelarut yang bersifat polar seperti etanol, air atau campuran keduanya. Zat – zat kimia yang terekstraksi dengan pelarut non polar adalah minyak atsiri, lemak, steroid dan karotenoid, sedangkan yang terekstraksi dengan pelarut semi polar adalah senyawa – senyawa alkaloid bebas, senyawa –senyawa alkaloid bebas yang meliputi asam fenolat, fenilpropanoid, flavonoid, antraknon, xanton dan stilben. Senyawa – senyawa yang terekstraksi dengan pelarut polar adalah garam- garam alkaloid, glikosida, saponin dan tanin. (Depkes RI, 1987). Ekstraksi yang berdasarkan pada perbedaan kepolaran senyawa kandungan ini berguna untuk telaah profil fitokimia dari suatu tumbuhan sebelum dilakukan kromatografi atau pemisahan selanjutnya. (Harborne, 1987).

## 2.7 Tinjauan tentang Fraksinasi dan Kromatografi Kolom Vakum

Fraksinasi adalah proses pemisahan dari suatu campuran menjadi beberapa fraksi. Tipe atau metode fraksinasi tergantung dari ampel dan tujuan pemisahan. Pada umumnya, kolom dieluasi dengan eluen tertentu sehingga menghasilkan beberapa fraksi dan diikuti dengan analisis fraksi untuk menentukan fraksi yang mengandung senyawa (*compound*) yang diinginkan. Mengelompokkan hasil fraksinasi dalam banyak fraksi kecil memungkinkan tiap fraksi mengandung

senyawa yang murni, namun dibutuhkan waktu lebih lama untuk menganalisa tiap fraksi. Ada juga kemungkinan senyawa target justru tersebar dalam banyak fraksi, sehingga bila berada dalam konsentrasi yang kecil akan sulit terdeteksi. Salah satu alternatif dalam pengerjaan fraksinasi adalah dengan kromatografi kolom cepat dengan menggunakan vakum pada outlet kolom. Penggunaan vakum pada umumnya adalah untuk purifikasi cepat senyawa yang diinginkan. Misalnya, Lila telah diketahui bahwa senyawa tertentu dari ekstrak bisa diekstraksi dari adsorben dengan kondisi tertentu, maka dapat digunakan corong *scinttered glass* yang diisi oleh adsorben. Ekstrak ditambahkan pada adsorben tersebut dan diekstraksi secara langsung dengan fase gerak. Metode ini yang dikenal dengan Kromatografi Kolom Vakum (*Vacuum Liquid Chromatography*). (Cannell, 1998)

## 2.8 Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis

KLT merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembangan campur. Pemilihan pelarut atau pelarut pengembangan campur sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat-zat kimia yang dipisahkan. Pada umumnya perbandingan pelarut pengembangan campur memakai perbandingan volume (v/v), akan tetapi perbandingan berat (b/b) akan lebih menguntungkan sebab perbandingan berat (b/b) akan tetap, baik pada fase cair atau uap dan dapat dipakai berulang kali dengan perbandingan tetap seperti semula. Fase diam yang umum dan banyak dipakai adalah silika gel yang dicampur dengan  $\text{CaSO}_4$  untuk menambah daya lengket partikel silika gel pada pendukung (pelat). Adsorban lain yang banyak dipakai adalah alumina, kieselguhr, celite, serbuk selulose, serbuk poliamida, kanji dan sephadex. (Mulja, 1995.)

## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL

#### 3.1 Landasan Teoritik

Malaria merupakan salah satu penyebab utama kematian pada anak-anak dan dewasa di negara-negara tropis. Jumlah kematian akibat Malaria mencapai lebih dari satu juta orang per tahun, dan terus meningkat. Hal ini terjadi seiring dengan meningkatnya resistensi terhadap obat-obat antimalaria yang sudah ada.

Indonesia mempunyai kekayaan flora yang berlimpah dan masyarakatnya masih banyak yang menggunakan tumbuhan sebagai obat tradisional. Dari sekian banyak jenis tanaman yang ada, beberapa diantaranya diketahui mempunyai potensi sebagai anti malaria. Salah satu tanaman yang diamati potensinya adalah cempedak.

Cempedak atau yang dikenal dengan nama latin *A. champeden* Spreng. merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk dalam keluarga Moraceae. *Artocarpus*, yang tumbuh terpusat di Asia tenggara, banyak ditemukan di Indonesia dan digunakan antara lain sebagai bahan pangan, bahan bangunan, dan bahan ramuan obat tradisional, antara lain sebagai antimalaria, disentri, dan penyakit kulit (Hakim, 1998).

Dari penelitian yang pernah dilakukan, diketahui dalam cempedak terdapat beberapa senyawa flavon terisoprenilasi, yaitu 3-( $\gamma$ , $\gamma$ -dimetilalil)-6-(3-metil-1-butenil)-7-metoksi-5,2',4'-trihidroksiflavan atau artokarpin, bersama-sama dengan suatu senyawa flavanon langka, yakni 5-hidroksi-7,2',4',6'-tetrametoksiflavanon atau heteroflavanon-A, pada kayu dan kulit batang tumbuhan *A. champeden* Spreng. (Moraceae). (Hakim, 1998).

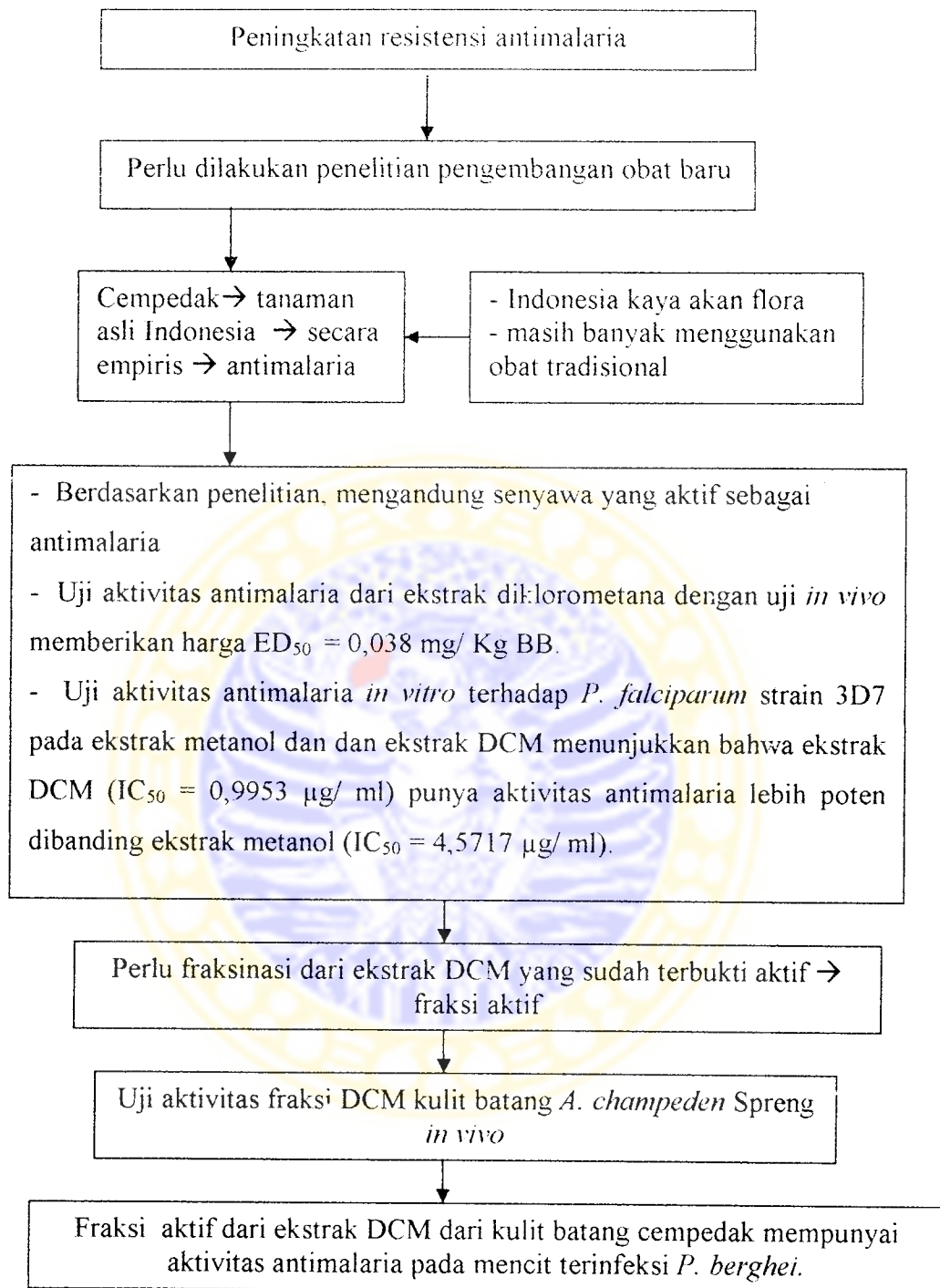
Penelitian terhadap ekstrak dari cempedak *in vivo* oleh Widyawaruyanti (Unpublish,2004) menunjukkan ekstrak metanol mempunyai aktivitas pada mencit terinfeksi *P. berghei* dengan nilai  $ED_{50} = 0,48$  mg/ Kg BB. Selain ekstrak metanol, ekstrak DCM juga terbukti mempunyai potensi sebagai antimalaria. Ekstrak DCM yang diuji oleh Imami (2005) secara intraperitoneal mempunyai

ED<sub>50</sub> sebesar 0,038 mg/ Kg BB . Uji aktivitas antimalaria *in vitro* terhadap *P. falciparum* strain 3D7 pada ekstrak metanol dan ekstrak DCM menunjukkan bahwa ekstrak DCM (IC<sub>50</sub> = 0,9953 µg/ ml) punya aktivitas antimalaria lebih poten dibanding ekstrak metanol (IC<sub>50</sub> = 4,5717 µg/ ml) (Zaini *et al.*, 2005).

Berdasar dari uraian di atas, maka dapat dibuktikan bahwa cempedak mempunyai kandungan senyawa yang aktif sebagai antimalaria *in vivo* maupun *in vitro*. Untuk memperoleh senyawa aktif yang terkandung dalam cempedak, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap isolasi senyawa aktif tersebut. Tahapan isolasi meliputi pemisahan, fraksinasi dengan berbagai eluen atau metode tertentu, sampai pada tahap pemurnian senyawa. Pada penelitian ini akan dilakukan tahapan pemisahan dan fraksinasi dari ekstrak DCM yang sudah terbukti aktif. Kemudian fraksi yang diperoleh diuji aktivitasnya secara *in vivo* pada mencit yang terinfeksi *P.berghei*.



### 3.2 Skema Kerangka Konseptual



## BAB IV

### BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

#### 4.1. Bahan Penelitian

##### 4.1.1. Bahan uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi DCM dari kulit batang tanaman cempedak (*A. champeden* Spreng). Tanaman ini diperoleh dari daerah Bogor pada Februari 2005 dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat.

##### 4.1.2. Parasit uji

Parasit yang digunakan adalah biakan *P. berghei* galur ANKA yang diperoleh dari Laboratorium Malaria, Lembaga Biomolekuler Eijkman, Jakarta dan dibiakkan di laboratorium hewan Universitas Airlangga, Surabaya melalui kultivasi pada mencit.

##### 4.1.3. Hewan coba

Pada penelitian ini disertakan hewan coba yaitu mencit jantan galur BalB/c dengan interval berat badan 20 – 30 gram dan umur  $\pm$  2 bulan, yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya.

##### 4.1.4. Bahan pembanding

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO.

##### 4.1.5. Bahan lain yang digunakan untuk uji antimalaria secara *In Vivo*

Bahan pendukung yang dipergunakan antara lain media Alseiver, pewarna Giemsa, metanol absolut dan minyak imersi.

##### 4.1.6. Pelarut

Pelarut yang digunakan yaitu n-heksana (teknis- redestilasi), DCM (teknis- redestilasi), metanol (teknis- redestilasi), kloroform p.a, etil asetat p.a, metanol p.a.

## 4.2 Alat-Alat yang Digunakan

### 4.2.1 Alat untuk ekstraksi

Untuk proses ekstraksi digunakan toples, timbangan analitik (Ohaus,2140), gelas ukur, batang pengaduk, corong gelas, erlenmeyer, shaker, Rotavapor (Buchi R-114 & Buchi R-153), cawan porselen, Beaker glass.

### 4.2.2 Alat untuk fraksinasi

Untuk fraksinasi digunakan pompa vakum, *scinterred glass funnel* (pyrex), kolom, vial, rotavapor.

### 4.2.3 Alat untuk uji antimalaria secara *in vivo*

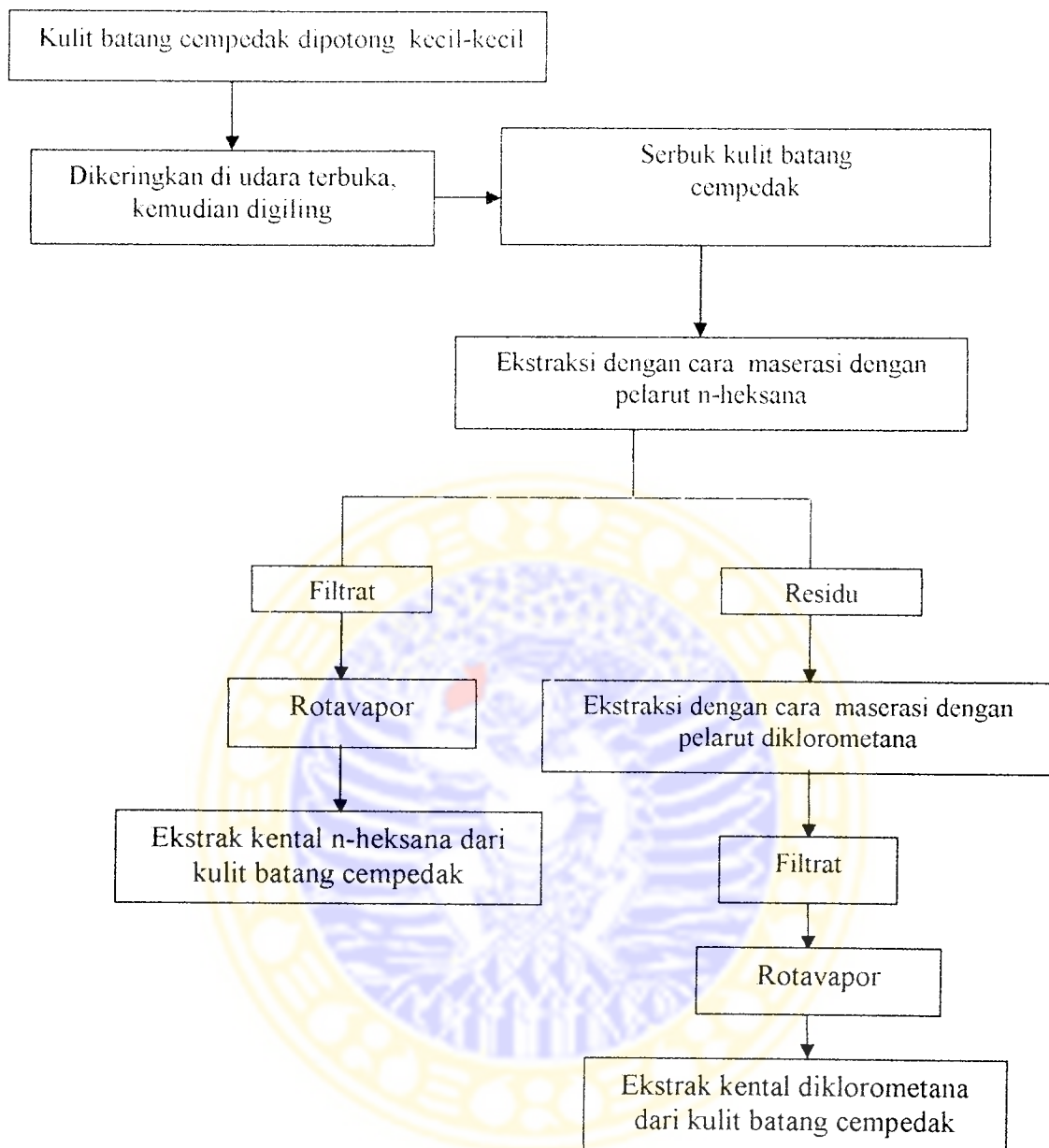
Alat yang digunakan : neraca analitik, vial, micropipet, lemari pendingin, spuit injeksi, mikroskop dengan skala okuler (Olympus CH 20), gelas obyek.

## 4.3. Metode Penelitian

### 4.3.1 Pembuatan ekstrak DCM kulit batang cempedak (*A. champeden Spreng.*)

1. Simplisia kering dipotong kecil-kecil dan digiling sehingga diperoleh simplisia yang lebih halus.
2. Simplisia direndam dalam toples dengan pelarut n-heksana sejumlah tertentu sampai terendam seluruhnya.
3. Toples digojok dengan shaker. Dibiarkan selama  $\pm$  24 jam.
4. Hasil rendaman (maserasi) disaring untuk mendapatkan filtratnya.
5. Residu dimaserasi ulang dengan n-heksana sebanyak empat kali. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental dan dikeringkan dengan eksikator.
6. Residu dikeringkan dan dimaserasi dengan pelarut DCM dengan jumlah tertentu sampai terendam seluruhnya. Maserasi sebanyak lima kali.
7. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan rotavapor dan dikeringkan dengan eksikator, hingga diperoleh ekstrak DCM.





**Gambar 4.1 Skema Pembuatan Ekstrak DCM dari Kulit Batang Cempedak**

#### 4.3.2 Fraksinasi dengan kromatografi kolom vakum (VLC)

- Bahan : Ekstrak DCM
  - silika gel GF<sub>254</sub> (fase diam) : 70 g
  - silika untuk kolom (mesh 70-230) : 8 g
- Fase gerak : Eluen I : CHCl<sub>3</sub> : Etil asetat (9:1)  
 Eluen II : Etil asetat

#### 4.3.4 Identifikasi fitokimia

##### 1. Identifikasi senyawa golongan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis

Sejumlah fraksi DCM dilarutkan dengan kloroform hingga larut. Lalu larutan ini ditotolkan pada plat / lempeng kromatografi dan dieluasi dengan eluen yang telah ditentukan.

Bahan	: Fraksi DCM dari kulit batang <i>A. champeden</i> Spreng.
Fase diam	: Kiesel gel 60 GF254 E.Merck
Fase gerak	: kloroform : etil asetat (9:1)
Penampak noda	: cerrium (IV) sulfat 1%

#### 4.3.5 Pembiakan *P. Berghei* dan penghitungan % parasitemia

##### 1. Pembiakan *P. berghei* pada mencit donor

Tahap pembiakan *P. berghei* pada mencit donor dilaksanakan sebagai berikut :

1. Stok darah dari simpanan beku di – *thawing* sampai cair.
2. Darah tersebut diinjeksikan pada 1 ekor mencit donor dengan volume 200  $\mu$ l.
3. Setiap hari dilakukan pembuatan hapusan darah tepi dari ekor mencit untuk mengetahui pertumbuhan dari parasit.
4. Pertumbuhan parasit ditentukan berdasarkan % parasitemia setiap hari. Persen parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit terinfeksi *P.berghei* dalam 5000 eritrosit.
5. Apabila parasitemia sudah mencapai 20%, maka dilakukan pembedahan dan darah diambil dari jantung mencit.
6. Darah terinfeksi *P.berghei* ini kemudian diinjeksikan kepada mencit uji, untuk pengujian aktivitas antimalaria.

##### 2. Pembuatan preparat hapusan darah tepi

Proses preparasi dilakukan sebagai berikut :

1. Diteteskan ± 1 tetes suspensi darah dari ekor mencit ke atas gelas objek, lalu diratakan dengan bantuan satu sisi gelas objek yang lain.
2. Dibiarkan kering di udara terbuka.
3. Dilakukan fiksasi dalam metanol absolut selama beberapa saat.
4. Gelas objek yang sudah difiksasi, dikeringkan di udara terbuka.
5. Dilakukan pengecatan dengan pewarna Giemsa 10%.

Hapusan darah tepi tersebut diamati pada mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Untuk parasit malaria berwarna kemerahan dan plasma berwarna biru, eritrosit berwarna merah muda.

### 3. Penghitungan Parasitemia

Parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit dalam setiap 5000 eritrosit.

Rumus penghitungan % parasitemia :

$$\% \text{ parasitemia} = \sum \text{eritrosit yang terinfeksi per 5000 eritrosit} \times 100\%$$

#### 4.3.6 Penentuan fraksi aktif terhadap *P. berghei*

##### 1. Pembagian kelompok mencit dan penginfeksian *P. berghei*

Mencit yang digunakan dalam pengujian fraksi dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu :

- I. Kelompok kontrol negatif : terdiri dari 3 ekor mencit
- II. Kelompok uji : jumlah kelompok uji sesuai dengan jumlah fraksi yang diperoleh. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.

Sebelum dilakukan pengujian, mencit diinfeksi dengan *P. berghei* dengan cara :

1. Darah terinfeksi *P.berghei* dari mencit donor diinjeksikan secara *intra peritoneal* .
2. Tingkat parasitemia mencit diamati setiap hari melalui hapusan darah tepi, penghitungan % parasitemia seperti tertulis pada 4.3.5 (3).
3. Apabila parasitemia sudah mencapai 1 - 5% maka dilakukan uji aktivitas antimalaria.

## 2. Pengujian aktivitas antimalaria fraksi dari ekstrak DCM terhadap *P.berghei*

Bahan uji yang digunakan adalah larutan fraksi dari ekstrak DCM kulit batang cempedak (*A.champeden* Spreng.) dengan dosis 10 mg/ Kg BB mencit. Penyiapan larutan uji :

Ditimbang 10 mg fraksi dari ekstrak DCM (dengan timbangan analitik) ditambahkan DMSO 4 ml . (Larutan uji dengan dosis 10 mg / Kg BB mencit atau 250 $\mu$ g / 100 $\mu$ l). Langkah-langkah uji aktivitas :

1. Setiap mencit uji diberi perlakuan dengan dosis 10 mg/Kg BB mencit larutan fraksi uji secara *intraperitoneal* selama 4 hari ( $D_1$ - $D_4$ )
2. Kelompok kontrol negatif diberi DMSO 100 $\mu$ l/ Kg BB mencit secara *intra peritoneal* selama 4 hari ( $D_1$ - $D_4$ )
3. Pengambilan sampel darah ekor dan pengamatan persen parasitemia dilakukan sebelum mencit diberi perlakuan dan setiap hari setelah perlakuan dimulai sampai hari ke-7 setelah perlakuan ( $D_0$  –  $D_6$ ).
4. Setelah diujikan kepada mencit, maka dihitung persen penghambatan dari tiap fraksi. Fraksi yang memiliki persen penghambatan paling besar dan dianggap aktif sebagai antimalaria, diuji lebih lanjut untuk menentukan potensinya.

### 4.3.7 Penentuan potensi fraksi aktif terhadap *P. berghei*

#### 1. Pembagian kelompok mencit dan penginfeksi *P. berghei*

Mencit dibagi menjadi enam kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit :

- I.. Kelompok dosis 100 mg/ Kg BB mencit
- II. Kelompok dosis 10 mg/ Kg BB mencit
- III. Kelompok dosis 1 mg/ Kg BB mencit
- IV. Kelompok dosis 0,1 mg/ Kg BB mencit
- V. Kelompok dosis 0,01 mg/ Kg BB mencit
- VI. Kelompok kontrol negatif

Sebelum dilakukan pengujian, tiap kelompok diinfeksi dengan *P. berghei* seperti yang tertulis pada 4.3.6.(1).

## 2. Pengujian aktivitas antimalaria fraksi aktif terhadap *P.berghei*

Bahan uji yang digunakan adalah fraksi dari hasil fraksinasi ekstrak DCM yang sudah diketahui aktif terhadap *P. berghei* sesuai dengan hasil orientasi pada poin 4.3.6. dengan dosis :

- I. 100 mg/ Kg BB mencit
- II. 10 mg/ Kg BB mencit
- III. 1 mg/ Kg BB mencit
- IV. 0,1 mg/ Kg BB mencit
- V. 0,01 mg / kg BB mencit
- VI. Kontrol negatif : DMSO

▪ Penyiapan larutan fraksi uji adalah sebagai berikut :

1. Ditimbang 100 mg fraksi DCM (dengan timbangan analitik) lalu ditambahkan 4 ml larutan DMSO (larutan uji 1 dengan dosis 100 mg/kgBB).
2. Larutan uji 1 diambil 0,3 ml, ditambahkan DMSO 2,7 ml .(Larutan uji 2 dengan dosis 10 mg/kgBB).
3. Larutan uji 2 diambil 0,3 ml, ditambahkan DMSO 2,7 ml .(Larutan uji 3 dengan dosis 1 mg/kgBB).
4. Larutan uji 3 diambil 0,3 ml, ditambahkan DMSO 2,7 ml. (Larutan uji 4 dengan dosis 0,1 mg/kgBB).
5. Larutan uji 4 diambil 0,3 ml, ditambahkan DMSO 2,7 ml (Larutan uji 5 dengan dosis 0,01 mg/kgBB).

▪ Cara pemberian perlakuan adalah sebagai berikut :

1. Mencit uji dan kontrol diinfeksi dengan *P.berghei* dan diamati pertumbuhan parasitnya seperti tertulis pada 4.3.6.1
2. Mencit uji diberi perlakuan dengan larutan uji 1-5 secara *intra peritonal* selama 4 hari ( $D_1$ - $D_4$ ).
3. Mencit kontrol negatif diberi DMSO 100 $\mu$ l/ Kg BB mencit secara *intra peritonal* selama 4 hari ( $D_1$ - $D_4$ )
4. Pengambilan sampel darah ekor dan pengamatan persen parasitemia dilakukan sebelum mencit diberi perlakuan dan setiap hari setelah perlakuan dimulai sampai hari ke-7 setelah perlakuan ( $D_0 - D_6$ ).

#### 4.3.8 Evaluasi hasil

Berdasarkan hasil % parasitemia yang diperoleh, dapat dihitung rerata % pertumbuhan sebagai berikut :

$$\% \text{ pertumbuhan (X)} = \frac{P(d_1-d_0)+P(d_2-d_1)+P(d_3-d_2)+\dots+P(d_N-d_{N-1})}{\sum \text{hari pengamatan} - 1}$$

Keterangan :

$P(d_N-d_{N-1})$  = % parasitemia hari ke - X dikurangi dengan % parasitemia hari sebelumnya.

Dari data rerata % pertumbuhan di atas dapat dihitung pula % penghambatan rata-ratanya melalui persamaan :

$$\% \text{ penghambatan} = 100\% - (X_e / X_k \times 100\%)$$

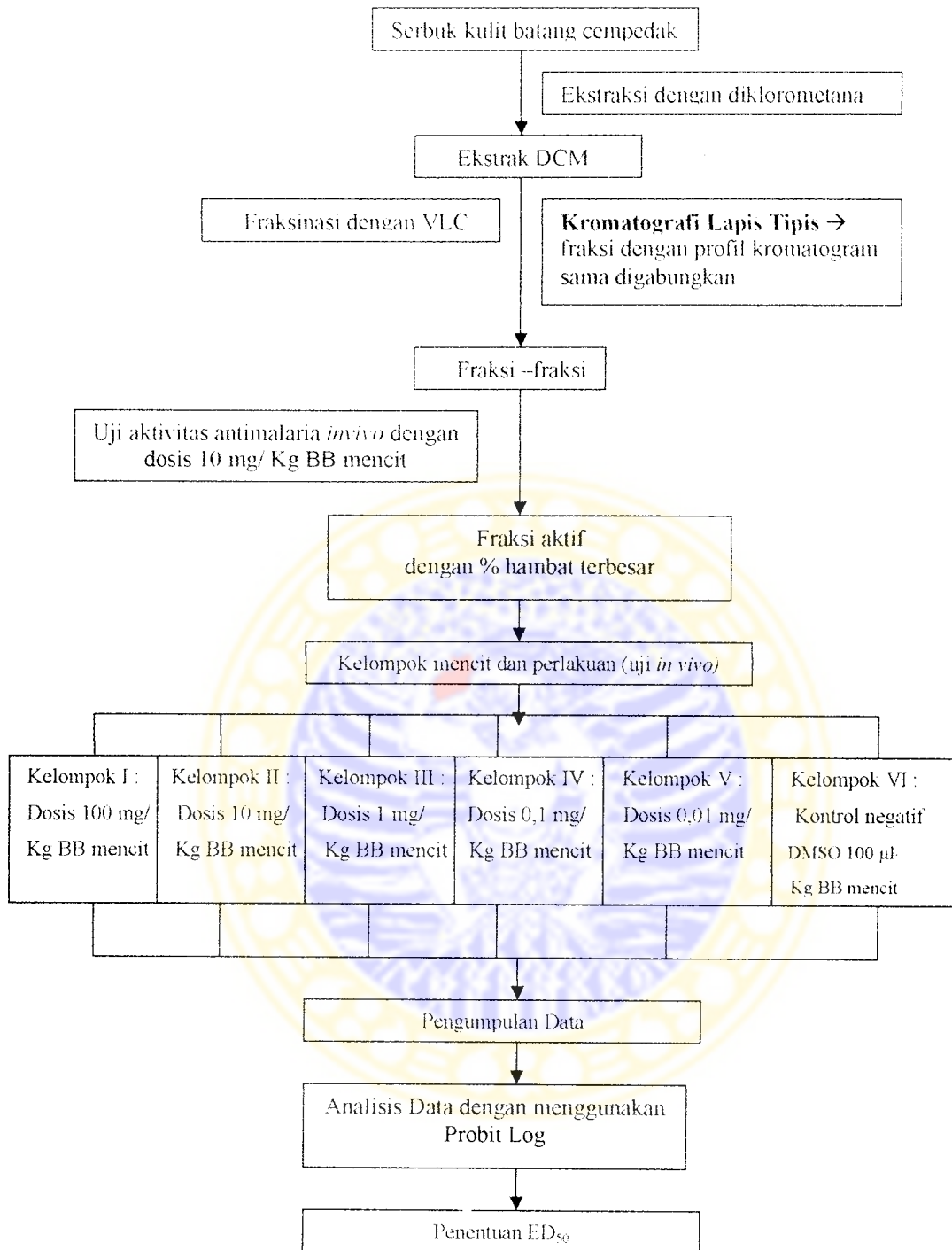
Keterangan :

$X_e$  = % pertumbuhan rata-rata parasitemia pada tiap dosis bahan uji

$X_k$  = % pertumbuhan rata-rata parasitemia pada kontrol negatif.

#### 4.3.9. Analisis data

$ED_{50}$  adalah dosis bahan uji yang mampu menghambat 50 % pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo*. Pada studi *in vivo* ini digunakan SPSS untuk penghitungan  $ED_{50}$  dengan metode probit log. Dengan analisis probit log ini, data yang dianalisis berada dalam rentang pengukuran (pengolahan data lebih teliti dan hasilnya berada dalam area kurva probit log).



**Gambar 4.3** Skema Rancangan Penelitian dan Uji aktivitas antimalaria fraksi aktif ekstrak DCM kulit batang cempedak (*A.champeden Spreng*). terhadap *P.berghei* secara *in vivo*

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Pembuatan Ekstrak DCM Kulit Batang Cempedak (*A.champeden Spreng.*)

Serbuk kering kulit batang cempedak (*A.champeden Spreng.*) sebanyak 2600 gram dimaserasi sebanyak 5 kali dengan 2500 ml n-heksana teknis (hasil redestilasi). Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotavapor. Didapatkan ekstrak n-heksana sebanyak 19 gram. Residu kemudian dikeringkan dan dimaserasi sebanyak 5 kali DCM teknis sebanyak 2500 ml. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotavapor. Didapatkan ekstrak DCM sebanyak 41,48 gram.

**Tabel 5.1 Berat hasil ekstraksi kulit batang cempedak**

Serbuk kering (g)	Pelarut	Jumlah pelarut (ml)	Ekstrak (g)
2600	n-heksana	± 2500	19
2569	DCM	± 2500	41,48

#### 5.2 Fraksinasi Ekstrak DCM Kulit Batang Cempedak (*A.champeden Spreng.*)

Dari ekstrak kering DCM sebanyak 4 gram dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode *VLC* dengan menggunakan fase diam silika gel sebanyak 70 gram. Ekstrak dilarutkan dengan kloroform ad larut, kemudian dikeringkan lagi dengan silika untuk kolom sebanyak 8 gram. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform-etil asetat (9 :1) 400 ml, etil asetat 50 ml , etil asetat-metanol (1 :1) 100 ml, dan metanol 100 ml. Fraksinasi dilakukan 10 kali. Hasil fraksinasi ini ditampung dalam vial-vial untuk kemudian dilihat profil kromatogram dan harga  $R_f$ -nya dengan KLT. Fraksi-fraksi yang profil dan harga  $R_f$ nya sama dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan rotavapor. Hasilnya didapatkan fraksi-fraksi sebagai berikut :



**Tabel 5.2 Berat fraksi dari ekstrak kulit batang cempedak**

Fraksi	Berat (gram)
1	3,2580
2	6,6850
3	5,4878
4	6,3170
5	3,3120
6	4,0700
7	6,8264

### 5.3 Identifikasi Fitokimia Fraksi

Dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis fase diam Kiesel GF 254 dan fase gerak kloroform : etil asetat (9 :1) maka hasil identifikasi menunjukkan profil masing-masing fraksi seperti di bawah berikut ini pada penampak noda Cerrium sulfat 1%.



**Gb 5.1 Hasil identifikasi flavonoid setelah disemprot dengan Cerrium sulfat 1%**

Fraksi IV								
R	Berat	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6
I	23	0,25	2,86	8,11	11,91	15,44	28,83	29,67
II	23	1,10	6,90	10,62	13,37	16,52	32,68	xxxx
III	24	0,28	1,79	9,46	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx
Fraksi V								
R	Berat	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6
I	20	0,50	2,01	10,30	10,40	16,63	21,25	24,92
II	20	0,23	2,12	4,50	12,52	16,19	19,36	xxxx
III	20	0,38	1,71	9,49	11,14	16,40	21,65	26,44
Fraksi VI								
R	Berat	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6
I	22	0,41	2,86	6,62	10,40	xxxx	xxxx	xxxx
II	23	0,83	4,8	7,19	11,13	15,19	26,15	33,75
III	24	0,33	2,64	6,98	10,52	14,81	18,22	26,96
Fraksi VII								
R	Berat	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6
I	21	0,48	2,37	9,91	14,77	15,33	23,31	25,64
II	21,5	0,09	3,58	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
III	22	0,34	2,35	7,32	11,65	15,78	26,22	29,78
Kontrol Negatif								
R	Berat	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6
I	21	0,17	0,35	2,22	7,73	18,90	20,20	23,94
II	21	0,52	0,955	8,33	11,96	14,19	27,32	31,58
III	22	0,09	0,955	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx

Keterangan:

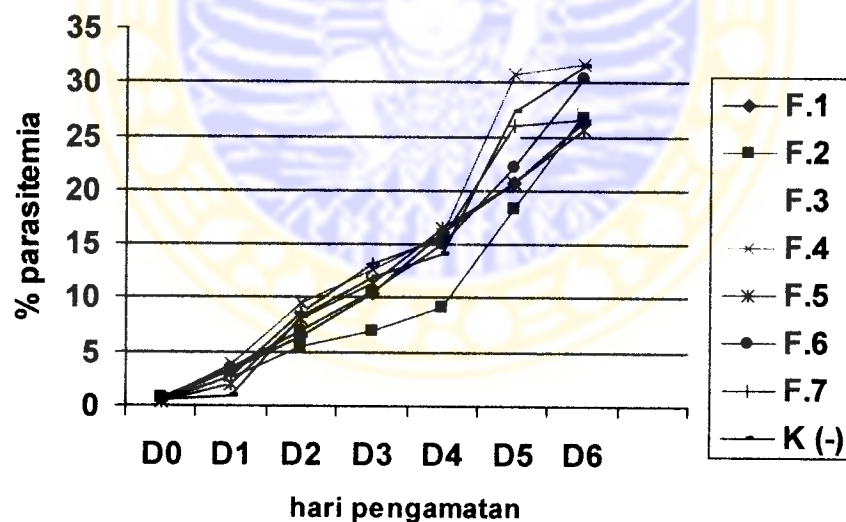
R : replikasi

D0-D6 : hari ke-0 sampai hari ke-6

Dari data hasil penghitungan persen parasitemia yang diperoleh, dihitung persen parasitemia rata-rata dari 3 replikasi pada tiap fraksi selama D<sub>0</sub>-D<sub>6</sub>. Hasil

**Tabel 5.4 Hasil penghitungan persen parasitemia rata-rata fraksi-fraksi dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng. dan kontrol negatif.**

Keterangan	% Parasitemia						
	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>
Fraksi I	0,54	3,29	6,49	10,53	16,08	20,69	26,31
Fraksi II	0,72	2,52	5,53	7,00	9,19	18,32	27,21
Fraksi III	0,42	2,55	9,28	11,14	12,46	25,26	28,09
Fraksi IV	0,54	3,85	9,48	12,64	15,98	30,75	31,67
Fraksi V	0,37	1,95	8,10	11,35	16,41	20,75	25,68
Fraksi VI	0,69	3,43	6,93	10,68	15,00	22,18	30,36
Fraksi VII	0,30	2,77	8,62	13,21	15,55	25,93	26,55
Kontrol (-)	0,52	0,96	8,33	11,96	14,19	27,32	31,58



**Gb 5.2 Grafik hubungan % parasitemia dengan fraksi - fraksi dari ekstrak DCM kulit batang *A.champeden* Spreng dan kontrol negatif terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P.berghei* selama pengamatan dari D<sub>0</sub>-D<sub>6</sub>**

Grafik tersebut menunjukkan fraksi II mampu menghambat pertumbuhan parasit pada mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei* selama pemberian perlakuan (D1-D4) bila dibandingkan dengan pertumbuhan parasit pada kelompok kontrol negatif.

Dari hasil penghitungan persen parasitemia, dapat dilakukan penghitungan persen pertumbuhan dan persen penghambatan fraksi-fraksi dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng. dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ pertumbuhan (X)} = \frac{P(d_1-d_0)+P(d_2-d_1)+P(d_3-d_2)+\dots+P(d_N-d_{N-1})}{\sum \text{hari pengamatan} - 1}$$

Keterangan :

$P(d_N-d_{N-1})$  = % parasitemia hari ke - X dikurangi dengan % parasitemia hari sebelumnya.

$$\% \text{ penghambatan} = 100\% - (X_e / X_k \times 100\%)$$

Keterangan :

$X_e$  = % pertumbuhan rata-rata parasitemia pada tiap dosis bahan uji

$X_k$  = % pertumbuhan rata-rata parasitemia pada kontrol negatif.

Hasil perhitungan persen pertumbuhan dan persen penghambatan ini dapat dilihat pada tabel 5.5 di bawah ini :

**Tabel 5.5 Hasil penghitungan persen pertumbuhan, persen pertumbuhan rerata dan persen penghambatan uji pendahuluan aktivitas antimalaria fraksi-fraksi dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei* dan kontrol negatif**

Fraksi	R	Persen pertumbuhan (%)	Persen pertumbuhan rerata	Persen penghambatan (%)
K ⊖	1	4,68	5,32	-
	2	5,92		
	3	-		
I	1	3,90	3,89	26,88
	2	3,92		
	3	3,84		
II	1	2,02	2,05	61,46
	2	2,11		
	3	2,03		
III	I	3,02	3,01	42,11
	II	3,00		
IV	1	3,80	3,82	28,19
	2	3,85		
	3	Mati		
V	1	4,03	4,01	24,66
	2	3,99		
	3	4,005		
VI	1	Mati	3,61	32,14
	2	3,59		
	3	3,62		
VII	1	3,71	3,78	28,95
	2	Mati		
	3	3,86		

(\*) Dari hasil uji aktivitas fraksi-fraksi DCM, dapat dilihat bahwa fraksi yang paling aktif adalah fraksi II dengan % hambat rata-rata 61,46 (Fraksi dinyatakan aktif bila memiliki persen hambat lebih dari 30%(Andrade-neto,2001)).

#### **5.4.2 Hasil uji aktivitas antimalaria fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A.champeden* Spreng (penentuan ED<sub>50</sub>)**

Hasil uji pendahuluan menunjukkan fraksi II merupakan fraksi yang paling aktif. Untuk itu, fraksi II diuji lebih lanjut dengan lima dosis : 100 ; 10 ; 1 ; 0,1 ; dan 0,01 mg/ Kg BB mencit secara *intrapertoneal* terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei*, dengan kontrol negatif yang diberi perlakuan dengan DMSO. Pengamatan dilakukan selama 7 hari terhadap hapusan tipis darah yang dibuat dari  $\pm$  1 tetes darah dari ekor mencit ke atas gelas objek, lalu diratakan dengan bantuan satu sisi gelas objek yang lain. Setelah itu kemudian dikeringkan dan difiksasi dengan metanol absolut, dan diberi pewarnaan dengan Giemsa 10 % . Preparat tersebut diamati dengan perbesaran 1000 kali pada mikroskop untuk kemudian dihitung persen parasitemianya. Persen parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit dalam setiap 5000 eritrosit x 100%. Hasil perhitungan persen parasitemia ini dapat dilihat pada tabel 5.6. Pada tabel tersebut, dicantumkan pula hasil penghitungan persen pertumbuhan dari masing-masing replikasi pada masing-masing dosis, yang dihitung dengan cara yang sama seperti rumus sebelumnya.

**Tabel 5.6 Hasil penghitungan persen parasitemia dan persen pertumbuhan selama D0-D6 uji antimalaria fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A.champeden* Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei* dan kontrol negatif**

Dosis	R	% parasitemia							% pertumbuhan
		D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	
100 mg/Kg BB	1	0,23	1,18	2,48	2,61	3,09	7,31	11,03	0,72
	2	0,29	1,53	2,42	2,54	3,12	7,66	13,39	0,71
	3	0,10	1,02	2,09	2,28	2,87	7,93	11,21	0,69
10 mg/Kg BB	1	0,17	0,18	2,62	2,82	3,62	13,21	20,55	0,86
	2	0,54	2,99	3,09	3,53	4,01	14,02	21,36	0,87
	3	0,29	1,07	2,36	2,89	3,84	10,24	19,33	0,89
1 mg/Kg BB	1	0,34	2,25	2,31	3,25	7,55	10,62	14,30	1,05
	2	0,39	3,48	3,59	3,85	4,61	11,02	12,38	1,06
	3	0,25	3,10	3,96	4,24	4,82	xxx	xxx	1,14
0,1 mg/Kg BB	1	0,48	0,70	3,69	4,77	5,29	9,38	17,95	1,20
	2	0,37	2,26	3,95	5,16	5,67	11,25	17,04	1,32
	3	0,55	3,35	4,26	5,51	6,15	11,49	16,90	1,40
0,01 mg/Kg BB	1	0,36	2,87	5,13	5,67	6,79	15,04	19,31	1,61
	2	0,29	1,11	5,35	5,73	7,01	10,51	17,32	1,68
	3	0,49	1,18	4,99	5,25	9,21	12,92	15,43	2,18
K(-)	1	0,13	0,59	9,15	10,52	11,99	14,26	22,22	2,97
	2	0,12	0,39	9,31	9,84	12,94	13,80	24,90	3,20
	3	0,42	2,11	6,62	11,08	15,01	16,34	xxx	3,65

Keterangan :

R : replikasi

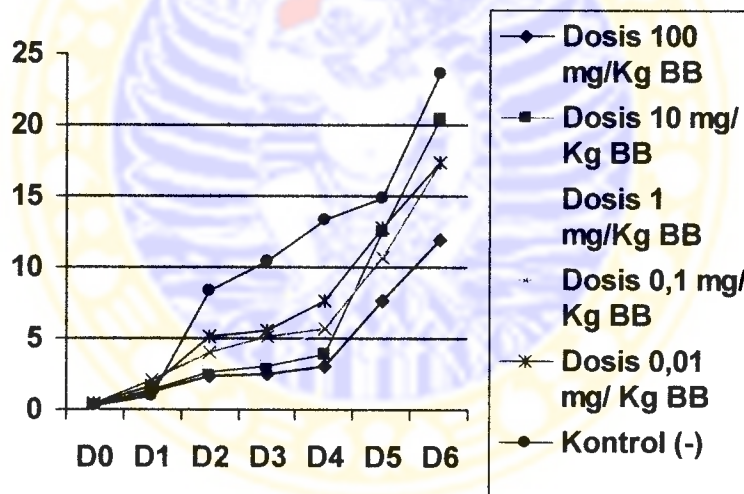
D0-D6 : hari ke-0 sampai hari ke-6

K (-) : kontrol negatif

Dari data hasil penghitungan persen parasitemia yang diperoleh, dihitung persen parasitemia rata-rata dari 3 replikasi pada tiap fraksi selama D<sub>0</sub>-D<sub>6</sub>. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 5.7 di bawah ini :

**Tabel 5.7 Hasil penghitungan persen parasitemia rata-rata fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei* dan kontrol negatif**

Keterangan	% Parasitemia						
	D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>
Dosis 100 mg/kg BB mencit	0,21	1,24	2,33	2,48	3,03	7,63	11,88
Dosis 10 mg/kg BB mencit	0,33	1,41	2,69	3,08	3,82	12,49	20,41
Dosis 1 mg/kg BB mencit	0,33	2,94	3,29	3,78	5,66	10,82	13,34
Dosis 0,1 mg/kg BB mencit	0,47	2,10	3,97	5,15	5,70	10,71	17,30
Dosis 0,01 mg/kg BB mencit	0,38	1,72	5,16	5,55	7,67	12,82	17,35
Kontrol (-)	0,22	1,03	8,36	10,48	13,31	14,8	23,56



**Gb 5.3 Grafik hubungan % parasitemia dengan fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng dalam 5 dosis dan kontrol negatif terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei* selama pengamatan dari D<sub>0</sub>-D<sub>6</sub>**

Grafik tersebut menunjukkan persen parasitemia pada kelompok uji (mencit yang diberi perlakuan selama 4 hari dengan fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng dalam 5 dosis) lebih rendah dibandingkan pada kelompok kontrol negatif (mencit yang diberi perlakuan dengan DMSO)



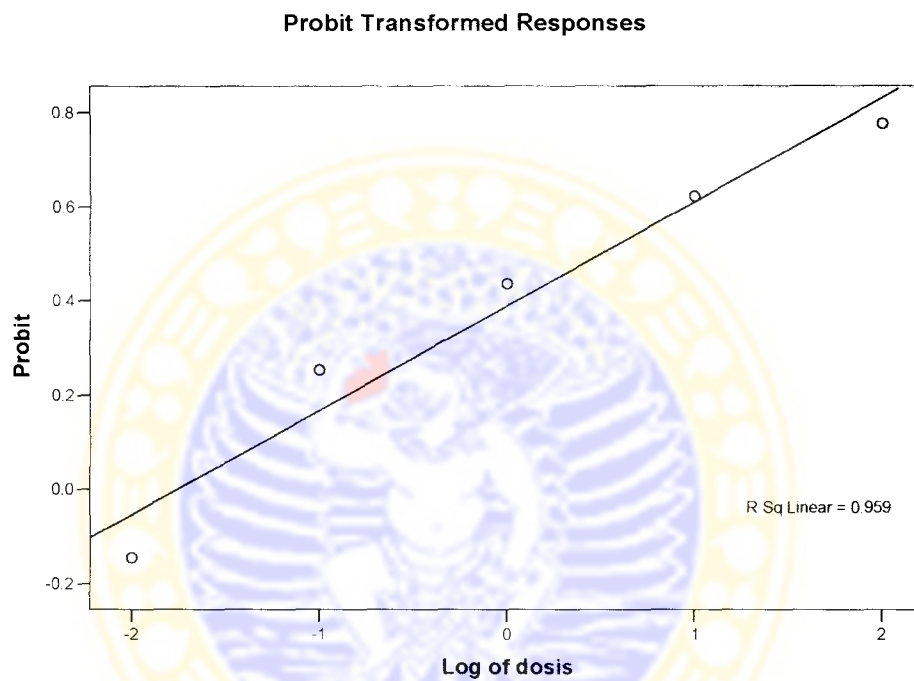
Dengan menggunakan rumus yang sama, diperoleh hasil penghitungan persen pertumbuhan dan persen penghambatan dari fraksi II ekstrak DCM kulit batang *A.champeden* Spreng. Seperti yang tercantum dalam tabel 5.8 di bawah ini :

**Tabel 5.8 Hasil penghitungan persen pertumbuhan dan persen penghambatan fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A.champeden* Spreng. terhadap mencit jantan galur BalB/c terinfeksi *P. berghei* dalam lima dosis dan kontrol negatif**

Dosis (mg/kg BB mencit)	Rep.	Pertumbuhan		Penghambatan	
		%	Rata-rata	%	Rata-rata
100	1.	0,69	0,71	78,90	78,12
	2.	0,71		78,29	
	3.	0,72		77,17	
10	1.	0,86	0,87	73,70	73,29
	2.	0,87		73,39	
	3.	0,89		72,78	
1	1.	1,05	1,08	67,89	66,87
	2.	1,06		67,58	
	3.	1,14		65,14	
0,1	1.	1,20	1,31	63,30	59,99
	2.	1,32		59,48	
	3.	1,40		57,19	
0,01	1.	1,61	1,82	50,76	44,24
	2.	1,68		48,62	
	3.	2,18		33,33	
K(-)	1.	2,96	3,27	-	-
	2.	3,20		-	
	3.	3,65		-	

### 5.4.3 Analisis Data

Data persen penghambatan Fraksi II yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis probit SPSS. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai  $ED_{50}$  Fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang cempedak terhadap *P.berghei* pada mencit = 0,018 mg/ Kg BB mencit.



**Gb 5.4** Kurva hubungan probit persen penghambatan dengan log dosis dari fraksi II dari Ekstrak DCM kulit batang cempedak

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan ekstrak DCM dari kulit batang cempedak (*A.champeden* Spreng.) yang kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom vakum. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antimalarinya secara *in vivo* terhadap *P.berghei* pada mencit untuk mengetahui fraksi yang paling aktif. Bila telah diperoleh fraksi yang paling aktif, maka fraksi tersebut diuji lebih lanjut untuk memperoleh harga  $ED_{50}$ .

Cempedak telah terbukti secara empiris sebagai antimalaria. Penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas antimalaria ekstrak DCM kulit batang cempedak *in vivo* dan *in vitro* memberikan hasil masing-masing  $ED_{50} = 0,038$  mg/ Kg BB (Imami,2005) dan  $IC_{50} = 0,9953$   $\mu$ g/ ml (Zaini *et al*, 2005). Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak DCM kulit batang cempedak mengandung senyawa yang aktif sebagai antimalaria. Pada penelitian ini, akan dilakukan fraksinasi dari ekstrak DCM yang sudah terbukti aktif dan uji aktivitas antimalaria dari fraksi yang diperoleh.

Tahapan pertama yang dilakukan adalah ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Simplisia kering kulit batang *A.champeden* Spreng. direndam dengan beberapa pelarut. Pelarut yang digunakan adalah n-heksana dan dilanjutkan dengan DCM. Pelarut n-heksana yang bersifat nonpolar digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang tidak diinginkan, seperti lemak, yang bisa mengganggu proses isolasi lebih lanjut. Pelarut DCM yang bersifat semi polar digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar, seperti flavonoid aglikon. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapor dan dikeringkan di eksikator hingga didapatkan ekstrak kering.

Setelah dididapatkan ekstrak DCM, tahapan selanjutnya adalah fraksinasi dengan metode *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC). Kromatografi kolom vakum menggunakan pompa vakum untuk menarik senyawa dari fase diam, sehingga waktu yang diperlukan lebih sedikit dan senyawa yang mudah menguap dapat diperoleh. Eluen yang digunakan memiliki kepolaran bertingkat, mulai dari kloroform : etil asetat (9:1), etil asetat. etil asetat : metanol (1:1), dan metanol.

Dengan eluen yang memiliki kepolaran bertingkat, diharapkan senyawa yang diperoleh akan lebih terpisah. Dari hasil VLC ini diperoleh 7 fraksi utama. Fraksi-fraksi ini kemudian diuji aktivitasnya untuk mengetahui fraksi yang paling aktif sebagai antimalaria.

Pada penelitian sebelumnya, disebutkan adanya kandungan senyawa flavonoid pada *A.champeden* Spreng. Hasil identifikasi fitokimia pada fraksi-fraksi hasil fraksinasi ekstrak DCM kulit batang cempedak menunjukkan pada fraksi II terdapat noda kuning pada lempeng kromatografi yang telah dieluasi dengan eluen kloroform : etil asetat (9:1), setelah diberi penampak noda  $Ce(SO_4)_2$  1% yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada fraksi II. Senyawa flavonoid tersebut masih belum terdapat dalam bentuk yang murni karena diduga ada interaksi dengan senyawa lain dalam fraksi tersebut. Oleh karena itu, maka perlu dilakukan penelitian dan isolasi lebih lanjut terhadap fraksi II untuk memperoleh senyawa yang lebih murni.

Untuk uji aktivitas digunakan metode *in vivo* dengan hewan coba mencit. Metode *in vivo* lebih bisa menggambarkan keadaan sebenarnya dalam tubuh, dimana obat mengalami proses metabolisme. Selain itu, mencit memiliki kemiripan dari segi struktur anatomi, fisiologi, metabolisme, karakteristik kesensitifan dan koresistensi pada senyawa obat dengan manusia. Dasar dari metode *in vivo* yang dilakukan adalah Peter's test. Karena pada tes Peter diukur persentase jumlah eritrosit yang terinfeksi dibandingkan total eritrosit yang diamati, untuk menunjukkan adanya penekanan / penghambatan parasit sebanyak 50 % populasi. Data yang diperoleh kemudian dihitung dengan analisis log dosis vs aktivitas probit untuk mendapatkan harga  $ED_{50}$ . Pada tes Peter, uji dilakukan selama 4 hari, dimulai dari  $D_0$ .  $D_3$  dan hapusan darah diambil mulai  $D_0$ - $D_6$ . Larutan fraksi uji diberikan sekali sehari selama empat hari secara berturut-turut secara intraperitoneal. Hal ini dilakukan karena obat antimalaria baru diharapkan efektif dengan pemberian sekali sehari dan waktu pengobatan yang singkat (Rosenthal,2003). Sedangkan rute intraperitoneal dipilih karena tidak mengalami proses metabolisme pada saluran pencernaan, yang bisa mengurangi kadar obat yang terabsorpsi.

Hapusan darah diambil selama 7 hari untuk melihat profil pertumbuhan parasit selama diberi perlakuan dan setelah perlakuan dihentikan. Selama empat hari pemberian larutan uji, yaitu D<sub>0</sub> sampai D<sub>3</sub> terlihat adanya penghambatan pertumbuhan parasit. Hal ini terlihat dari pertumbuhan parasit yang tidak mengalami peningkatan yang besar seperti pada kontrol negatif. Setelah pemberian larutan uji dihentikan terjadi peningkatan pertumbuhan parasit yang cukup tajam pada mencit uji. Dari data ini diperkirakan bahwa parasit masih tumbuh dalam tubuh mencit, sedangkan senyawa aktif yang diduga efektif sebagai antimalaria dari kulit batang *A. champeden* Spreng. sudah hilang dari tubuh mencit karena proses ekskresi dalam waktu cepat atau proses metabolisme yang berlangsung secara cepat, sehingga senyawa tersebut diubah menjadi bentuk yang tidak aktif atau ada mekanisme lain yang belum diketahui dapat mempengaruhinya.

Sebagai bahan pembanding pada uji aktivitas digunakan DMSO (Dimethylsulphoxide) sebagai kontrol negatif. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif untuk menghindari positif palsu dari pelarut dan tidak mempengaruhi pertumbuhan parasit. (How *et al*, 2004).

Untuk menentukan fraksi aktif dilakukan uji aktivitas antimalaria dengan menggunakan satu dosis, yaitu 10 mg/ Kg BB. Fraksi dinyatakan aktif bila memiliki persen penghambatan lebih dari 30% (Andreda-Neto, 2001). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi yang aktif adalah fraksi VI, III dan II, dengan persen penghambatan masing-masing 32,14%; 42,11% dan 61,46%. Fraksi III memiliki persen penghambatan yang perbedaannya tidak terlalu signifikan dengan fraksi II, hal ini disebabkan adanya kandungan senyawa pada fraksi III yang juga terkandung dalam fraksi II, hanya saja konsentrasinya lebih kecil sehingga aktivitasnya tidak terlalu baik. Fraksi II memiliki persen penghambatan yang lebih tinggi daripada fraksi lainnya. Untuk itu, dilakukan uji lebih lanjut terhadap fraksi II untuk menentukan potensi antimalariannya, yang ditunjukkan dengan harga ED<sub>50</sub>. Karena pada saat orientasi dengan dosis 10 mg/ Kg BB hanya didapatkan persen penghambatan sebesar 61,46%, maka untuk penentuan ED<sub>50</sub> dosisnya dimulai dengan 100 mg/ Kg BB. Uji aktivitas untuk fraksi II dilakukan dengan 5 macam dosis yaitu 100; 10; 1; 0,1; 0,01 mg/kg BB.

Hasil uji aktivitas fraksi II pada dosis tersebut di atas masing-masing menunjukkan persen penghambatan sampai hari keempat terhadap *Plasmodium berghei* sebesar 78,12%; 73,29%; 66,87%; 59,99%, dan 44,24%. Hasil ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan parasit oleh fraksi II. Sedangkan setelah perlakuan dihentikan, yaitu pada hari kelima dan keenam, pertumbuhan parasit meningkat cukup tajam. Hasil pengamatan berupa persen parasitemia, persen pertumbuhan dan persen penghambatan dapat dilihat pada tabel 5.6 dan 5.8.

ED<sub>50</sub> menunjukkan besar dosis yang dapat menghambat 50% pertumbuhan *P.berghei* secara *in vivo*. Semakin kecil harga ED<sub>50</sub>, maka semakin besar efektifitas fraksi uji. Suatu senyawa dapat dikatakan potensial sebagai antimalaria bila memiliki harga ED<sub>50</sub> dalam rentang kurang dari 5-25 mg/ Kg BB (Fidock *et al*,2004). Melalui analisis secara statistik dengan probit terhadap data persen penghambatan yang diperoleh, dihasilkan harga ED<sub>50</sub> fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A.champeden* Spreng sebesar 0,018mg/ Kg BB. Uji aktivitas ekstrak DCM secara intraperitoneal menghasilkan ED<sub>50</sub> sebesar 0,038 mg/ Kg BB. Hasil uji Klorokuin difosfat secara intraperitoneal menghasilkan ED<sub>50</sub> sebesar 0,03004 mg/kg BB mencit (Virianti,2007). Bila dibandingkan dengan harga ED<sub>50</sub> klorokuin difosfat, fraksi II lebih poten dan memenuhi batasan harga ED<sub>50</sub> yang potensial karena kurang dari 5-25 mg/ Kg BB. Oleh karena itu, fraksi II mempunyai potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antimalaria.

## BAB VII

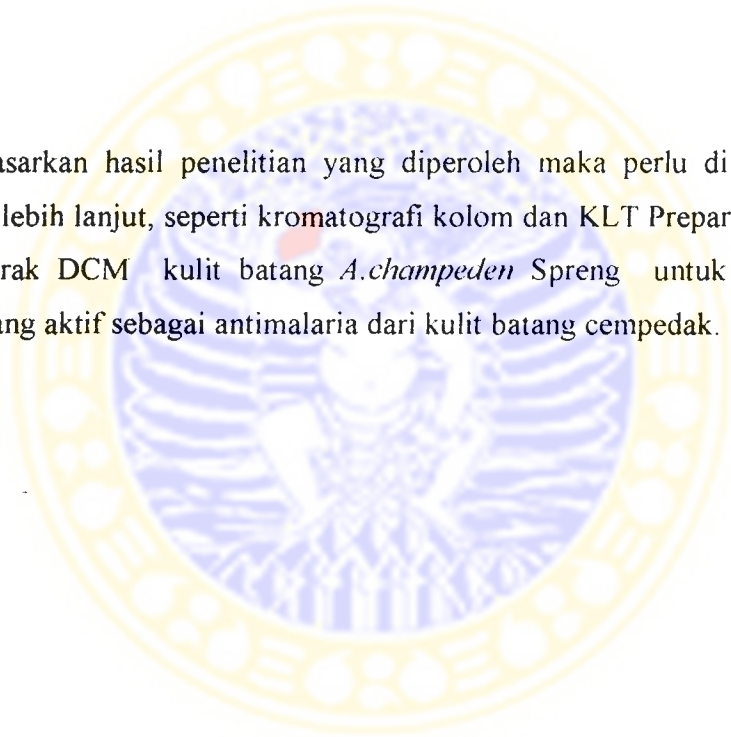
### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Fraksi dari ekstrak DCM memiliki aktivitas antimalaria dengan Fraksi II sebagai fraksi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo* pada mencit dengan harga ED<sub>50</sub> sebesar 0,018 mg / kg BB.

#### 7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka perlu dilakukan suatu pemisahan lebih lanjut, seperti kromatografi kolom dan KLT Preparatif dari fraksi II dari ekstrak DCM kulit batang *A. champeden* Spreng untuk mendapatkan senyawa yang aktif sebagai antimalaria dari kulit batang cempedak.



## DAFTAR PUSTAKA

- Andrade-Neto, V.F., Krettli, A.U., Brandao, M.L., Ferrari, W.M.S. 2001. **The Search for New Antimalarial Drugs from Plants Used to Treat Fever and Malaria or Plants Randomly Selected: a Review**, Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.96 : 8, 1033-1042 Rio de Janeiro.
- Backer, C. A. and Backhuizen Van Den Brink, B. C., 1965. **Flora of Java Vol. II**. Groningen The Netherland : NVP. Noordhoff, hal. 19
- Cannell JP, Richard, 1998. **Method in biotechnology : Natural product isolation**. hal . 4,129-130
- Chen, M., Theander, T.G. et al, 1994. **Licochalcone A, a New Antimalarial Agent, Inhibits In Vitro Growth of the Human Malaria Parasite *Plasmodium falciparum* and Protects Mice from *P. yoelli* Infection**, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 38, hal. 1470 – 1475
- Finegold, S., M., **Laboratory Methods for Diagnosis of Parasite Infections**. 8<sup>th</sup> edition. Bailey and Scotts. hal. 839 – 843
- Finegold, S., M., and Ellen Jo Barone **Diagnostic Microbiology**. 8<sup>th</sup> edition. Bailey and Scotts. hal. 539-544
- Gandahusada, S, 1998. **Parasitologi kedokteran**. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Hal. 178-202.
- Hakim, Euis Holisotan et al. 1998. **Artokarpin dan Heteroflavon-A, Dua senyawa flavonoid bioaktif dari *Artocarpus champeden***. <http://www.lp.itb.ac.id/product/pro-1/syamsul1.html> # artokarpin.
- Heyne, K. 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia II**. Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. Hal. 669 – 670.
- How, J.L., Raju, S.S, Abdullah, S.M, Nor, M.H, and Ravichandran, M. 2004. **Rifampicin Antagonizes The Effect of Chloroquine on Chloroquine Resistant *Plasmodium berghei* in mice**. Jpn. J.Infect. Dis.,57,198-202.
- Imami, Yusnita Fithri. 2005. Uji Aktivitas Antimalaria Fraksi 14 Hasil Pemisahan Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng). terhadap *Plasmodium berghei* secara *In Vivo*. **Skripsi**, Universitas Airlangga, Surabaya.



Leiden University Medical Center (LUMC) 2002. **The *Plasmodium berghei* Research Model of Malaria.** <http://www.lumc.nl/1040/research/malaria/cycle33.html> diakses tanggal 21 Januari 2007

Phillipson, J. D., 1991. Assay for antimalarial and amoebicidal activities. **Methods in Plant Biochemistry**, Volume 6, London : Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich Publisher, p. 140

Rosenthal, P.J., 2003. **Antimalarial Drug Discovery : old and new approaches.** Journal of Experimental Biology 206, 3735-3744. Department of Medicine, University of California, San Fransisco, USA.

Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal Edisi 2.** Surabaya : Airlangga University Press, hal 84 – 86.

Virianti,Gugus. 2007. Aktivitas Antimalaria Fraksi Etil Asetat Daun Johar (*Cassia Siamea* Lamk.) Pada Pertumbuhan *Plasmodium berghei* Pada Mencit. **Skripsi**, Universitas Airlangga Surabaya.

Widyawaruyanti, dkk. (Unpublish,2004). **Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Diklorometana dan Metanol Kulit Batang Cempedak (*Artocarpus champeden* Spreng.)**

World Health Organization, 2006. **Guidelines for the treatment of malaria.** WHO Press, World Health Organization, 20, avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland. <http://www.who.int>. Diakses 4 Maret 2006.

Zaini, N.C., Dachlan, Y.P., Syafrudin. 2005. **Potensi dan Mekanisme Aksi Senyawa Aktif Antimalaria Kulit Batang Cempedak (*A.champeden* Spreng.).** Laporan Penelitian HPTP. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Anonim, 2006. <http://www.en.wikipedia.org/wiki/Malaria>. diakses tanggal 7 Maret 2006

Lampiran 1 : Surat determinasi



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
( Indonesian Institute of Sciences )  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
( Research Center for Biology )

Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16002, Indonesia P.O Box 208 Bogor  
Telp. (0251) 321038 - 321041 Fax. 325854

Bogor, 20 September 2005

Nomor : 786 /IPH.1.02/If.8/2005  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Dra. Aty Widawaryanti, M.Si.**  
Fak. Farmasi Univ. Airlangga  
Jl. Dharmawangsa Dalam, Surabaya  
60286

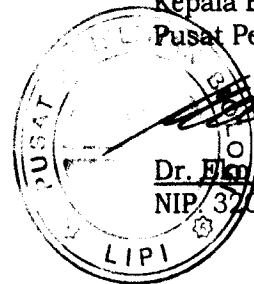
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Cempedak	<i>Artocarpus integer</i> (Thun) Merr.	Moraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,



*[Signature]*  
**Dr. Eka Baroto Walujo**  
NIP. 320001330

## Lampiran 2

### Morfologi *Plasmodium berghei*



Keterangan :

- a. Bentuk cincin (*Ring Form*)
- b. Skizon
- c. Trofozoit muda
- d. Trofozoit dewasa
- e. Gametosit
- f. Multiple infection

### Lampiran 3

#### Pembuatan Larutan Uji Fraksi II dari Ekstrak DCM Kulit Batang Cempedak

❖ Pembuatan Larutan Fraksi II DCM dari *A. champeden* Spreng.:

- Ditimbang 100,00 mg Fraksi II dilarutkan dengan 4 ml DMSO.
- Didapatkan konsentrasi = 25 mg/ ml = 25000 µg/ml ( larutan induk)
- Jumlah yang disuntikkan pada mencit = 100 µl = 0,1 ml

❖ Untuk 0,1 ml =  $0,1 \times 25000 \mu\text{g/ml} = 2500 \mu\text{g/ml}$   
 $= 2,5 \text{ mg} / 25 \text{ g mencit}$   
 $= 100 \text{ mg/kg BB mencit}$

• Untuk Dosis 10 mg/ Kg BB mencit :

❖ Diambil 400 µl + 3600 µl DMSO, sehingga diperoleh :

$$\times 25000 \mu\text{g/ml} = 2500 \mu\text{g/ml}$$

Untuk 0,1 ml =  $0,1 \times 2500 \mu\text{g/ml}$   
 $= 0,25 \text{ mg} / 25 \text{ g mencit} = 10 \text{ mg/kg BB mencit}$

i. Untuk Dosis 1 mg/ Kg BB mencit :

❖ Diambil 400 µl + 3600 µl DMSO, sehingga diperoleh :

$$\times 2500 \mu\text{g/ml} = 250 \mu\text{g/ml}$$

Untuk 0,1 ml =  $0,1 \times 250 \mu\text{g/ml}$   
 $= 0,025 \text{ mg} / 25 \text{ g mencit} = 1 \text{ mg/kg BB mencit}$

i. Untuk Dosis 0,1 mg/ Kg BB mencit :

❖ Diambil 400 µl + 3600 µl DMSO, sehingga diperoleh :

$$\times 250 \mu\text{g/ml} = 25 \mu\text{g/ml}$$

Untuk 0,1 ml =  $0,1 \times 25 \mu\text{g/ml}$   
 $= 0,0025 \text{ mg} / 25 \text{ g mencit} = 0,1 \text{ mg/kg BB mencit}$

i. Untuk Dosis 0,01 mg/ Kg BB mencit :

❖ Diambil 400 µl + 3600 µl DMSO, sehingga diperoleh :

$$\times 25 \mu\text{g/ml} = 2,5 \mu\text{g/ml}$$

Untuk 0,1 ml =  $0,1 \times 2,5 \mu\text{g/ml}$   
 $= 0,00025 \text{ mg} / 25 \text{ g mencit} = 0,01 \text{ mg/kg BB mencit}$

## Lampiran 5

### Penghitungan Persen Pertumbuhan

Untuk mencari harga % pertumbuhan digunakan rumus :

$$\% \text{ pertumbuhan } (X) = \frac{P(d_1-d_0)+P(d_2-d_1)+P(d_3-d_2)+\dots+P(d_N-d_{N-1})}{\sum \text{hari pengamatan} - 1}$$

Keterangan :

$P(d_N-d_{N-1})$  = % parasitemia hari ke – X dikurangi dengan % parasitemia hari sebelumnya.

Contoh perhitungan sebagai berikut :

Data % parasitemia dosis 100 mg/kg BB hari ke1 sampai hari ke 4 adalah :

Replikasi 1 : 0,23 1,18 2,48 2,61 3,09

Replikasi 2 : 0,29 1,53 2,42 2,54 3,12

Replikasi 3 : 0,10 1,02 2,09 2,28 2,87

% pertumbuhan replikasi 1 :

$$= \frac{(1,18 - 0,23) + (2,48 - 1,18) + (2,61 - 2,48) + (3,09 - 2,61)}{4} = 0,72$$

% pertumbuhan replikasi 2 :

$$= \frac{(1,53 - 0,29) + (2,42 - 1,53) + (2,54 - 2,42) + (3,12 - 2,54)}{4} = 0,71$$

% pertumbuhan replikasi 3 :

$$= \frac{(1,02 - 0,10) + (2,09 - 1,02) + (2,28 - 2,09) + (2,87 - 2,28)}{4} = 0,69$$

## Lampiran 6

### Penghitungan Persen Penghambatan

Untuk mencari harga % penghambatan digunakan rumus

$$\% \text{ penghambatan} = 100\% - (X_e / X_k \times 100\%)$$

Keterangan :

$X_e$  = % pertumbuhan parasitemia pada tiap dosis bahan uji

$X_k$  = % pertumbuhan rata-rata parasitemia pada kontrol negatif.

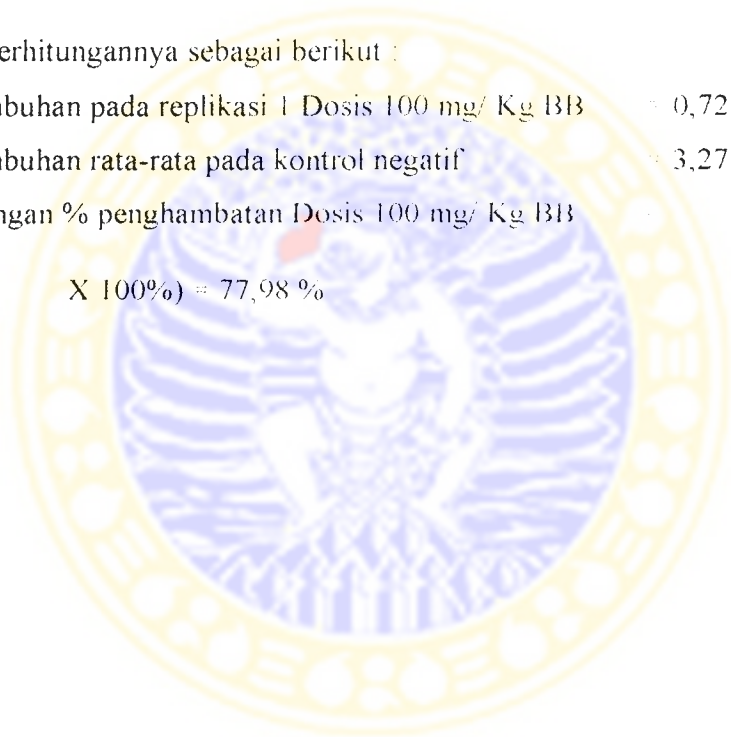
Contoh perhitungannya sebagai berikut :

% pertumbuhan pada replikasi 1 Dosis 100 mg/ Kg BB = 0,72

% pertumbuhan rata-rata pada kontrol negatif = 3,27

Penghitungan % penghambatan Dosis 100 mg/ Kg BB =

$$100\% - (0,72 / 3,27 \times 100\%) = 77,98 \%$$



## Lampiran 7

Hasil Penghitungan Jumlah Eritrosit Terinfeksi dan % Parasitemia Dari Hapusan Darah Tipis Dari Ekor Mencit Pada Uji Aktivitas Antimalaria Selama D0-D6 Dari Fraksi II Ekstrak DCM Cempedak dan Kontrol Negatif Terhadap Mencit BalB/c Terinfeksi *P. berghei*

Dosis	Rep.	Ketr.	Hari						
			D <sub>0</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>
100 mg/kg BB	1.	Σ EI	12/5180	60/5080	126/5075	132/5053	157/5082	384/5250	564/5112
		% P	0,23	1,18	2,48	2,61	3,09	7,31	11,03
	2.	Σ EI	15/5320	44/5160	118/5017	159/5240	165/5025	411/5180	572/5106
		% P	0,10	1,02	2,09	2,28	2,87	7,93	11,21
	3.	Σ EI	9/5181	79/5150	130/5365	130/5120	160/5123	385/5030	684/5110
		% P	0,29	1,53	2,42	2,54	3,12	7,66	13,39
10 mg/kg BB	1.	Σ EI	15/5148	55/5148	137/5451	152/5241	194/5040	527/5147	1037/5368
		% P	0,29	1,07	2,36	2,89	3,84	10,24	19,33
	2.	Σ EI	28/5162	50/5022	150/5208	158/5184	205/5112	705/5032	1102/5160
		% P	0,54	2,99	3,09	3,53	4,01	14,02	21,36
	3.	Σ EI	9/5160	9/5058	156/5943	151/5360	188/5184	723/5472	1048/5100
		% P	0,17	0,18	2,62	2,82	3,62	13,21	20,55
1 mg/kg BB	1.	Σ EI	18/5264	115/5109	119/5150	166/5109	240/5275	533/5017	718/5022
		% P	0,34	2,25	2,31	3,25	4,55	10,62	14,30
	2.	Σ EI	14/5481	156/5035	203/5122	219/5160	253/5049	-	-
		% P	0,25	3,10	3,96	4,24	4,82	xxx	xxx
	3.	Σ EI	20/5112	184/5280	180/5015	197/5112	240/5206	560/5080	638/5152
		% P	0,39	3,48	3,59	3,85	4,61	11,02	12,38
0,1 mg/kg BB	1.	Σ EI	20/5346	115/5082	212/5360	327/5133	401/5136	569/5060	870/5204
		% P	0,37	2,26	3,95	6,37	7,81	11,25	17,04
	2.	Σ EI	28/5130	168/5020	217/5096	352/5146	411/5124	598/5202	864/5112
		% P	0,55	3,35	4,26	6,84	8,03	11,49	16,90
	3.	Σ EI	24/5004	36/5148	187/5062	328/5280	404/5181	479/5104	924/5148
		% P	0,48	0,70	3,69	6,24	7,80	9,38	17,95
0,01 mg/kg BB	1.	Σ EI	18/5019	157/5487	267/5200	301/5304	350/5162	777/5166	990/5126
		% P	0,36	2,87	5,13	5,67	6,79	15,04	19,31
	2.	Σ EI	16/5572	56/550	273/5104	299/5221	380/5350	539/5130	875/5053
		% P	0,29	1,11	5,35	5,73	7,01	10,51	17,32
	3.	Σ EI	25/5058	60/5106	261/5225	281/5356	498/5410	647/5012	800/5184
		% P	0,49	1,18	4,99	5,25	9,21	12,92	15,43
K -	1.	Σ EI	21/5032	106/5032	340/5133	575/5191	762/5076	842/5152	-
		% P	0,42	2,11	6,62	11,08	15,01	16,34	xxx
	2.	Σ EI	7/5418	30/5049	471/5148	528/5010	611/5092	1028/5130	1219/5034
		% P	0,13	0,59	9,15	10,52	11,99	14,26	22,22
	3.	Σ EI	6/5075	20/5130	470/5051	500/5082	653/5047	1245/5020	1258/5052
		% P	0,12	0,39	9,31	9,84	12,94	13,80	24,90

**Keterangan :**

Rep. = replikasi

D0-D6 = hari ke-0 sampai ke-6

$\Sigma EI$  = jumlah eritroit terinfeksi *P.berghei*

% P. = persen parasitemia

K - = kontrol negatif





**Lampiran 8**

**Hasil Analisis Probit Fraksi II Dari Ekstrak Kulit Batang Cempedak**

\*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

DATA Information

15 unweighted cases accepted.  
 0 cases rejected because of missing data.  
 0 cases are in the control group.  
 0 cases rejected because LOG-transform can't be done.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

-----  
 \*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

Parameter estimates converged after 7 iterations.  
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
Dosis	,22361	,02425	9,22251
	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	,38998	,03395	11,48743

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 12,160 DF = 13 P = ,515

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

-----  
 \*\*\*\*\* PROBIT ANALYSIS \*\*\*\*\*  
 \*\*\*\*\*

Observed and Expected Frequencies

Prob	dosis	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual
,79876	2,00	100,0	78,9	79,876	-,976
,79876	2,00	100,0	78,3	79,876	-1,586
,79876	2,00	100,0	77,2	79,876	-2,706
,73026	1,00	100,0	73,7	73,026	,674
,73026	1,00	100,0	73,4	73,026	,364
,73026	1,00	100,0	72,8	73,026	-,246
,65173	,00	100,0	67,9	65,173	2,717
,65173	,00	100,0	67,6	65,173	2,407
,65173	,00	100,0	65,1	65,173	-,033
,56607	-1,00	100,0	63,3	56,607	6,693
,56607	-1,00	100,0	59,5	56,607	2,873
,56607	-1,00	100,0	57,2	56,607	,583
,47718	-2,00	100,0	50,8	47,718	3,042
,47718	-2,00	100,0	48,6	47,718	,902
,47718	-2,00	100,0	33,3	47,718	-14,388

\* \* \* \* \* P R O B I T    A N A L Y S I S \* \* \* \* \*

Confidence Limits for Effective dosis

Prob	Dosis	95 Lower	95 Upper
,01	7,11751E-013	3,88234E-016	9,49843E-011
,02	1,17873E-011	1,36542E-014	9,66013E-010
,03	6,99659E-011	1,30625E-013	4,21057E-009
,04	2,67140E-010	7,13937E-013	,00000
,05	7,94385E-010	2,84151E-012	,00000
,06	2,00852E-009	9,20561E-012	,00000
,07	4,52995E-009	2,57976E-011	,00000
,08	9,38334E-009	6,48951E-011	,00000
,09	,00000	1,50141E-010	,00000