



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PNBP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2008

EFEK ISOLAT AKTIF ANTIMALARIA DARI *Artocarpus champeden*
TERHADAP ERITROSIT TERINFEKSI *Plasmodium falciparum*.

Peneliti:

Tutik Sri wahyuni, MSi. Apt.

Dr. Aty widyawardiyanti, Msi Apt.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh DIPA Penerima Negara Bukan Pajak

Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2008

SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4318/JO3/PG/2008

Tanggal 19 Mei 2008

Nomor Kontrak 667/JO3.2/PG/2008

Tanggal 2 Juli 2008

Nomor Urut 12

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November 2008

2008
KKP
KK
LP 10/09
wah
e



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PNBP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2008

EFEK ISOLAT AKTIF ANTIMALARIA DARI *Artocarpus champeden*
TERHADAP ERITROSIT TERINFEKSI *Plasmodium falciparum*.

Peneliti:

Tutik Sri wahyuni, MSi. Apt.

Dr. Aty widyawaruyanti, Msi Apt.



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh DIPA Penerima Negara Bukan Pajak

Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2008

SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4318/JO3/PG/2008

Tanggal 19 Mei 2008

Nomor Kontrak 667/JO3.2/PG/2008

Tanggal 2 Juli 2008

Nomor Urut 12

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

November 2008



UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
 IDENTITAS DAN PENGESAHAN
 LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

Judul Penelitian
 Efek Isolat Aktif Antimalaria Dari *Arthocarpus champeden* Terhadap Eritosit Terinfeksi *Plasmodium falciparum*.

a. Macam Penelitian : () Fundamental, () Terapan, () Pengembangan, () Institusional
 b. Kategori Penelitian : () I () II () III () IV

Kepala Proyek

a. Nama Lengkap : Tutik Sri Wahyuni, SSi.Apt.
 b. Pangkat / Golongan dan Jabatan : Penata muda (IIIb)/Asisten ahli
 c. NIP : 132 318 593
 d. Fakultas : Fakultas farmasi
 e. Univ/Inst./ Jurusan : Universitas Airlangga
 f. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Farmakognosi- Fitokimia

g. Jumlah Tim Peneliti : 2 Orang
 h. Lokasi Penelitian : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Jangka waktu penelitian : 6 bulan
Biaya yang diperlukan : Rp 10.000.000,-
Jika biaya juga didapat dari sumber / badan lain, sebutkan nama sumber dan jumlahnya. : -

Seminar Hasil Penelitian
 Dilaksanakan Tanggal :
 Hasil Penelitian : () Baik Sekali () Baik
 () Sedang () Kurang

Surabaya, November 2008

Mengetahui/ Mengesahkan:
 a.n Rektor

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
 Universitas Airlangga



Dr. Bambang Sektiari L., DEA.
 NIP 131 837 004

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmadnya hingga dapat diselesaikannya laporan penelitian dengan judul "Efek Isolat Aktif Antimalaria Dari *Arthocarpus champeden* Terhadap Eritosit Terinfeksi *Plasmodium falciparum*". Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, juga kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga yang menyandang dana untuk penelitian ini. Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu saran dan kritik serta bantuan dari pihak terkait sangat diharapkan. Penulis berharap semoga penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, November 2008

Penulis

RINGKASAN

Efek Isolat Aktif Antimalaria Dari *Artocarpus champeden* Terhadap Eritrosit Terinfeksi *Plasmodium falciparum*.

Tutik Sri wahyuni, Aty widyawardiyanti
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2008

Malaria merupakan penyakit endemik yang mengancam jutaan manusia setiap tahunnya. Di Indonesia, menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, terdapat 70 juta penduduk tinggal di daerah endemik malaria dan 56,3 juta penduduk diantaranya tinggal di daerah endemik malaria sedang sampai tinggi dengan 15 juta kasus malaria klinis (DepKes, 2004).

Komponen dari tanaman merupakan salah satu yang ditawarkan dalam upaya menemukan obat antimalaria. Di Indonesia, salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria adalah *Artocarpus champeden* Spreng (cempedak). *Artocarpus* merupakan genus utama dari familia Moraceae (lebih kurang 60 spesies) merupakan genus yang menghasilkan beraneka ragam senyawa fenol yang mengandung substituen isoprenil. Golongan senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar yang dapat dalam tumbuhan dan telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis dan farmakologis diantaranya sebagai antimalaria.

Penelitian diawali dengan ekstraksi dan isolasi kulit batang cempedak untuk mendapatkan isolat yang aktif sebagai antimalaria. Kulit batang *A.champeden* diekstraksi berturut-turut dengan hexana, diklorometana, dan metanol. Komponen yang terlarut dalam diklorometana diisolasi secara kromatografi. Selanjutnya Isolat yang diperoleh diuji aktivitasnya sebagai antimalaria dan dilakukan pengujian pengaruh isolat yang aktif tersebut terhadap eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum* dengan menggunakan mikroskop cahaya dan mikroskop elektron (SEM).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi ekstrak diklorometana menghasilkan isolat yang aktif sebagai antimalaria dengan IC50 : 0,0685 µg/mL. Pengaruh isolat aktif antimalaria tersebut terhadap eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dilakukan melalui pengamatan dengan mikroskop cahaya dan elektron (SEM). Pengamatan dengan mikroskop cahaya dapat mengetahui perkembangan sel parasit yang menginfeksi eritrosit, sedangkan pengamatan dengan SEM dapat diamati ada tidaknya knob pada permukaan sel eritrosit yang terinfeksi *falciparum*.

Berdasarkan pengamatan dengan mikroskop cahaya menunjukkan adanya penghambatan perkembangan *P.falciparum* yang menginfeksi eritrosit, dimana terjadi perlambatan perkembangan sel parasit dari ring ke trophozoit. Sedangkan pengamatan dengan mikroskop elektron/ *scanning electron microscope* (SEM) menunjukkan adanya perbedaan kondisi permukaan eritrosit antara kontrol negatif dengan zat uji (eritrosit terinfeksi *P.falciparum* yang telah diberi isolat). Pengamatan dengan SEM dilakukan pada perbesaran 10000 kali dan hasil pengamatan menunjukkan bahwa kontrol negatif pada jam ke-24 tampak adanya tonjolan (*knob*), sedangkan pada zat uji tonjolan (*knob*) tidak tampak jelas sebagaimana pada kontrol negatif.

Adanya perubahan morfologi dapat dikaitkan dengan mekanisme dan target obat malaria dalam membunuh parasit. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa isolasi ekstrak diklorometana menghasilkan isolat yang aktif sebagai antimalaria dan berpengaruh pada sel eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dengan menghambat perkembangan sel parasit dari fase ring ke trophozoit dan menghambat pembentukan *knob* pada permukaan membran eritrosit.

SUMMARY

The effect of active Antimalarial isolate of *Artocarpus champeden* to *Plasmodium falciparum* infected Erythrocyte

Tutik Sri wahyuni, Aty widyawaruyati

Malaria is an endemic diseases infected million people annually. In Indonesia, at 2001, estimated that 70 million people stay on malaria endemic area and more than 56 million people live in high risk endemic area underground 15 million cases of malaria clinical.

Plant-derived compound offer an approach to antimalarial chemotherapy. *Artocarpus champeden* is Indonesian plant that has been used as antimalarial drug traditionally. *Artocarpus* is moraceae family contains fenol compound with isoprenyl substituen. Flavonoid and phenol compound that were reported active as antimalarial drug.

In this research, we will analyze antimalarial activity of isolate and followed by determine the effect of isolate by light microscope and electron microscope (scanning electron microscope/SEM).

Firstly, the stem bark of *A.champeden* was extracted successively with hexane, chloroform, and MeOH. The dichlorometane soluble material was isolated by chromatography technique. The antimalarial activity of isolate compound was determined by *invitro* procedure. The effect of active isolate on *P.falciparum* infected erythrocyte was determined by light microscope and electron microscope (SEM).

The result of this research showed that isolate of *A.champeden* active as antimalarial against *P.falciparum*, IC_{50} $IC_{50} : 0,0685 \mu\text{g/mL}$. The effect of active isolate on *P.falciparum* infected erythrocyte were analyzed by light microscope and electron microscope. By light microscope showed that isolate delayed parasite development from ring stage to trophozoite stage. The scanning electron microscope (SEM) analysis showed that isolate inhibited knob formation on erythrocyte membrane.

The effect on parasite or erythrocyte morphology predicted the mechanism and drug target of malarial drug. According to the result concluded that isolate of dichloromethane extract active as Antimalarial against *P.falciparum* and delayed the parasite development from ring stage to trophozoite stage and inhibited on knob formation of *P.falciparum* infected erythrocyte membrane.

DAFTAR ISI

EMBAR PENGESAHAN.....	ii
ATA PENGANTAR	iii
INGKASAN.....	iv
JMMARY	vi
AFTAR ISI	vii
AFTAR GAMBAR.....	ix
AB 1 PENDAHULUAN	1
AB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tinjauan Tentang <i>A. champeden</i>	4
2.2 Tinjauan Tentang Aktivitas Antimalaria <i>A.champeden</i>	4
2.3 Tinjauan Tentang Malaria	5
2.3.1 Malaria Secara Global	5
2.3.2 Tinjauan Tentang <i>P.falciparum</i>	5
2.3.3 Tinjauan Tentang Eritrosit Terinfeksi <i>P.falciparum</i>	10
B 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	12
.1. Tujuan Penelitian	12
.2 Manfaat Penelitian	12
B 4 METODE PENELITIAN	13
.1 Persiapan bahan dan Instrument Penelitian:.....	13
.2 Prosedur Penelitian.....	14
4.2.1. Pembuatan ekstrak diklorometan	14
4.2.2. Fraksinasi Ekstrak Diklorometana dengan Kromatografi Kolom.....	14
4.2.3. Pemisahan Fraksi Aktif Diklorometan dengan <i>Preparatif Thin Layer Chromatography</i> (PTLC).....	15
4.2.4. Identifikasi Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	15
4.2.5. Identifikasi dengan Densitometer.....	15
4.2.6. Prosedur Pengujian Aktivitas Antimalaria secara <i>in vitro</i>	15
4.2.7. Pengujian Dengan Mikroskop Cahaya dan <i>Scanning Electrone Microscope</i>	19
5 HASIL PENELITIAN.....	20
Hasil ekstraksi kulit batang <i>A.champeden</i> spreng.....	20

5.2 Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Dan Pemurnian	20
5.3 Hasil Identifikasi Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis	20
5.4 Identifikasi dengan Densitometer	21
5.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria secara <i>in vitro</i>	22
5.6 Hasil Pengamatan dengan mikroskop Cahaya.....	23
5.7 Hasil Pengamatan dengan mikroskop elektron.....	24
BAB 6 PEMBAHASAN.....	25
BAB 7 KESIMPULAN.....	28
DAFTAR KÉPUSTAKAAN	29
CURICULUM VITAE.....	31

DAFTAR GAMBAR

ambar 1.	Siklus hidup parasit malaria <i>P. falciparum</i> (CDC, 2005).....	7
ambar 2.	Morfologi <i>P.falciparum</i>	9
ambar 3.	Gambaran morfologi membran eritrosit dengan <i>scanning electron microscope</i> pada perbesaran 18000 kali (a) Membran eritrosit yang tidak terinfeksi (b) membran eritrosit terinfeksi, tonjolan pada permukaan membran eritrosit disebut knobs.....	11
ambar 4.	Hasil ekstraksi dan isolasi.....	20
ambar 5.	Kromatogram hasil KLT Isolat menggunakan fase diam lempeng KLT silika gel GF254, fase gerak kloroform – metanol (95:5) dan penampak noda serri sulfat 1%.	21
ambar 6.	Spektra isolat dengan KLT densitometri.	21
ambar 7.	Pengamatan eritrosit terinfeksi <i>P.falciparum</i> dengan mikroskop cahaya.....	23
ambar 8.	Pengamatan eritrosit terinfeksi <i>P.falciparum</i> dengan <i>Scanning Electrone Microscope</i> perbesaran 10000 kali.....	24

BAB 1

PENDAHULUAN

Malaria merupakan satu dari penyakit yang membutuhkan perhatian besar di dunia, yang mengancam jutaan manusia setiap tahun. Malaria merupakan penyakit endemik di Asia Tenggara, Amerika selatan dan tengah. Afrika, India dan Brazil merupakan daerah endemik tertinggi di dunia (Trigg, 1998). Berdasarkan data WHO lebih dari 90 % kasus terjadi di Sub-Sahara Afrika menyebabkan lebih dari dua juta orang meninggal setiap tahun. Di Indonesia, menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, terdapat 70 juta penduduk tinggal di daerah endemik malaria dan 56,3 juta penduduk diantaranya tinggal di daerah endemik malaria sedang sampai tinggi dengan 15 juta kasus malaria klinis. Pada 2003 malaria tersebar di 6.053 desa pada 226 kabupaten di 30 provinsi. Meskipun insiden malaria sejak tahun 2000 cenderung menurun, tetapi masih terjadi Kejadian Luar Biasa (KLB=outbreak) malaria pada 7 propinsi yang menyerang 35 desa dan menyebabkan kematian sebesar 211 orang penduduk (DepKes, 2004).

Usaha penanggulangan terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan, baik dengan obat antimalaria sintesis maupun bahan alam. Kontribusi utama tingkat kejadian dan kematian akibat malaria adalah terjadinya resistensi parasit malaria terhadap obat-obat malaria yang ada. Resistensi terutama terjadi terhadap *P. falcifarum*, parasit malaria yang paling membahayakan (Rosental, 2003).

Komponen dari tanaman merupakan salah satu yang ditawarkan dalam upaya menemukan obat antimalaria. Suksesnya penemuan terhadap artemisinin dan quinine sebagai obat antimalaria yang poten, mendorong ditemukannya senyawa-senyawa baru dari tanaman yang potensial sebagai antimalaria. Studi *ethnopharmacological* dari sumber-sumber antimalaria baru dari tanaman banyak dilakukan. Sampai saat ini telah diketahui beberapa senyawa baru hasil isolasi tanaman obat dari golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid dan saponin yang memiliki aktivitas antimalaria (Saxena *et al.*, 2003).

Di Indonesia, salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria adalah *Artocarpus champeden* Spreng (cempedak). Di Irian Jaya, secara empiris batang tanaman ini telah digunakan untuk mengobati penyakit malaria disamping untuk mengobati disentri dan penyakit kulit (Hakim *et al.*, 1998).

Artocarpus merupakan genus utama dari familia Moraceae (lebih kurang 60 spesies) merupakan genus yang menghasilkan beraneka ragam senyawa fenol yang mengandung gugus isoprenil. Golongan senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar yang



apat dalam tumbuhan dan telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis dan farmakologis. Penelitian yang telah dilakukan Hakim dkk (1998), menunjukkan bahwa kulit mangrove mengandung senyawa utama golongan flavonoid antara lain artokarpin, xanthone, flavanon-A, senyawa baru siklocampedol, triterpen antara lain sikloeukalenol, glutinol, pteronon, dan 24-metilensikloartanon, serta suatu sterol, β -sitosterol (Achmad, 2004). Isolasi terhadap ekstrak diklorometana didapatkan isolat yang aktif sebagai antimalaria dengan IC_{50} : $0,024 \pm 0,011 \mu\text{g/ml}$ (Nuri, 2006). Penelitian selanjutnya isolasi terhadap ekstrak diklorometan *A.champeden* didapatkan sembilan isolat. Hasil uji antimalaria *in vitro* pada isolat-isolat tersebut menunjukkan bahwa delapan dari sembilan isolat ekstrak diklorometana tersebut mampu menghambat pertumbuhan *P. falciparum* dengan IC_{50} pada Isolat 1 : $0,2800 \mu\text{g/ml}$; isolat 2: $0,0083 \mu\text{g/ml}$; isolat 3: $26,2350 \mu\text{g/ml}$; Isolat 4: $0,0156 \mu\text{g/ml}$; Isolat 5 : $0,5245 \mu\text{g/ml}$; Isolat 6: $0,0006 \mu\text{g/ml}$; Isolat 7: $0,0800 \mu\text{g/ml}$; isolat 8: $0,0066 \mu\text{g/ml}$; Isolat 9: $0,4999 \mu\text{g/ml}$ (Zaini, 2005). Suatu obat atau bahan obat dianggap memiliki aktivitas antimalaria jika memiliki IC_{50} kurang dari $1 \mu\text{M}$ pada uji antimalaria *in vitro* dan dosis dari 5 -25 mg/kg BB mencit pada uji *in vivo* (Fidock, 2004). Berdasarkan hal tersebut ekstrak *A.champeden* mengandung senyawa yang aktif sebagai antimalaria.

Salah satu pendekatan yang paling inovatif pada penemuan obat antimalaria adalah dengan mengidentifikasi target baru dan kemudian mencari senyawa-senyawa baru yang mempunyai mekanisme aksi terhadap target yang potensial. Menurut Biagini et al (2003) dan Rosenthal et al (2003) beberapa lokasi target obat antimalaria adalah pada sitosol, membran parasit, membran makanan, mitokondria dan apicoplast dengan melalui beberapa mekanisme antara lain pemecahan protein sel pada hospes, *transporter* parasit, kontrol siklus sel dan reseptor membran. Senyawa bioflavonoid mempunyai target utama pada membran sel parasit yang menghambat transport nutrisi yang dibutuhkan parasit dan pada vakuola makanan parasit. Obat antimalaria dengan menghambat proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme (Sherman *et al.*, 2006; Biagini *et al.*, 2003; Sherman, 1998).

Dalam kondisi normal, pertumbuhan parasit *P.falciparum* pada fase intraeritrositik akan berlangsung dari ring, trophozoit, schizont dan selanjutnya terbentuk merozoit yang akan berinfeksi pada sel eritrosit yang baru. Merozoit mengikat pada permukaan eritrosit dengan menggunakan reseptor sehingga aspek kutub melekat pada eritrosit secara tegak lurus terhadap permukaan eritrosit, merozoit masuk kemudian membran eritrosit berfungsi menutup vakuola parasit. Pada daerah sekitar parasit terjadi pembentukan membran tambahan yang mengelilingi parasit disebut membran *parasitophorous*. Akibat invasi parasit pada eritrosit terjadi terjadinya perubahan pada sel eritrosit terinfeksi yaitu dengan timbulnya *knob*.

merupakan tonjolan yang berkembang pada membran eritrosit yang terinfeksi dan berperan sebagai perantara perlekatan sel eritrosit terinfeksi dengan sel endotel yang dapat mengakibatkan timbulnya sitoadherens. Sitoadherens merupakan suatu proses dimana sel infeksi matur secara spesifik terikat pada sel endotel dan memainkan suatu peran sentral dalam patogenesis malaria *P.falciparum* (Sutisna, 2003).

Perubahan fungsi dan morfologi eritrosit terinfeksi selama perkembangan intraseluler berkaitan dengan peranan parasit malaria untuk mengubah permeabilitas membran eritrosit terhadap protein parasit dan *hospes*. Perubahan morfologi yang terjadi terkait dengan timbulnya berbagai komplikasi dari penyakit malaria. Untuk mengetahui perubahan morfologi parasit malaria dapat digunakan mikroskop elektron. Untuk mengetahui perubahan pada permukaan sel dapat digunakan metode *Scanning Electron Microscope* (SEM) (Torii & Iwama, 1998).

Pemberian obat antimalaria pada eritrosit yang terinfeksi parasit dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perubahan morfologi sel parasit (Philipson, 1991). Perubahan morfologi tersebut dapat dikaitkan dengan mekanisme dan target dari obat malaria untuk membunuh parasit. Pada pemberian dipiridamol yang merupakan senyawa efektif terhadap *P.falciparum* dengan IC_{50} 30 nM menunjukkan efektif terhadap parasit pada fase trophozoid, skizon dan menginduksi perubahan struktur pada saat perkembangan parasit trophozoit ke skizon secara *in vitro*. Dpiridamol juga menghambat invasi merozoit ke eritrosit, dipiridamol berikatan dengan membran eritrosit mengblok reseptor merozoit (Akaki & Hoshino, 2002). Pada pemberian Klorokuin terjadi pembengkakan vakuola makanan parasit dan penggumpalan pigmen. Hal ini disebabkan oleh kerja klorokuin menghambat polimerase α (menghasilkan akumulasi heme bebas yang menimbulkan kerusakan membran, menghambat aktivitas enzim yang mendegradasi hemoglobin sehingga akan berakibat pada kematian parasit (Fidock, 2003).

Berdasarkan hal di atas maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh Isolat *A.champeden* yang telah diketahui aktif sebagai antimalaria terhadap eritrosit terinfeksi *P.falciparum*. Penelitian dimulai dengan isolasi terhadap ekstrak diklorometana *A.champeden* kemudian dilakukan uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* terhadap isolat tersebut. Untuk itu isolat yang aktif sebagai antimalaria diuji pengaruhnya pada eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dengan mikroskop cahaya dan mikroskop elektron *scanning electron microscope* (SEM). Gambaran morfologi sel terinfeksi pada zat uji dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif (klorokuin).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

1 Tinjauan Tentang *A. champeden*

A. champeden merupakan tanaman dari genus *Artocarpus*, suku *Moraceae*. Dibeberapa daerah tanaman ini dikenal dengan nama campedak, cempedak, angka beurit (Sunda), cempedak (Papua), campedak, cepedak, cempedak, angka cina (Jawa), angka comedak, campedak, cempedak (Madura) (Steenis 1978; Backer 1965).

Batangnya membulat dengan banyak getah. Kayunya yang berwarna kuning tua sampai hitam sangat keras, kuat dan dapat digunakan sebagai bahan bangunan. Daunnya merupakan jenis daun berbentuk eliptis sampai memanjang atau bulat telur terbalik 10-25 x 5-10 cm dengan tangkai 1-3 cm, terdapat banyak trikoma pada bagian tulang daun, pangkal daun melebar. Dan menyempit, tepi rata,, bagian atas daun mengkilat, berwarna hijau tua. Daun muda bulat telur memanjang. Sedangkan buahnya merupakan buah semu kerap kali menggantung pada cabang, berbentuk silindris memanjang dengan bau menusuk, bertonjolan dengan tonjolan piramidal, segi 4-7. Bijinya panjang (2-3 cm), diliputi oleh semacam lapisan berlubang biji berwarna kuning tua, lembut, tipis, mengandung banyak air dan terasa manis (Steenis, 1987, Heyne, 1987).

Buah dan biji tanaman ini digunakan sebagai bahan pangan sedangkan beberapa bagian tanaman lain digunakan untuk ramuan tradisional ,antara lain sebagai obat demam, disentri, demam dan penyakit kulit (Hakim *et al.*, 1998).

Menurut Achmad (2004) dan Hakim (2006), *A. champeden* mengandung beberapa jenis flavonoid yang dapat dikelompokkan menjadi tujuh macam, yaitu flavanone (artocarpanon, artoindonesianin E dan heteroflavanon A), flavon (norartocarpetin), 3-prenilflavon (artocarpin, kudraflavon C, artoindonesianin Q, artoindonesianin R, artoindonesianin U dan artoindonesianin filin), oksepinoflavon (artoindonesianin B, artonin A, chaplashin), piranoflavon (artocmunol, siklokomunin, sikloartocarpin, siklocampedol, artoindonesianin, 5'-sikloartocarpin, sikudraflavon dan sikloheterofilin), dihidrobenzosanton (artoindonesianin T, artoindonesianin S, artoindonesianin V, artonin B), furanodihidrobenzosanton (artoindonesianin M, artonin A dan artoindonesianin A).

Tinjauan Tentang Aktivitas Antimalaria *A. champeden*

Penelitian terhadap *A. champeden* Spreng. yang berkaitan dengan aktivitasnya pada malaria telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Dhani *et al.* (2003) meneliti aktivitas

rak metanol dan mendapatkan hasil bahwa ekstrak metanol mampu menghambat pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo* pada mencit coba. Agriana dan kawan-kawan meneliti aktivitas fraksi kloroform secara *in vivo* dan hasilnya menunjukkan bahwa fraksi kloroform memiliki aktivitas antiplasmodial pada mencit yang diinfeksi *P. berghei*. Penelitian yang dilakukan oleh Widyawaruyanti dan kawan-kawan menunjukkan bahwa ekstrak krometana kulit batang *A. champeden* memiliki aktivitas antimalaria *in vitro* pada *P. falciparum* dengan nilai ED_{50} 4,86043 $\mu\text{g/ml}$ dan *in vivo* pada *P. berghei* dengan nilai ED_{50} 324 mg/kg berat badan.

Tinjauan Tentang Malaria

Malaria Secara Global

Malaria merupakan penyakit akut dan kronik yang disebabkan oleh adanya protozoa *Plasmodium* dalam sel. Penyakit ini berada pada prevalensi tinggi tiap tahun yang menyebabkan kematian penduduk sekitar 1-2 juta orang dengan 300- 500 juta orang terinfeksi. Penyakit ini lebih banyak terjadi pada negara miskin dan negara berkembang Afrika prevalensi penyakit lebih tinggi di bandingkan di negara lain. Kasus-kasus yang juga terjadi di Asia Timur, China dan India, diperkirakan 40% kasus malaria disebabkan karena *P. falciparum* (Saxena *et al.* , 2003).

Tinjauan Tentang *P.falciparum*

Dikenal ada 4 spesies yang menyebabkan malaria pada manusia yaitu *P. malariae*, *P. falciparum* dan *P. ovale*. Parasit ditularkan ke manusia melalui gigitan nyamuk dari jenis *Anopheles*. Diantara keempat spesies tersebut *P. falciparum* merupakan yang paling berbahaya yang menyebabkan sebagian besar malaria berat. Beberapa setelah parasit menginfeksi *hospes* karena gigitan nyamuk, parasit masuk ke hati dan menyerang hepatosit kemudian mengalami multiplikasi dengan cepat. Ribuan merozoit keluar dari hati menyerang sel-sel darah merah. Malaria berat terjadi sesudah proliferasi di dalam eritrosit. Parasit yang menginfeksi *hospes* dalam tingkat parasitemia yang berat menyebabkan akumulasi sel-sel parasit pada ujung-ujung kapiler mikrovaskular dan memblok aliran darah sehingga mengurangi suplai oksigen lokal dalam tubuh dan ulkan berbagai kasus berat pada manusia (Sherman, 1998).

Kelompok hidup *Plasmodium* terdiri dua fase, yaitu fase seksual (*sporogony*) yang berlangsung dan memperbanyak diri dalam tubuh nyamuk *Anopheles* betina dan fase aseksual (*gametogony*) mengalami perbanyakannya pada *hospes* manusia yang terdiri dari dua bagian yaitu

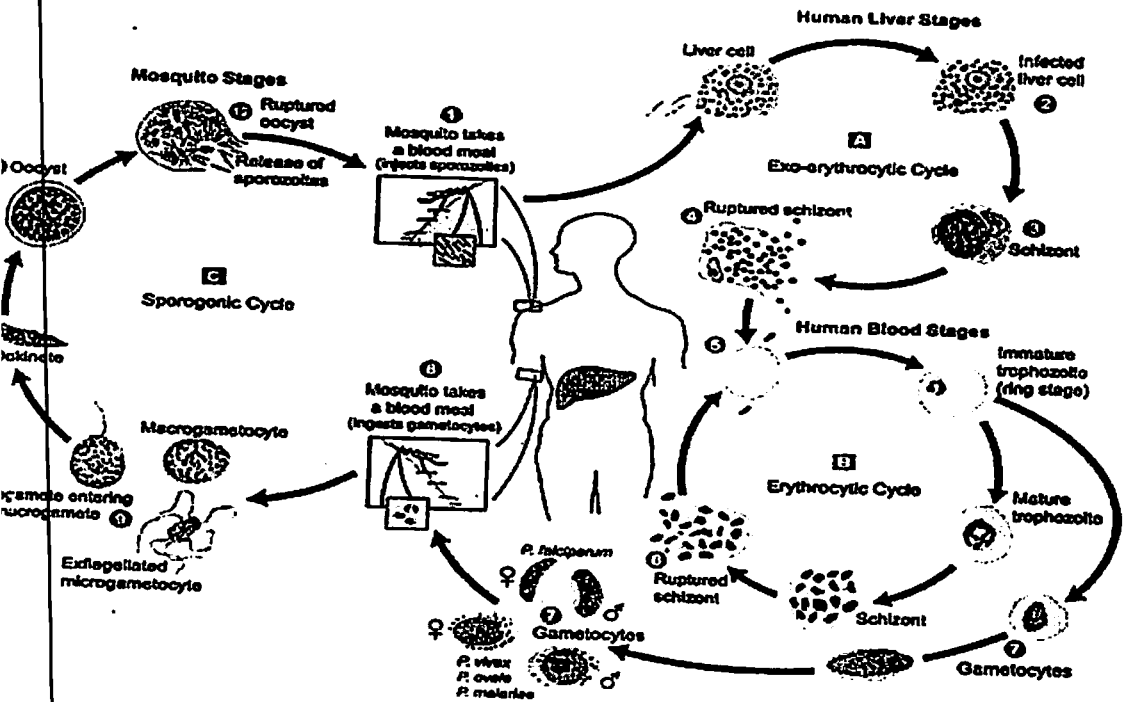
ogoni pada sel hati (*pre-erythrocytic schizogony*=*liver stage*) atau fase jaringan dan ogoni dalam sel darah merah (*erythrocytic schizogony*=*blood stage*) atau fase eritrositik.

Siklus hidup parasit malaria dimulai ketika nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah manusia ❶ dan memasukkan sporozoit yang terdapat pada air liurnya. Melalui aliran darah dalam beberapa menit kemudian ($\pm \frac{1}{2}$ -1 jam) semua sporozoit menghilang dari peredaran darah, masuk dan segera menginfeksi sel hati ❷. Sporozoit di dalam sel-sel hati akan mengalami reproduksi aseksual dan kemudian berkembang menjadi skizon ❸. Keseluruhan proses ini disebut sebagai proses skizogoni (*exo-erythrocytic schizogony* ❹) yang akan menghasilkan ± 30.000 parasit anak yaitu merozoit ❺. Kemudian merozoit-merozoit ini akan berpindah dari sel hati dan selanjutnya menginfeksi sel darah merah (eritrosit ❻) (Sutisna, 2003; Harijanto, 2000; Sherman, 1998).

Merozoit-merozoit yang dilepaskan dari sel hati, di dalam sel darah merah akan berubah menjadi trofozoit muda (berbentuk cincin). Trofozoit muda kemudian tumbuh menjadi trofozoit dewasa dan selanjutnya membelah diri menjadi skizon. Skizon yang sudah matang, akan pecah bersama sel darah merah yang diinfeksi. Merozoit-merozoit ❻ yang dilepas akan kembali menginfeksi sel-sel darah merah baru yang akan mengulang siklus tadi. Keseluruhan siklus yang terjadi berulang dalam sel darah merah disebut siklus eritrositik (*erythrocytic schizogony* ❷) (Sutisna, 2003; Harijanto, 2000; Sherman, 1998).

Setelah siklus eritrositik berulang beberapa kali, beberapa merozoit tidak lagi menjadi trofozoit tetapi berubah menjadi gametosit ❸ di dalam sel darah merah, yang terdiri dari gametosit jantan (mikrogametosit) dan gametosit betina (makrogametosit). Siklus terakhir ini disebut siklus seksual / *sporogony* ❹. Jika gametosit matang dihisap oleh nyamuk *Anopheles* dalam usus nyamuk akan terjadi proses eksflagelasi pada gametosit jantan yang aktif mencari sel gamet betina. Selanjutnya terjadi pembuahan antara satu sel gamet jantan (mikrogamet) dengan satu sel gamet betina (makrogamet) menghasilkan zigot ❺ yang akan memanjang, lalu berubah menjadi ookinet ❻ yang bentuknya vermiformis dan aktif. Ookinet berpindah dari dinding usus tengah (*midgut*) nyamuk, menembus dinding usus dan sampai di permukaan luar usus. Kemudian ookinet akan berada di lamina basalis yang merupakan lapisan matriks ekstraselular yang memisahkan hemosel dari usus. Selama beberapa hari di lamina basalis, akan terjadi pematangan ookinet menjadi oosist ❼. Sesudah beberapa kali mengalami mitosis, oosist akan mengandung sampai 10.000 sporozoit yang selanjutnya oosist akan pecah dan melepaskan sporozoit ❽ ke dalam sirkulasi, bergerak

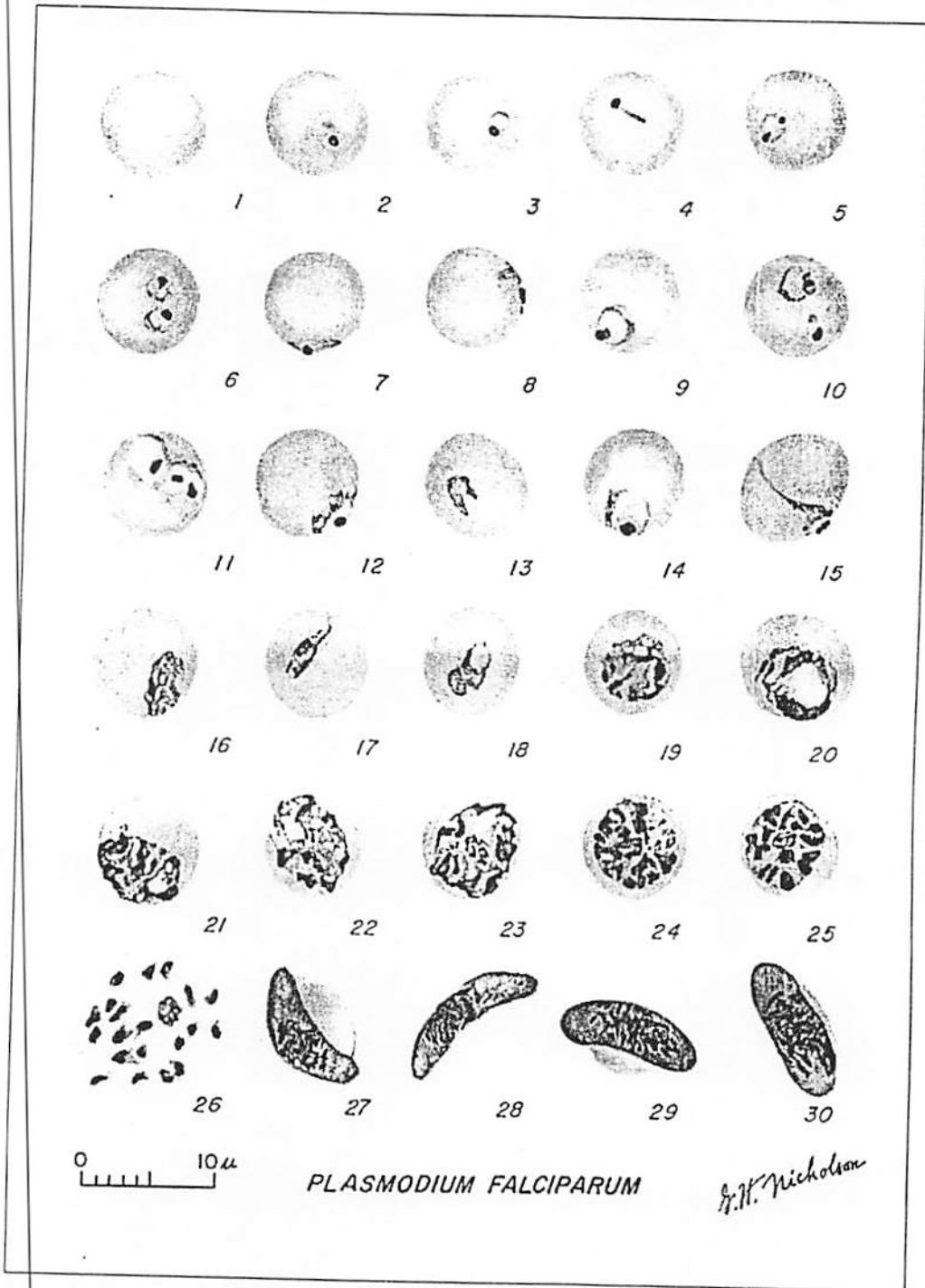
menuju kelenjar ludah nyamuk yang kelak akan dilepaskan sewaktu menghisap darah manusia (Sutisna, 2003 ; Harijanto, 2000).



Gambar 1. Siklus hidup parasit malaria *P. falciparum* (CDC, 2005).

Parasit malaria *P. falciparum* memiliki beberapa bentuk morfologi pada fase *erythrocytic schizogony*, yaitu trofozoit muda berbentuk cincin (*ring*) sangat kecil dan halus dengan ukuran kira-kira 1/6 diameter eritrosit. Terdapat nukleus berbentuk ireguler, granuler, terdiri dari kromatin berwarna merah berbentuk seperti filamen. Sitoplasma berbentuk ireguler berwarna biru dengan granula-granul berwarna merah jambu. Selanjutnya nukleus trofozoit membelah sampai 3-5 kali menjadi inti-inti kecil, disusul dengan pembelahan sitoplasma maka terbentuklah skizon. Skizon berbentuk lonjong / bulat berukuran kira-kira 30 mikron. Skizon muda dikenal dengan mudah oleh adanya satu atau dua butir pigmen yang menggumpal, mengandung bercak-bercak merah dengan distribusi ireguler atau berbentuk elah-celah (sering disebut titik-titik maurer / *Maurer's clefts*) yang tersebar pada 2/3 bagian eritrosit. Skizon yang matang umumnya mengandung 16-20 merozoit yang kecil. Gametosit bercirikan sitoplasma kompak, berinti tunggal dan tidak ada pembelahan nukleus. Gametosit betina (makrogametosit) biasanya lebih langsing dan lebih panjang dibandingkan gametosit jantan (mikrogametosit), sitoplasma pada pewarnaan tercat lebih gelap, nukleus tampak padat dan kecil. Mikrogametosit bercirikan bentuk yang lebih lebar seperti sosis, sitoplasma berwarna biru muda atau merah jambu, nukleus lebih besar dan tidak padat. Keduanya mengandung banyak granula-granula pigmen. Gametosit muda *P. falciparum* berbentuk agak lonjong kemudian menjadi lebih panjang atau agak elips, sedangkan gametosit yang matang berbentuk pisang atau sering dinamakan *crescent* (bulan sabit). (Gandahasada, 1992; Wijanto, 2000; Sutisna, 2003)

Gambaran morfologi plasmodium falciparum dapat dilihat pada gambar 2 berikut.



Gambar 2. Morfologi P.falciparum

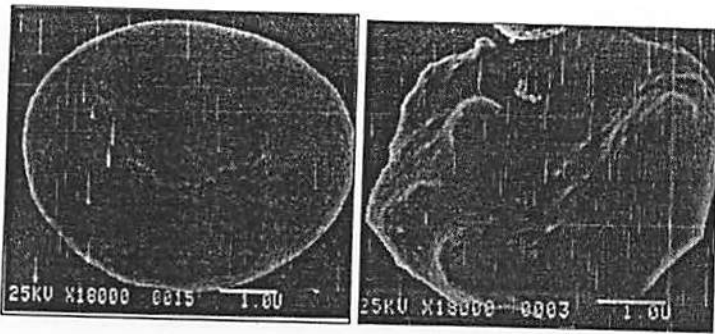
1. Sel darah merah normal; 2-18 trofozoit (2-10 , bentuk trofozoit muda); 19-26 Skizon (26 merupakan Skizon yang sudah pecah); 27-28 mature *macrogametocytes* (gametosit betina); 29-30 matur *mikrogametocytes* (gametosit jantan)(Coatney GR, 1971).

2.3.3 Tinjauan Tentang Eritrosit Terinfeksi *P.falciparum*

Eritrosit terinfeksi parasit dapat mengalami perubahan morfologi. Membran eritrosit yang terinfeksi menjadi rapuh dan terbentuk tonjolan-tonjolan yang selanjutnya membentuk cytoadherence sebagai mekanisme pertahanan parasit. Di dalam eritrosit parasit akan berkembang yang diawali dengan fase cincin kemudian trofozoit muda dimana pada fase ini telah terjadi pemecahan hemoglobin yang ditunjukkan adanya hemozoin pada vakuola makanan. Selanjutnya parasit akan berkembang menjadi trofozoit dan menginduksi terbentuknya knob pada permukaan eritrosit hospes. Kemudian berkembang menjadi skizon dan parasit akan membelah menjadi merozoit-merozoit yang akan menginfeksi eritrosit baru (Marti *et al.*, 2005).

Aktivitas antimalaria suatu obat ditunjukkan oleh adanya hambatan pada proses pertumbuhan parasit. Beberapa obat yang aktif antimalaria dilaporkan dapat menyebabkan perubahan morfologi pada eritrosit yang terinfeksi. Klorokuin yang telah digunakan sebagai antimalaria menunjukkan hambatan proliferasi heme menjadi hemozoin. Efek morfologi obat adalah terjadi pembengkakan pada vakuola makanan dan penggumpalan pigmen (Sullivan *et al.*, 1996). Mekanisme kerja obat malaria yang lain ditunjukkan oleh dipiridamol yang menghambat perkembangan parasit dengan menghambat transpor protein masuk ke dalam parasit (Akaki *et al.*, 2002).

Pengamatan terhadap perubahan morfologi yang terjadi selama proses perkembangan parasit dapat dilakukan secara mikroskopis baik dengan mikroskop cahaya maupun dengan mikroskop elektron. Pengamatan dengan mikroskop cahaya pada pewarnaan Giemsa dapat melihat perubahan bentuk sel parasit mulai dari fase ring sampai dengan skizon, dan pada fase skizon dapat diamati adanya pigmen hemozoin. Pengamatan dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) memberikan gambaran pada permukaan zat uji (Bazzola & Russell, 1999). Eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum* pada pengamatan dengan SEM memperlihatkan permukaan membran eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum*, memperlihatkan adanya tonjolan-tonjolan yang disebut sebagai *knobs* (Guenburg *et al.*, 1983; Langreth *et al.*, 1984; Sherman, 1983).



bar 3. Gambaran morfologi membran eritrosit dengan scanning electron microscope pada perbesaran 18000 kali (a) Membran eritrosit yang tidak terinfeksi (b) membran eritrosit terinfeksi, tonjolan pada permukaan membran eritrosit disebut *knobs* (Guenburg et al., 1983).

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh isolat aktif antimalaria dari *A. champeden* terhadap sel eritrosit terinfeksi *P. falciparum* melalui pengamatan dengan mikroskop cahaya dan *scanning electron microscope* (SEM).

Manfaat Penelitian

Untuk mendapatkan gambaran morfologi *P. falciparum* akibat pemberian isolat aktif antimalaria dari *A. champeden*.

Memperkirakan target mekanisme penghambatan parasit malaria sehingga diharapkan dapat berguna dalam pengobatan penyakit malaria.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Persiapan bahan dan Instrument Penelitian:

Bahan untuk isolasi senyawa:

- Kulit batang cempedak (*A. champeden Spreng*) telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor, Jawa Barat.

- Larutan n-heksana, diklormetana, n-heksana teknis, diklormetana teknis, metanol teknis, kloroform teknis, kloroform (p.a), metanol (p.a), plate Silika Gel GF₂₅₄ E.Merck, plat silika gel RP-18 Aqua bidestilata, silica gel for column, silica gel 60 F₂₅₄ for TLC.

Bahan untuk uji *in vitro*:

- Suspensi *P. falciparum* galur 3D7
- Medium kultur malaria lengkap (cMCM = complete Malaria Culture Medium) : RPMI 1640 (Gibco) , HEPES(N-2-hidroksietilpiperazin-N'-2-asam sulfonatetan) (Gibco), NaHCO₃, gentamicin sulfat, human serum, aquadest steril for irrigation (Otsuka)
- Fresh Human RBC.
- Air suling steril
- Giemsa 10%
- DMSO (dimetilsulfosida)
- Sorbitol (Merck)

Bahan Untuk Uji SEM:

- glutaraldehyde 0,1 %
- RPMI 1640 medium
- phosphate buffer saline (pH 7.3)
- 0,1% poli L-lysine (pH 7.3)

Alat dan Instrument Penelitian:

Instrumen untuk ekstraksi dan isolasi dan identifikasi isolat : Ekstraktor, Buchi Rotavapor R- 153, sentrifus, timbangan analitik Denver Instrumen M-220, Vakum rotavapor, Kolom lambat kromatografi diameter 2,5 cm, kolom cepat kromatografi diameter 7 cm, cember kromatografi (camag), Spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer Lambda EZ 201).

Instrumen untuk uji invitro: inkubator, laminar flow, eksikator, oven, sentrifus, mikropipet (socorex), autoclaf, mikroskop (olympus CH 20), disposable syringe, penyaring membran pipet 0,22 μm , lempeng sumur mikro.

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak diklorometan

Kulit batang cempedak yang telah diserbuk, ditimbang sebanyak 1 kg, kemudian serasi dengan 5 liter pelarut n-heksane selama 24 jam dan diulang sampai 5 kali. Hasil rasi disaring dan didapat ekstrak cair n-heksane. Residu kemudian diekstraksi lagi n pelarut diklorometane dengan metode yang sama seperti ekstraksi n-heksane. Ekstrak diklorometana yang didapat kemudian diuapkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak

Fraksinasi Ekstrak Diklorometana dengan Kromatografi Kolom

Fraksinasi ekstrak diklorometana dengan kolom kromatografi vakum menggunakan fase silika gel 60, dan fase gerak campuran kloroform –etil asetat – metanol dengan berbagai rasio.

Pada tahap awal dilakukan packing fase diam silika gel 60 sebanyak 70 gram pada sintered glass dengan cara ditaburkan sedikit demi sedikit, dipadatkan dan divakum bantuan pompa. Kemudian sebanyak 4 gram ekstrak diklorometana dilarutkan dalam metana sampai semua larut dan ditambahkan silika for kolom sebanyak 1-2 % ekstrak nya diuapkan sampai kering. Ekstrak diklorometana yang telah kering dimasukkan sintered glass dan ditaburkan diatas fase diam yang sebelumnya telah dibasahi dengan kloroform- etil asetat yang pertama. Selanjutnya setelah ditambahkan ekstak bagian atasnya ditutup kertas an dieluasi.

eluasi dilakukan dengan beberapa pelarut, yang pertama dengan kloroform –etil asetat (1:1), selanjutnya dengan (kloroform- etil asetat (1 :1), etil asetat, etil asetal :metanol (1 :1), metanol. Hasil eluasi ditampung pada vial-vial kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam lempeng silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang sesuai dan diidentifikasi dengan penampak noda ceri sulfat. Dari tiap fraksi yang memberikan profil noda yang sama digabungkan, diuapkan dan ditimbang.

Selanjutnya fraksi yang aktif sebagai antimalaria dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak kombinasi kloroform – etil asetat :metanol. Pada tahap awal disiapkan fase diam silika gel 60 sebanyak 50 gram dan

lakukan packing pada kolom, kemudian 1,0 gram ekstrak ditambahkan 1-2 % silika masuk pada kolom. Eluasi dengan fase gerak kombinasi kloroform- etil asetat- metanol. sil eluasi ditampung pada vial-vial dan di uji dengan kromatografi lapis tipis. Fraksi yang memberikan profil dan Rf yang sama digabungkan jadi satu sehingga akan diperoleh beberapa kisi.

3 Pemisahan Fraksi Aktif Diklorometan dengan *Preparatif Thin Layer Chromatography* (PTLC)

Fraksi hasil kolom lambat yang aktif sebagai antimalaria dilakukan isolasi dengan cara preparatif menggunakan lempeng silika gel RP-18 dan fase gerak asetonitril-metanol- air dengan perbandingan tertentu. Hasil elusi dilihat pada lampu UV 254 dan 365 nm. selanjutnya isolat yang diperoleh diuji aktivitasnya secara *in vitro*.

Identifikasi Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan dengan menggunakan lempeng kromatografi fase normal (silika gel GF₂₅₄) dan fase balik (Silika gel RP-18 F₂₅₄). Identifikasi pada fase normal menggunakan pelarut kloroform- metanol dengan perbandingan tertentu. Sedangkan pada fase terbalik dengan menggunakan asetonitril-metanol-air dalam perbandingan yang sesuai. Penampak noda yang digunakan baik untuk KLT fase normal dan fase balik adalah larutan seri sulfat 1% dalam 10% asam sulfat.

Identifikasi dengan Densitometer

Isolat ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi dengan kloroform metanol 5%. Hasil kromatografi lapis tipis diuji secara densitometri. Pada uji ini dapat diperoleh data Rf dan spektra.

Prosedur Pengujian Aktivitas Antimalaria secara *in vitro*

Dilakukan pembiakan kultur *P.falciparum* didasarkan pada metode Trager dan Jensen. Biakan dilakukan di dalam *petridish* dan dikerjakan secara aseptik. Parasit malaria diambil dari simpanan beku yang di "*thawing*" dengan menggunakan metode sebagai

Tabung yang berisi parasit beku dicairkan pada suhu 37°C. Ditambahkan NaCl 3,5% dengan volume yang sama dan dipindahkan ke tabung sentrifuse menggunakan pipet mikro sambil dicampur perlahan.

Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang.

Endapan disuspensikan dengan 5 ml incomplete medium, dicampur perlahan dengan pipet mikro dan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C.

Supernatan kemudian dibuang. Prosedur ini dilakukan sebanyak dua kali.

Setelah endapan dicuci, ditambahkan sebanyak 4,5 ml medium lengkap dan 0,5 ml RBC (50%)

Kemudian dipindahkan ke dalam petridish, dimasukkan dalam candle jar dan diinkubasi pada suhu 37 °C.

Biakan P. falciparum

Eritrosit yang terinfeksi parasit malaria disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Supernatan kemudian dibuang. *Packed cells* disuspensikan dengan medium lengkap baru dengan volume sama untuk membuat suspensi 50% dan selanjutnya dipindahkan ke dalam *petridish* baru. Kemudian ke dalam *petridish* ditambahkan medium lengkap dan eritrosit baru (RBC 50%) sampai terbentuk hematokrit 5%. Selanjutnya dibuat slide tipis, diwarnai dengan giemsa untuk menghitung persen parasitemia dan sub biakan dilakukan kembali.

Sinkronisasi Biakan P. falciparum

Untuk suatu pengujian aktivitas antimalaria, diperlukan parasit dalam keadaan sinkron pada stadium cincin. Sinkronisasi dilakukan dengan menggunakan sorbitol 5% (Santoso, 1979). Adapun tahapannya adalah sebagai berikut :

Suspensi parasit yang diperoleh dari biakan berkesinambungan dengan tingkat parasitemia 10% (hampir 80% stadium cincin) disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C, kemudian supernatan dibuang.

Endapan berupa eritrosit yang terinfeksi parasit disuspensikan dengan sorbitol 5% sebanyak 3-4 kali volume endapan, didiamkan selama 5-10 menit pada temperatur kamar, disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C dan dibuang supernatannya.

Lalu endapan dicuci dengan *incomplete medium* sebanyak 3-4 kali volume dan disentrifuse dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C. Proses pencucian ini diulangi sebanyak 3 kali.

Setelah dicuci, ditambahkan *complete medium* dan suspensi eritrosit baru (RBC 50%) sampai terbentuk hematokrit 5%. Selanjutnya dibuat hapusan tipis, diwarnai dengan giemsa untuk mengamati stadium parasit dan dihitung persen parasitemianya.

buatan Medium

ium Tak Lengkap (*Incomplete Medium*)

Dibuat larutan steril yang terdiri dari 10,4 g RPMI-1640, 5,96 g HEPES, 2,1 g Natrium karbonat, 0,05 g Hypoxantin, 0,5 ml Gentamycin dan aquabides 960 ml. Kemudian larutan difiltrasi dengan filter berdiameter 0,22 µm, dimasukkan dalam botol dan disimpan pada 4 °C. Ini disebut juga medium pencuci (*washing medium*) dan bila akan digunakan, masukkan inkubator suhu 37 °C terlebih dahulu.

apan Serum

Diambil darah segar yang sudah ditambah antikoagulan, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Plasma diambil dengan pipet pasteur dan diinaktivasi dengan *heat inactivation* pada suhu 56 °C selama 30 menit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit pada suhu 4 °C untuk mengendapkan fibrin, sehingga didapatkan serum. Penyimpanan pada suhu -20 °C dan bila akan digunakan, dihangatkan pada 37 °C.

um Lengkap

Medium lengkap adalah medium yang mengandung 10% serum manusia. Medium ini dibuat dengan mencampur medium tak lengkap sebanyak 90 ml dengan 10 ml serum manusia. Medium ini digunakan untuk membiakkan *P. falciparum*.

atan Eritrosit 50%

Darah manusia yang diberi antikoagulan disimpan pada suhu 4 °C dapat digunakan lebih dari 3 minggu. Darah dimasukkan dalam tabung dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Plasma dipisahkan dan leukosit dibuang. Eritrosit dicuci dengan medium pencuci 1-2 kali volume, disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit

pada suhu 4 °C. Proses ini dilakukan sebanyak 2 kali. Eritrosit yang telah dicuci (bebas dari leukosit) ditambah dengan medium lengkap dengan volume yang sama untuk membuat eritrosit 50% dan disimpan pada suhu 4 °C. Eritrosit yang telah dicuci dapat digunakan tidak lebih dari dua minggu.

Penyiapan Bahan Uji dan Kontrol

Metode ini didasarkan pada metode Rosenthal (1991). Sebagai bahan uji isolat dari ekstrak kulit batang *A. champeden* Spreng. dengan konsentrasi 10 µg/ml untuk isolat.. sebagai kontrol negatif adalah pelarut yang dipakai untuk melarutkan bahan uji, yaitu DMSO dengan konsentrasi tidak lebih dari 1%. Sebagai kontrol positif digunakan klorokuin dengan konsentrasi yang sama seperti zat uji.

Prinsip Pengujian *in vitro*

Langkah dan prosedur pengujian aktivitas anti malaria *in vitro* adalah sebagai berikut:

Diambil 5 µl zat uji dari stok dan ditambahkan medium kompleks sampai 250 µl. Kedalam tiap-tiap sumur (*well*) dari lempeng mikrotiter datar yang telah diberi 1080 µl medium komplet, (kecuali apada kontrol (-) dimasukkan 500 µl), ditambahkan 120 µl larutan isolat yang diambil dari stok. Kemudian dibuat serial dilution sehingga konsentasi akhir pada sumur mikrotiter adalah 1; 0,1; 0,01; 0,001 dan 0,0001 µg/ml (kultur dibuat duplo). Suspensi parasit dalam 500 µl eritrosit ditambahkan ke dalam masing-masing sumur (*well*) mikrotiter datar dengan tingkat parasitemia 1% dan hematokrit 5%. Kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, suhu 37 °C, sesuai waktu uji yang diperlukan. Kultur dipanen dan dibuat hapusan dengan giemsa untuk pengamatan IC₅₀ dari setiap isolat. IC₅₀ dihitung dengan program statistik probit log didasarkan data konsentrasi dan persen penghambatan pertumbuhan parasit.

Persentase penghambatan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Penghambatan} = 100\% - \left[\frac{X_p}{X_k} \times 100\% \right]$$

Parasitemia dihitung dengan rumus :

$$\text{Parasitemia} = \frac{\text{Jumlah eritrosit yang terinfeksi} \times 100\%}{5000 \text{ eritrosit}}$$

terangan :

= Parasitemia perlakuan

= Parasitemia kontrol

7 Pengujian dengan Mikroskop Cahaya dan *Scanning Electron Microscope*

Pengujian dengan mikroskop cahaya:

Isolat aktif antimalaria pada dosis terbesar (1 µg/ml yang telah ditambahkan pada kultur *in vitro*.

Kultur dipanen pada jam ke-6, 24 dan 48. kemudian dilakukan pengecatan dengan giemsa dan diamati morfologi sel *p.falciparum* pada eritrosit terinfeksi.

Pada pengujian ini digunakan klorokuin sebagai kontrol positif.

Pengujian dengan *scanning electron microscope*

Berdasarkan prosedur Peterson (1984) pengujian SEM dilakukan dengan melakukan preparasi sel eritrosit yang terinfeksi parasit. Sel dicuci dengan medium RPMI 1640, kemudian disuspensikan dengan 0,1 % glutaraldehyde dalam RPMI medium (pH 7,0) selama 15 menit pada temperatur ruangan dan difiksasi dengan 2,0 % glutaraldehyde dalam buffer fosfat (pH 7,0) selama 45 menit pada temperatur ruangan. Sel disuspensikan kembali dalam RPMI dan dikeringkan selama 30 menit diatas *cover slips* yang telah diberi 0,1 % poly-L-lysine (pH 7.3) selama 30-60 menit. Sampel diamati dengan JOEL JSM-35 mikroskop elektron *scanning*. Pengamatan dilakukan dengan membandingkan antara senyawa uji dengan kontrol. Pengamatan dilakukan pada jam ke-6 dan ke-24.

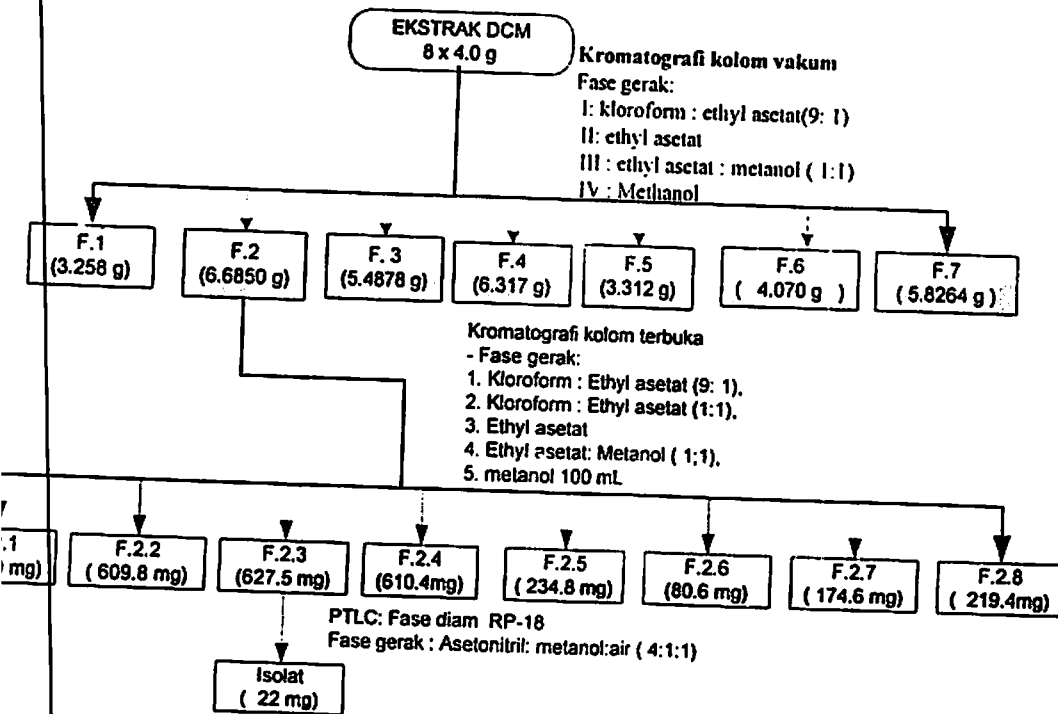
BAB 5
HASIL PENELITIAN

1 Hasil ekstraksi kulit batang *A.champeden* spreng

Serbuk kulit batang *A.champeden* spreng sebanyak 2,5 kg diekstraksi dengan n-hexana dan didapatkan ekstrak n-hexana 19 g. Selanjutnya residu diekstraksi lagi dengan diklorometana dan didapatkan hasil ekstrak diklorometana sebanyak 20 g.

Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Dan Pemurnian

Fraksinasi dengan kromatografi kolom terhadap 20 g ekstrak diklorometana diperoleh fraksi. Selanjutnya dilakukan fraksinasi terhadap fraksi 2 dengan kromatografi kolom terbuka dan didapatkan 8 subfraksi. Terhadap F.2.3 dilakukan pemurnian dengan PTLC (*Preparatif Thin Layer Chromatography*) dan didapatkan dan didapatkan isolat.



Gambar 4. Hasil ekstraksi dan isolasi

Hasil Identifikasi Isolat dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan dengan menggunakan lempeng kromatografi fase normal (silika gel GF₂₅₄) dan fase balik (Silika gel RP-18 F₂₅₄). Identifikasi fase normal menggunakan pelarut kloroform- metanol dengan perbandingan tertentu.

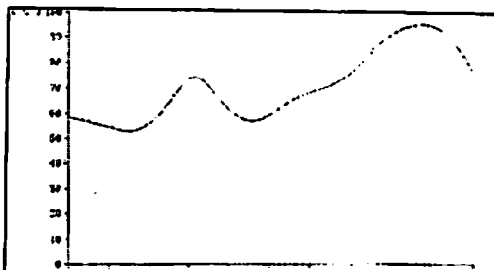
tingkan pada fase terbalik dengan menggunakan asetonitril-metanol-air dalam rasio yang sesuai. Penampak noda yang digunakan baik untuk KLT fase normal dan fase terbalik adalah larutan seri sulfat 1% dalam 10% asam sulfat.



par 5. Kromatogram hasil KLT Isolat menggunakan fase diam lempeng KLT silika gel GF₂₅₄, fase gerak kloroform – metanol (95:5) dan penampak noda seri sulfat 1%.

Identifikasi dengan Densitometer

Isolat ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi dengan kloroform metanol 5%. Analisis spektra isolat secara KLT densitometri menunjukkan dua puncak pada 264 dan 374 nm yang merupakan ciri spektra flavonoid.



par 6. Spektra isolat dengan KLT densitometri menunjukkan dua puncak panjang gelombang pada λ 264 nm dan 374 nm


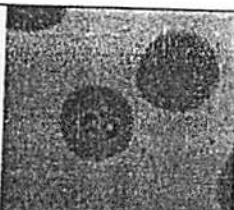










Hasil Pengujian Aktivitas Antimalaria secara *in vitro*

Untuk mengetahui potensi hambatan pertumbuhan fraksi F.2, subfraksi F.2.3 dan isolat dilakukan perhitungan nilai IC_{50} dengan menggunakan analisa probit. Nilai IC_{50} dari fraksi F.2, subfraksi F.2.3 dan isolat dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Hasil Hambatan rata-rata dan nilai IC_{50} dari Fraksi F.2, F.2.3 dan Isolat *A. champeden*.

Bahan Uji	Dosis ((μ g/ml)						IC_{50} ((μ g/ml)
	100	10	1	0,1	0,01	0,001	
	Rata-rata %hambatan						
Fraksi F.2	100	75,72	48,92	36,26	11,03	-	0,5595
Fraksi F.2.3	100	76,20	51,63	29,42	16,05	-	0,5294
Isolat	-	76,91	62,61	49,47	42,85	27,46	0,06852

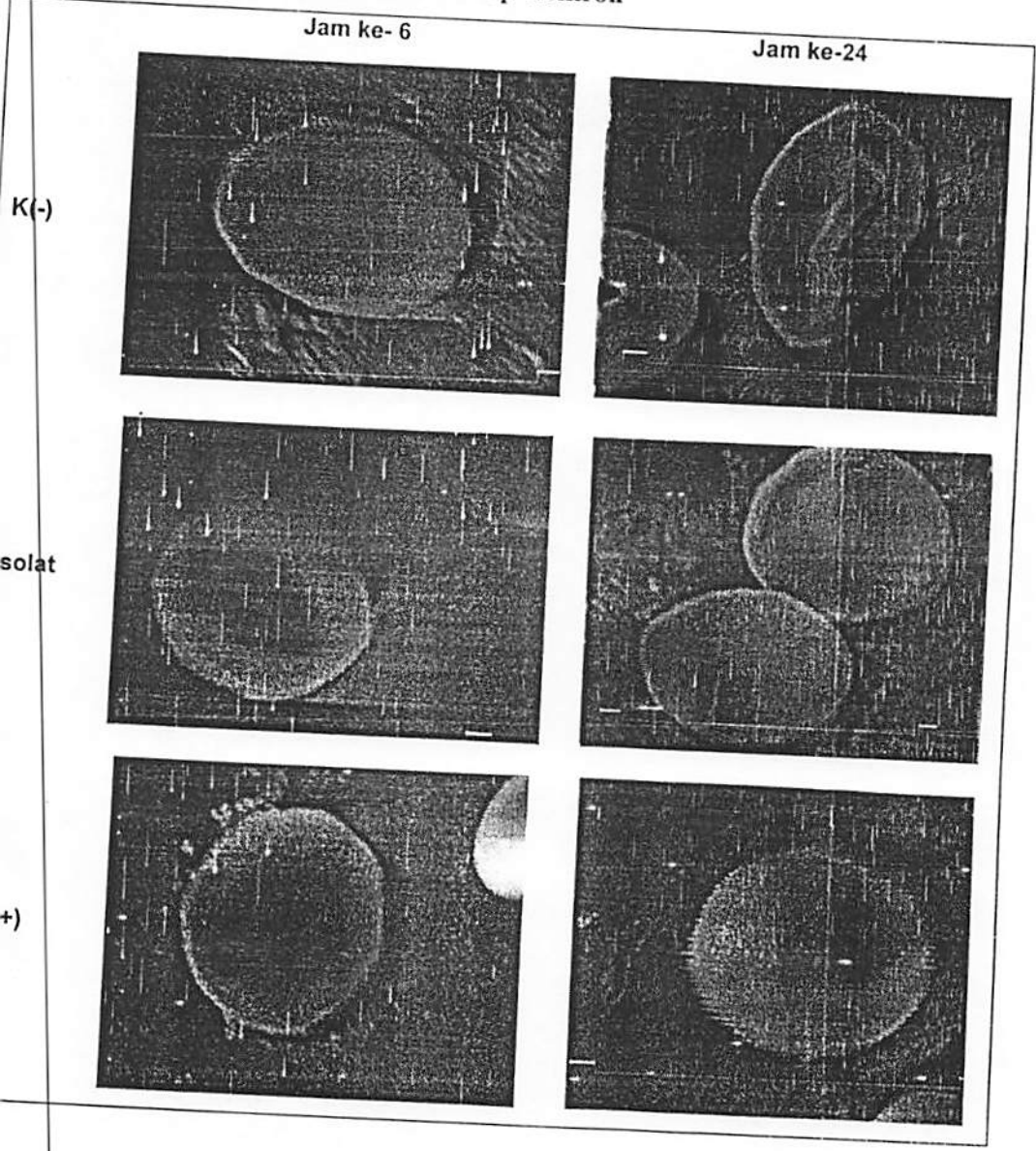
5.6 Hasil Pengamatan Perkembangan Parasit dengan Mikroskop Cahaya

Jam Ke-	Nama Sampel		
	K(-)	Isolat	K(+)
0			
6			
24			
48			

Gambar 7. Pengamatan eritrosit terinfeksi *P. falciparum* dengan mikroskop cahaya

Dasarkan gambar 7 menunjukkan adanya hambatan perkembangan parasit pada pemberian isolate. Pada kontrol negatif jam ke-0 menunjukkan stadium cincin, jam ke -6 sudah mulai ada perkembangan menuju trofozoit, pada jam ke-24 sudah berkembang menjadi trofozoit dan skizon, dimana tampak adanya hemozoin pada vakuola makanan, selanjutnya pada jam ke-48 parasit menunjukkan stadium cincin. Sedangkan pada isolat dan kontrol positif menunjukkan gambaran yang berbeda. Pada jam ke 0-6 kontrol positif dan isolat berada pada stadium cincin, jam ke-24 berada pada stadium cincin dan terjadi penebalan plasma tapi vakuola makanan tidak membesar, dan jam ke 48 menunjukkan stadium cincin. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan adanya hambatan perkembangan parasit dari ring ke trofozoit.

5.7 Hasil Pengamatan dengan mikroskop elektron



gambar 8. Pengamatan eritrosit terinfeksi *P.falciparum* dengan *Scanning Electrone Microscope* (perbesaran 10000 kali).

Berdasarkan gambar diatas menunjukkan bahwa jam ke-24 pada kontrol negatif sudah terbentuk *knob* sedangkan pada isolat dan kontrol positif belum tampak adanya *knob*.

BAB 6

PEMBAHASAN

Tanaman *A. champeden* telah dilaporkan mengandung senyawa flavanoid. Beberapa golongan senyawa flavanoid merupakan senyawa yang aktif sebagai antimalaria. Oleh karena pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa flavonoid kulit batang *A. champeden* yang selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antimalaria. Pengaruh isolat aktif antimalaria terhadap eritrosit terinfeksi *P. falciparum* diamati dengan mikroskop elektron atau *scanning electron microscope* (SEM) dan mikroskop cahaya.

Senyawa flavonoid merupakan senyawa semipolar sehingga dalam proses ekstraksi digunakan pelarut diklorometana. Sebelum ekstraksi dengan pelarut diklorometana, pada awalnya digunakan pelarut n-heksana yang bertujuan untuk menarik senyawa non polar seperti lemak yang sering mengganggu proses isolasi. Ekstraksi dengan pelarut diklorometana menghasilkan ekstrak diklorometana berwarna coklat kemerahan.

Fraksinasi ekstrak diklorometana dilakukan dengan metode kromatografi kolom cepat dilanjutkan dengan kromatografi kolom lambat. Pada metode kromatografi, pemisahan awal berdasarkan koefisien partisi zat diantara fase diam dan fase gerak. Hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom cepat dengan pelarut gradien kloroform-etil asetat-metanol menghasilkan tujuh fraksi dan berdasarkan kromatogram pada plat KLT menunjukkan fraksi 2 mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan noda warna orange. Selanjutnya fraksi 2 dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom lambat dan diperoleh 8 subfraksi. Berdasarkan kromatogram fraksi F.2.3 tampak berwarna orange dengan penampakan noda seri 1% menunjukkan adanya kandungan flavonoid. Isolat didapatkan melalui pemisahan F.2.3 secara kromatografi preparatif fase diam RP-18 dengan fase gerak metanol:air (4:1:1).

Hasil uji aktivitas antimalaria *in vitro* terhadap *P. falciparum* menunjukkan isolat mempunyai nilai IC_{50} 0,0685 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Fidock *et al.* (2004) isolat dinyatakan aktif sebagai antimalaria jika nilai IC_{50} kurang dari 1 μM . Berdasarkan hal tersebut maka isolat yang dihasilkan antimalaria yang potensial untuk dikembangkan sebagai obat antimalaria.

Gambaran morfologi sel dapat digunakan sebagai salah satu informasi mekanisme suatu senyawa aktif antimalaria terhadap *P. falciparum*. Hambatan pembentukan haptoglobin, hambatan degradasi hemoglobin dalam vakuola makanan dapat diamati secara mikroskopis (Hoppe *et al.*, 2004).

Menurut Marti *et al.* (2005) perkembangan aseksual parasit malaria dalam sel eritrosit terinfeksi adalah sebagai berikut; pada 0-5 jam setelah invasi parasit akan dikelilingi oleh *parasitophorous vacuola* (PV) dan sel parasit akan nampak seperti cincin (ring), pada 5-jam parasit berbentuk cincin dan menginduksi terbentuknya *parasitophorous vacuole membrane*, pada jam ke 10 sampai 20 akan terjadi perkembangan menjadi trofozoit, mulai nampak adanya hemozoin pada vakuola makanan dan terus berkembang menginduksi pembentukan *knobs* pada permukaan membran eritrosit terinfeksi, setelah 40 jam parasit akan membelah dan menghasilkan merozoit-merozoit yang selanjutnya akan menginfeksi eritrosit u.

Parasit yang berada di dalam eritrosit dapat menginduksi perubahan membran eritrosit terinfeksi. Perubahan ini berupa tonjolan pada permukaan membran atau *knob*. *Knobs* berkembang pada membran eritrosit berupa bentukan padat mengerucut. Pengamatan adap membran eritrosit yang terinfeksi dilakukan dengan SEM terhadap kultur yang telah inkonisasi. Pada Eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum*, *knobs* berperan dalam pembentukan *cytoadherence* yang merupakan suatu mekanisme penting pertahanan parasit.

Pengamatan dengan mikroskop cahaya pada pewarnaan Giemsa dapat dilihat bahan bentuk sel parasit mulai dari fase ring sampai dengan skizon, dan pada fase trofozoit dan skizon dapat diamati adanya pigmen hemozoin. Berdasarkan hasil penelitian kontrol negatif menunjukkan perkembangan stadium pertumbuhan parasit yang normal, pada jam ke 6 masih berada dalam fase ring sedangkan pada jam ke 24 sudah terbentuk trofozoit. Pengamatan jam dan setelah 48 jam parasit menunjukkan stadium ring. Sedangkan morfologi eritrosit yang diberi isolat, pengamatan pada jam ke 0 sampai 24 berada pada stadium cincin, pada jam ke 48 tetap berada pada stadium ring. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian isolat menghambat perubahan dari stadium ring ke trofozoit.

Hasil pengamatan dengan SEM pada penelitian ini menunjukkan kondisi yang berbeda dengan kontrol negatif dengan parasit yang diberi isolat. Pada kontrol negatif menunjukkan perubahan pada membran eritrosit yang diamati pada jam ke-6 dan 24 setelah invasi. Pada jam ke-6 dinding eritrosit sudah mulai menipis, hal ini merupakan tanda bahwa parasit sudah masuk dalam eritrosit (Guenburg *et al.*, 1983). Pada pengamatan jam ke-24 pada kultur yang diberi isolat, gambaran tonjolan pada membran luar eritrosit tidak nampak dengan jelas, demikian juga pada kontrol positif. Hal ini berbeda dengan kontrol negatif dimana tonjolan pada membran luar eritrosit terlihat jelas. Dengan adanya perbedaan ini menunjukkan knob pada permukaan eritrosit yang diberi isolat dengan kontrol negatif menunjukkan adanya pengaruh isolat terhadap pembentukan knob.

Hambatan perkembangan pembentukan trophozoit dapat menghambat lepasnya sporozoit-
sporozoit baru yang akan menginfeksi eritrosit baru. Trophozoit merupakan stadium dimana
metabolisme dan pengambilan nutrisi oleh parasit paling tinggi. Adanya hambatan
perkembangan parasit dari ring ke trophozoit dapat terjadi hambatan pengambilan nutrisi, hal ini
dapat menyebabkan kematian parasit. Hambatan pembentukan knob maka dapat
mengurangi patogenitas parasit karena cytoadheren tidak terbentuk.

Pada penelitian ini digunakan SEM yang hanya dapat mengamati permukaan eritrosit
yang terinfeksi *P.falciparum*. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui gambaran dalam sel
eritrosit yang terinfeksi *P.falciparum* dengan transmission electron mikroskop perlu dilakukan
untuk mengetahui mekanisme isolat dalam membunuh parasit dengan lebih jelas.

Penelitian ini dilakukan terhadap isolat. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut
untuk identifikasi dan penentuan struktur isolat sehingga dapat diketahui struktur senyawanya.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 KESIMPULAN

1. Isolasi terhadap kulit batang *A.champeden* diperoleh isolat yang aktif sebagai antimalaria terhadap *P.falciparum*.
2. Isolat aktif antimalaria dari *A.champeden* tersebut menghambat perkembangan parasit dari fase ring ke fase trofozoit dan menghambat pembentukan knob pada permukaan eritrosit terinfeksi *P.falciparum*.

7.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme isolat sebagai antimalaria dan identifikasi guna mengetahui struktur isolat.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Achmad SA, 2004, Empat Puluh Tahun Dalam Kimia Organik Bahan Alam Tumbuhan Tropika Indonesia : Rekoleksi Dan Prospek, **Bull. Soc. Nat. Prod. Chem. (Indonesia)** Vol. 4, p. 35-54
- Achmad SA., Murniana, Udjiana SS., Aimi N., Hakim E.H., Makmur L., 1998, Tiga Senyawa Flavan -3-ol- dari Tumbuhan *Artocarpus reticulatus*, Lembaga Penelitian Institut Teknologi Bandung.
- Achmad SA, Hakim EH, Juliawaty LD, Makmur L, Suyatno, 1996, A New Prenylated Flavone from *Artocarpus champeden*, **Journal of Natural Product** Vol. 59, p. 878-879.
- Akaki M, Nakano Y, Ito Y, Nagayasu E, Aikawa M, Effect of Dypiridamol on *Plasmodium falciparum* Infected Erythrocytes, **Parasitology Research**, Vol.88,p. 1044-1050
- Backer CA dan Van Den Brink BC, 1965, *Flora of Java vol II*, NVP Noordhoff, Groningen The Netherland, p. 19
- Biagini GA, O'Neill PM, Nzila A, Ward SA dan Bray PG, 2003, Antimalarial Chemotherapy : Young Guns Or Back To The Future, **Trends In Parasitology** Vol. 19 No. 11, p. 479-487
- Bilia AR, Melilo de Malgalhaes P, Berganzi MC and Vincieri FF, 2006. Simultaneous Analysis of Artemisinin and Flavonoids of several extract of *Artimisia annua* L. obtained from a Commercial sample and Selected Cultivar. **Journal Phytomedicine** 13 (7) : 487-493.
- Bozzola JJ, Russel LD, 1999, *Electron Microscope, Principle and Technist For Biologist*, 2thed, Jones and bartlett Publishers, Bostom.
- DC, 2005, <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Malaria.htm>, diakses tanggal 1 September 2006.
- Dotney GR, Collins WE, Warren M, Contacos PG. 1971. *The Primate Malariae*. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Bethesda.
- DepKes RI, 2004, **Penggunaan Artemisin untuk Atasi Malaria di Daerah yang Resisten Klorokuin**, Ministry of Health, Republic of Indonesia <http://www.depkes.go.id> , diakses tanggal 1 September 2006.
- Fitriani, Nur WU, Widyawaruyanti, Ekasari W, 2003, Aktivitas antimalaria ekstrak methanol kulit batang cempedak (*Artocarpus champeden* SPRENG) terhadap *Plasmodium berghei in-vivo*, Skripsi, Fakultas Farmasi Unair, Surabaya
- Glich S, Schuberth C, Bienzle U and Siems KJ, 2005. In vitro Antiplasmodial Activity of Prenylated Chalcon Derivates and their Interaction with haemin. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 55 : 883-887

- Gandahusada S, Pribadi W, Ilahude HD, 1990, *Parasitologi Kedokteran*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, p.125-155
- Harjanto PN, 2000, *Malaria : Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*, Cetakan Pertama, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia.
- Marti M, Baum J, Rug M, Tilley L, Cowman A.F, 2005, Signal-Mediated Export of Proteins From The Malaria Parasite to The Host Erythrocyte, *The Journal of Cell Biology*, Vol. 171, p. 587-592
- Phillipson JD, 1991, Assay for Antimalarial and Amoebicidal Activities. In (Harbone JB, and Dey PM.), *Method In Plant Biochemistry*, Vol.6. Academic Press, Toronto, p.135-151.
- Rosenthal JP, 2003, Antimalarial Drug Discovery: Old and New Approaches, Review, *The Journal of Experimental Biology* 206, The Company of biologist, USA, p 3735-3744.
- Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS, 2003, Antimalarial Agents from Plant Sources, Review Articles, *Current Science*, Vol. 85 No. 9, p.1314-1326
- Sherman IW, 1998, *Malaria, Parasite Biology, Pathogenesis and Protection*, American Society for Microbiology Press, Washington, D.C., USA.
- Sutisna P, 2003, *Malaria Secara Ringkas : Dari Pengetahuan Dasar Sampai Terapan*, Cetakan Pertama, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Indonesia
- YM, Achmad SA, Ghisalberti EL, Hakim EH, Makmur L, Mujahidin D, 2002, Artoindonesianins Q-T. Four Isoprenylated Flavones from *Artocarpus champeden* Spreng. (Moraceae), *Phytochemistry* Vol. 61, p. 949-953
- rager W, Jensen JB, 1976, Human Malaria Parasites in Continuous Culture, Reports, *Science*, Vol. 193, p. 673-675.
- Iman B, 2003, *Biochemistry of Plasmodium - Brief Overview, Malaria Pathogenesis*, Tulane University <http://www.tulane.edu/~wiser/malaria/summary.html>
- an Steenis CGJ, 1978, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, Pradnya Paramita, Jakarta, p. 406-407.
- ini NC, Dachlan YP, Syatrudin, 2005, *Potensi dan Mekanisme Aksi Senyawa Aktif Antimalaria dari Kulit Batang Cempepek (Artocarpus champeden Spreng.)*, Laporan Penelitian Hibah Penelitian Tim Pascasarjana - HPTP, Universitas Airlangga, Surabaya.

CURICULUM VITAE

Kepala Peneliti

1. Nama Lengkap : Tutik Sri wahyuni, SSi. MSi. Apt
 2. Umur / Jenis kelamin / agama : 30 tahun/ Perempuan/Islam
 3. Alamat (Bagian, Fakultas, dll) : Fakultas Farmasi Bagian Bahan Alam
 4. Pangkat / Golongan / NIP : Asisten Ahli/ IIIb/ 132318593
 5. Jabatan Pokok :-
 6. Kesatuan / Perguruan Tinggi : Fakultas Farmasi / Universitas Airlangga
 7. Riwayat Pendidikan Tinggi :
 (dalam dan luar negeri) :

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun		Bidang Spesialis	Titel / Ijazah Diploma
			Dari	Sampai		
1.	Sarjana	Universitas Airlangga	1997	2001	Farmasi	S.Si.
2.	Apoteker	Universitas Airlangga	2001	2002	Farmasi Rumah Sakit	Apt
3.	Magister	Universitas Airlangga	2005	2007	Ilmu Farmasi	MSi.

Pengalaman Penelitian:

- Formulasi dan Uji Stabilitas Mikrobiologi Sediaan Tabir Surya Krim *Kaemferia galanga* L. (2001).
 Aktivitas Antimalaria *In Vitro* Ekstrak Metanol dan Fraksi Etil Asetat *Sida rhombifolia* L) Terhadap *Plasmodium falciparum* (2007).
 Isolasi senyawa flavonoid dari *A.champeden* dan pengaruhnya terhadap eritrosit terinfeksi *plasmodium falciparum*

Biodata Anggota Peneliti

1. Nama Lengkap : Dr. Aty Wudyawaruyanti,
MSi.Apt
2. Umur / Jenis kelamin / agama : 44 tahun/ Perempuan/Islam
3. Alamat (Bagian, Fakultas, dll : Fakultas Farmasi Bagian
Bahan Alam
4. Pangkat / Golongan / NIP : Penata/ IIIc/ 131877884
5. Jabatan Pokok : Lektor
6. Kesatuan / Perguruan Tinggi : Fakultas Farmasi /
Universitas Airlangga
7. Riwayat Pendidikan Tinggi :
(dalam dan luar negeri) :

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Tahun Lulus	Bidang Spesialis	Titel / Ijazah Diploma
1.	Sarjana	FMIPA UNPAD	1987	Farmasi	S.Si.
2.	Apoteker	FMIPA UNPAD	1989	Apoteker	Apt.
3.	Magister (S-2)	Pasca Sarjana UNAIR	1999	Farmasi	MSi.
4.	Doktor (S-3)	Pasca Sarjana UNAIR	2007	MIPA	Dr.

Pengalaman Penelitian:

- Uji antimalaria herba sambilata terhadap Plasmodium falciparum secara invitro (DIP OPF UNAIR 1994/1995)
- Uji aktivitas antimalaria isolat fraksi petroleum eter herba sambiloto in vivo. DIP OPF UNAIR 1996/1997)
- Studi Pemiakan kultur sel kanker sitotoksitas isolat herba sambilata (A. paniculata). (DP3M 1997/1998)
- Uji Imunostimulan androgafolida terhadap sekresi IFN γ dan TNF- α oleh subset limfosit T helper-1 (TH-1) mencit dalam percobaan kultur sel.(DP3M 1998/1999)
- Efek Androgafolida hasil isolasi androgaphis paniculata Ness terhadap fungsi toksisitas limfosit T sitotoksik (CD8⁺) mencit dalam percobaan kultur sel . (DP3M 1997/1998)
- Uji aktivitas antimalaria dari senyawa diterpena lakton hasil isolasi androgaphis paniculata Ness (Project grand-QUE Project Tahun 2000-Fakultas farmasi UNAIR).
- Pengembangan sediaan farmasetika androgafolida hasil isolasi dari androgaphis paniculata Ness sebagai obat antimalaria (DP3M/ Hibah bersaing, 2003-2004)
- Pengembangan daun johar (Cassia siamea) sebagai fitofarmaka antimalaria. (Pusat riset Obat dan Makanan/BPOM/2005)