



LAPORAN PENELITIAN DASAR  
TAHUN ANGGARAN 2004

**AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI  
KLOROFORM DAN FRAKSI POSITIF ALKALOID DAUN CASSIA  
SIAMEA TERHADAP PLASMODIUM BERGHEI SECARA IN VIVO**

Peneliti:

Dra. Wiwied Ekasari, Apt.,MSi.  
Dra. Aty Widyawaruyanti, Apt.,MSi.  
dr. Indah S. Tantular

**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Proyek Penelitian Pengembangan Ilmu Pengetahuan Terapan

DIP Nomor : 002/XXIII/1/--/2004 Tanggal 1 Januari 2004

Kontrak Nomor : 73/P2IPT/DPPM/PID/III/2004

Dirbinlitabmas Dirjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 7.

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**Nopember, 2004**

000506141



LAPORAN PENELITIAN DASAR  
TAHUN ANGGARAN 2004

**AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI  
KLOROFORM DAN FRAKSI POSITIF ALKALOID DAUN CASSIA  
SIAMEA TERHADAP PLASMODIUM BERGHEI SECARA IN VIVO**

Peneliti:

Dra. Wiwied Ekasari, Apt.,MSi.  
Dra. Aty Widyawaruyanti, Apt.,MSi.  
dr. Indah S. Tantular

**LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Proyek Penelitian Pengembangan Ilmu Pengetahuan Terapan

DIP Nomor : 002/XXIII/1/--/2004 Tanggal 1 Januari 2004

Kontrak Nomor : 73/P2IPT/DPPM/PID/III/2004

Dirbinlitabmas Dirjen Dikti, Depdiknas

Nomor Urut : 7.

0005061A1

FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2004

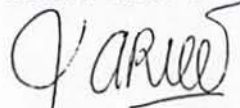
**IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR  
HASIL PENELITIAN ILMU PENGETAHUAN DASAR**

1. a. Judul Penelitian	: AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI KLOOROFORM DAN FRAKSI ALKALOID TOTAL DAUN <i>CASSIA SIAMEA</i> TERHADAP <i>PLASMODIUM BERGHEI</i> SECARA <i>IN VIVO</i>
b. Macam Penelitian	: Eksperimental Laboratorium
2. Kepala Proyek Penelitian	
a. Nama Lengkap & Gelar	: Dra. Wiwied Ekasari, Apt., MSi
b. Jenis Kelamin	: Wanita
c. Pangkat/Golongan / NIP	: III C/132 087 863
d. Jabatan sekarang	: Lektor
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Fakultas Farmasi
f. Univ/Inst/Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu yang ditekuni	: Bahan Alam
3. Jumlah Tim Peneliti	: 3 Orang
4. Lokasi Penelitian	: Fak. Farmasi dan TDC Unair
5. Kerjasama dengan Instansi lain	
a. Nama Instansi	: -
b. Alamat	: -
6. Jangka waktu penelitian	: 6 bulan
7. Biaya yang diperlukan	: Rp. 15.000.000 (Limabelas Juta rupiah)

Surabaya, Desember 2004

Mengetahui  
Pembantu Dekan I  
  
Dr. Waluyo Dyatmiko  
NIP. 130 741 815

Ketua Peneliti

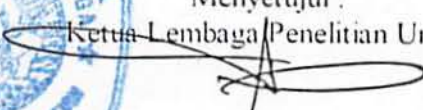


Dra. Wiwied Ekasari, Apt, MSi  
NIP. 132 087 863



Menyetujui :

Ketua Lembaga Penelitian Unair,

  
Prof. Dr. H. Sarmanu, MS  
NIP. 130 701 125

**AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL , FRAKSI KLOOROFORM  
DAN FRAKSI ALKALOID TOTAL DAUN *CASSIA SIAMEA* TERHADAP  
*PLASMODIUM BERGHEI* SECARA *IN VIVO***

(Wiwied Ekasari, Aty Widyawaruyanti, Indah Tantular)

(tahun 2004, 24 halaman)

**RINGKASAN**

Munculnya kembali penyakit malaria menyebabkan pencarian senyawa baru sebagai obat antimalaria baik dari bahan alam maupun hasil sintesis terus dilakukan. Pemakaian bahan alam untuk mengatasi berbagai penyakit telah lama dilakukan. Tanaman sebagai sumber potensial obat antimalaria dimulai dengan ditemukannya kinina, alkaloid yang berasal dari kulit batang *Cinchona* sp. yang dilanjutkan dengan artemisinin dari tumbuhan *Artemisia annua*.

Di Indonesia , salah satu tanaman yang banyak digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria adalah daun *Cassia siamea* ( Johar) dari suku Caesalpiniaceae. Beberapa penelitian tentang aktivitas *C. siamea* sebagai antimalaria telah dilakukan. Peneliti telah melakukan uji aktivitas antimalaria daun *C. siamea* secara *in vitro* dengan mengikuti tahapan isolasi alkaloid dan didapat hasil yang memuaskan. Oleh karenanya penelitian ini perlu dilanjutkan dengan melakukan pengujian secara *in vivo* , diharapkan hasil yang didapat nantinya bisa lebih menggambarkan kondisi parasit sesungguhnya dalam tubuh inang dibandingkan uji aktivitas secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol , fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* dengan menentukan harga ED<sub>50</sub>. Uji dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan metode Peter, *The 4-Day Suppressive Test of Blood Schizontocida Action*. Dosis bahan uji dibuat dengan konsentrasi 500; 250; 100; 50; 25; 12,5 , 6,25 ; 3,13 dan 1,56 mg/ KgBB mencit. Sebagai kontrol positif adalah klorokuin difosfat 10 mg/kg BB dan sebagai kontrol negatif adalah larutan CMC Na 0,5 %. Parasitemia dan % penghambatan dihitung selama 5 hari dan selanjutnya dianalisa dengan analisa probit untuk mendapatkan harga ED<sub>50</sub>.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Cassia siamea* (Johar) mempunyai aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo* pada mencit dengan harga ED<sub>50</sub> sebesar 34,69 mg /Kg BB .fraksi kloroform mempunyai harga ED<sub>50</sub> sebesar 19, 59 mg/Kg BB sedangkan fraksi alkaloid total sebesar 0,47 mg/Kg BB. Dari penelitian ini disarankan dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui lebih jauh potensi dari senyawa alkaloid daun *Cassia siamea* dengan melakukan isolasi serta mengujinya secara *in vivo* sehingga akhirnya didapatkan senyawa yang berkhasiat sebagai antimalaria

## ABSTRACT

One of the effort to fight malaria is looking for new antimalarial drugs, which could be started by looking for plants that are traditionally used as antimalarial herbs and *Cassia siamea* is one of the herbs used in Indonesia as antimalarial drug.

This research was done to know the antimalarial activity of ethanol extract, chloroform fraction and alkaloid total fraction of *C. siamea* leaves against *Plasmodium berghei* on mouse

The result of in vivo antimalarial activity of *C. siamea* leaves against *P. berghei* on mouse are : the ethanol extract, the chloroform fraction and alkaloid total fraction of *C. siamea* leaves were found to have an ED<sub>50</sub> = 34,69 mg/Kg BB, 19,59 mg/kgBB and 0,47 mg /kg BB respectively.

---

Key words : *Cassia siamea* leaves, Antimalarial activity, Peter's test, *Plasmodium berghei*



## KATA PENGANTAR

o Puji syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian ini dengan judul :

**AKTIVITAS ANTIMALARIA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI KLOOROFORM DAN FRAKSI ALKALOID TOTAL DAUN *CASSIA SIAMEA* TERHADAP *PLASMODIUM BERGHEI* SECARA *IN VIVO***

Pada kesempatan ini TIM PENELITI menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA yang mendukung penelitian ini.

Tak lupa kami mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ketua Lembaga Penelitian Unair yang mendukung dan membantu penelitian ini.
2. Kepala Proyek Penelitian Pengembangan Ilmu Pengetahuan Terapan, Dirbinlitabmas Dirjen Dikti, Depdiknas
3. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu menyediakan fasilitas dan sarana penelitian
4. Kepala Bagian Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu menyediakan fasilitas dan sarana penelitian
5. Direktur Tropical Diseases Centre Universitas Airlangga, atas sarana dan fasilitas yang diberikan.
6. Seluruh Staf Pengajar dan karyawan Bagian Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Unair serta semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Semoga amal ibadah Bapak-bapak , Ibu-ibu dan rekan-rekan diterima Allah SWT.

Kami menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini kurang sempurna, oleh sebab itu tim peneliti mengharapkan kritik dan saran agar karya ilmiah ini menjadi lebih sempurna.

Surabaya, Desember 2004

Tim Peneliti



## DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
BABI. PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1. Tinjauan tentang <i>Cassia siamea</i> .....	3
2.1.1. Klasifikasi Tanaman .....	3
2.1.2. Kandungan Kimia <i>C. siamea</i> .....	3
2.1.3. Kegunaan <i>C. siamea</i> .....	4
2.2. Tinjauan tentang <i>Plasmodium berghei</i> .....	4
2.2.1. Morfologi <i>P. berghei</i> .....	4
2.3. Tinjauan tentang Uji Antimalaria <i>In vivo</i> .....	5
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	7
3.1. Tujuan Penelitian .....	7
3.2. Manfaat Penelitian .....	7
BAB IV. METODE PENELITIAN .....	8

4.1. Bahan Penelitian .....	8
4.1.1. Daun <i>C. siamea</i> .....	8
4.1.2. Parasit Uji .....	8
4.1.3. Hewan Coba.....	8
4.1.4. Lokasi Penelitian .....	8
4.2. Prosedur Penelitian .....	9
4.2.1. Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi .....	9
4.2.2. Pembuatan Fraksi Alkaloid Total .....	9
4.2.3. Penyiapan Uji Aktivitas Antimalaria .....	9
4.2.4. Pembuatan Larutan Uji .....	10
4.2.5. Pengujian Aktivitas Antimalaria .....	10
4.2.6. Evaluasi Hasil Uji Antimalaria .....	10
4.2.7. Analisa Data .....	11
BAB V. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	12
5.1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun <i>C. siamea</i> .....	12
5.2. Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis .....	12
5.2. Hasil Uji Aktivitas Antimalaria .....	14
5.2.1. Ekstrak Etanol Daun <i>Cassia siamea</i> .....	14
5.2.2. Fraksi Kloroform Daun <i>Cassia siamea</i> .....	16
5.2.3. Fraksi Alkaloid Total Daun <i>Cassia siamea</i> .....	18
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	22
DAFTAR PUSTAKA .....	23

## DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 4.1. Daun Tanaman <i>Cassia siamea</i> .....	8

## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1. Persen Parasitemia Mencit Terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> yang diberi Ekstrak Etanol Daun <i>Cassia siamea</i> .....	14
Tabel 5.2. % Pertumbuhan dan % Penghambatan Ekstrak Etanol Daun <i>Cassia siamea</i> Terhadap <i>Plasmodium berghei</i> secara in vivo .....	15
Tabel 5.3. Harga ED <sub>50</sub> Dari Ekstrak Etanol Daun <i>Cassia siamea</i> .....	15
Tabel 5.4. Persen Parasitemia Mencit Terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> yang diberi Fraksi kloroform Daun <i>Cassia siamea</i> .....	16
Tabel 5.5. % Pertumbuhan dan % Penghambatan Fraksi kloroform Daun <i>Cassia siamea</i> Terhadap <i>Plasmodium berghei</i> secara in vivo .....	17
Tabel 5.6. Harga ED <sub>50</sub> Dari Fraksi kloroform Daun <i>Cassia siamea</i> .....	17
Tabel 5.7. Persen Parasitemia Mencit Terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> yang diberi Fraksi Alkaloid Total Daun <i>Cassia siamea</i> .....	18
Tabel 5.8. % Pertumbuhan dan % Penghambatan Fraksi Alkaloid Total Daun <i>C. siamea</i> Terhadap <i>P. berghei</i> secara in vivo .....	19
Tabel 5.9. Harga ED <sub>50</sub> Dari Fraksi Alkaloid Total Daun <i>Cassia siamea</i> .....	19

## BAB I

## PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang tersebar di seluruh dunia. Sekitar 300-500 juta penduduk menderita penyakit ini, dengan angka kematian lebih dari 1,5-2,7 juta pertahun. Di Indonesia sendiri sampai saat ini penyakit malaria masih merupakan masalah kesehatan masyarakat karena angka kesakitan penyakit ini masih cukup tinggi. Di daerah-daerah terutama di daerah luar Jawa dan Bali masih sering terjadi letusan wabah malaria yang menimbulkan banyak kematian. (WHO,1994)

Usaha penanggulangan terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan, baik dengan obat antimalaria sintesis maupun bahan alam. Tetapi bahaya resistensi dan efek samping yang di timbulkan oleh obat-obatan tersebut tidak dapat dihindarkan. Oleh karena itu penelitian obat baru khususnya yang berasal dari tumbuhan perlu ditingkatkan. Tanaman sebagai sumber potensial obat antimalaria dimulai dengan ditemukannya kinina, alkaloid yang berhasil diisolasi dari kulit batang *Cinchona* sp.

Di Indonesia , salah satu tanaman yang banyak digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria adalah daun *Cassia siamea* ( Johar) dari suku Caesalpiniaceae yang mempunyai kandungan diantaranya ialah senyawa golongan alkaloid (El Sayyed, 1984).

Beberapa penelitian tentang aktivitas *C. siamea* sebagai antimalaria telah dilakukan. Peneliti telah melakukan uji aktivitas antimalaria daun *C. siamea* secara *in vitro* dengan mengikuti tahapan isolasi alkaloid dan didapat hasil IC<sub>50</sub> pada masa inkubasi 48 jam sebagai berikut : Ekstrak etanol: 7,06310 µg/ml, Fraksi kloroform: 2,40565 µg/ml, Fraksi positif alkaloid daun *C. siamea* : 1,70144 µg/ml, sedangkan

harga  $IC_{50}$  klorokuin difosfat sebagai obat antimalaria standar adalah :1,03319  $\mu\text{g/ml}$  (Wiwied, 2001; Wiwied 2002).

Hasil diatas memperlihatkan bahwa daun tanaman ini amat potensial dalam menghambat pertumbuhan *P. falciparum*. Oleh karenanya penelitian ini perlu dilanjutkan dengan melakukan pengujian secara *in vivo* dengan harapan hasil yang didapat nantinya bisa lebih menggambarkan kondisi parasit sesungguhnya dalam tubuh inang dibandingkan uji aktivitas secara *in vitro*.

Pengujian aktivitas antimalaria secara *in vivo* ini menggunakan jenis *Plasmodium berghei* karena mempunyai kemiripan dengan *P. falciparum* yang menginfeksi manusia. Adapun bahan yang digunakan adalah hasil ekstraksi dan fraksinasi dari daun *Cassia siamea* yang telah terbukti mempunyai aktivitas poten dalam menghambat pertumbuhan biakan kultur *P. falciparum* secara *in vitro*. (Wiwied 2001. Wiwied 2002)

Pada tehnik uji secara *in vitro*, dapat dimungkinkan terjadinya perbedaan kondisi parasit didalam dan diluar tubuh induk. Sedang pada uji secara *in vivo*, parasit akan berada dalam tubuh induk sehingga akan mengalami kondisi dan metabolisme yang sesuai dengan parasit yang terdapat pada tubuh manusia. Dengan begitu tentunya hasil uji aktivitas antimalaria secara *in vivo* akan lebih menggambarkan kondisi parasit sesungguhnya dalam tubuh induk.

## 1.2. RUMUSAN MASALAH

- Apakah ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *in vivo*?
- Berapakah harga ED 50 dari ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* ?

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. TINJAUAN TENTANG TANAMAN *CASSIA SIAMEA*

##### 2.1.1. Klasifikasi tanaman (Backer, 1963)

Divisi : Spermatophyta

Anak Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Anak Kelas : Dialypetalae

Bangsa : Leguminosae

Suku : Caesalpiniaceae

Marga : *Cassia*

Jenis : *Cassia siamea*

Nama daerah : Johar, Juwar (Heyne, 1987)

##### 2.1.2. Kandungan kimia *Cassia siamea*

Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman *Cassia siamea* antara lain : (Harboune, 1971; El-Sayyed, 1984; Biswas, 1986)

\* Daun : triterpenoid, alkaloid inti isokuinolin ( siaminin ) , senyawa golongan antrakuinon (dioxapenalen, krisofanolantron)

\* Kayu/batang : tanin, antrakinson, lignin, pentosa hidrosianat

\* Bunga : senyawa alkaloid inti kromon, yaitu cassia denindihidroisokumarin, asam kumarat, sterol



### 2.1.3. Kegunaan *Cassia siamea*

Daun dari tanaman ini telah lama digunakan secara tradisional sebagai obat antimalaria, menghilangkan gatal-gatal dan penyakit kulit. Rebusan dari akar pohonnya dapat digunakan sebagai obat cacing serta bunga dan buahnya sering dipakai sebagai tonikum (Heyne, 1987).

## 2.2 TINJAUAN TENTANG *PLASMODIUM BERGHEI*

Diantara empat macam plasmodium yang menyerang hewan pengerat (rodensia) yaitu *P. berghei*, *P. vinckei*, *P. chabaudi* dan *P. yoelli*, maka *P. berghei* merupakan model yang sempurna untuk penelitian dan pengembangan parasit manusia secara *in vivo*. Hal ini disebabkan karena *P. berghei* memiliki banyak kemiripan dengan *Plasmodium falciparum* yang menginfeksi manusia. Kemiripan tersebut meliputi: sebagian struktur gen DNA, tahapan siklus hidup dan morfologi. Selain itu, *P. berghei* memiliki kemampuan dikembangkan secara *in vitro* untuk produksi skala besar, pemurnian dari tahap-tahap siklus hidupnya, serta sudah diketahui struktur gennya sehingga dapat dibuat modifikasi jalur mutasi gen (Carter and Diggs, 1977).

### 2.2.1 Morfologi *Plasmodium berghei*

*Plasmodium berghei* merupakan salah satu *Plasmodium* yang menyebabkan penyakit malaria pada hewan pengerat yang dapat menyebabkan kematian. Pada pewarnaan Giemsa dijumpai 3 tahapan bentuk yaitu: bentuk tropozoit, bentuk skizon, dan bentuk gametosit.

1. Bentuk tropozoit : Tropozoit muda berbentuk cincin halus dengan diameter 1/6 diameter eritrosit. Pada cincin terdapat butir-butir kromatin berwarna merah yang berkelompok maupun terpisah satu sama lain. Sitoplasma tampak berwarna biru.

Tropozoit dewasa mempunyai bentuk yang kompak, sitoplasma melebar dan mempunyai pigmen berupa titik-titik kasar berwarna ungu yang tampak jelas.

2. Bentuk skizon : Skizon berbentuk bulat atau lonjong dengan ukuran 30 $\mu$ m. Skizon muda dikenali dengan adanya 1 sampai 2 butir pigmen granula yang menggumpal dengan titik-titik kasar yang tampak jelas. Dalam perkembangannya, skizon berwarna biru dengan kromatin merah-ungu. Skizon dalam eritrosit dewasa manampakkan segmen-segmen yang membentuk 8-12 buah merozoit. Sedangkan pada retikulosit terdapat 12-18 buah merozoit dengan ukuran 1,6 $\mu$ m.
3. Gametosit : Gametosit pada *Plasmodium berghei* berbentuk bulat atau oval. Pada pengecatan Giemsa, plasma berwarna biru, inti berwarna merah, sel berwarna merah muda dan pigmen berwarna kuning sampai hitam.

Ada dua macam bentuk gametosit pada *Plasmodium berghei*, yaitu makrogamet dan mikrogamet. Makrogamet biasanya lebih langsing dan lebih panjang daripada mikrogamet, dengan sitoplasma lebih biru pada pewarnaan Giemsa. Intinya lebih kecil dan padat, berwarna merah tua dan butir-butir pigmen yang berkelompok disekitarnya. Mikrogamet berbentuk lebih besar dengan ukuran 1,5 $\mu$ m, dengan sitoplasma biru pucat atau agak kemerahan. Intinya berwarna merah muda., besar dan tidak padat. Butir-butir pigmen tersebar pada sitoplasma sekitar inti. (Sinden, 1978 )

### 2.3. TINJAUAN TENTANG UJI ANTIMALARIA *IN VIVO*

Ada dua tes yang berbeda untuk pengujian menggunakan *P. berghei* yang bisa digunakan yaitu : (Phillipson, 1991)

#### A. Tes Peter (*The 4-day suppressive test of blood schizontocidal action*)

Mencit jantan dengan berat 20  $\pm$  2 gram ditempatkan dalam ruang bersuhu 22°C ( $\pm$  2°C) sebanyak 5 kelompok dan diberi makanan dengan menu standar.

Darah dari mencit donor 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 di ekor pada hari 0. Ekstrak tanaman bisa dilarutkan atau dibuat suspensi dengan triturasasi atau sonifikasi setelah penambahan 0.2% larutan Tween atau 0.5% larutan CMC atau 0.5%DMSO. Larutan ekstrak dalam air diberikan perhari dengan rentang dosis 1 - 100 mg/kgBBmencit dimulai semenjak hari mulainya penginfeksian selama 4 hari berturut-turut lewat rute subkutan atau oral. Pada hari kelima, diambil sampel darah dari ekor dan dilakukan pewarnaan dengan pewarna yang sesuai (misal: Giemsa) dan diukur persentase jumlah eritrosit yang mengandung parasit dibandingkan jumlah total eritrosit. Harga  $ED_{50}$  bisa dihitung dengan log dosis/aktivitas probit.

#### B. Tes Rane

Dasar dari tes ini adalah membandingkan efek dari perlakuan standar pemberian *P. berghei* yang membunuh mencit dalam 6 hari dengan perpanjangan waktu bertahan hidup sampai 12 hari, dengan perlakuan pemberian sebuah dosis tunggal senyawa yang diujicobakan. Kelompok standar diberikan  $10^6$  sel donor yang terinfeksi secara intraperitoneal pada hari 1 dan larutan ekstrak tanaman atau suspensi dalam oleum arachidis yang telah tersonifikasi diberikan secara subkutan dengan dosis 640, 320, 160 dan 80 mg/kg berat badan pada hari ke empat.

Penilaian aktivitas berdasarkan jumlah yang masih hidup, lebih dari dua kali lipat dibandingkan kelompok kontrol. *Minimum Effective Dose* (MED) yang didapat dibandingkan dengan *Maximum Tolerated Dose* yang mengakibatkan tidak lebih dari 1/5 jumlah mencit mati karena efek toksik. Dosis yang lebih rendah mungkin dibutuhkan untuk mendapatkan harga MED.

## BAB III

### TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

#### 3.1. TUJUAN PENELITIAN

##### 3.1.1. TUJUAN UMUM

Untuk mengetahui daya hambat ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *in vivo*

##### 3.1.2. TUJUAN KHUSUS

Untuk mengetahui harga ED 50 dari ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*

#### 3.2. MANFAAT PENELITIAN

Diharapkan dengan adanya penelitian ini akan didapatkan informasi ilmiah yang lengkap mengenai aktivitas antimalaria secara *in vivo* dari daun *Cassia siamea*, yang nantinya dapat menjadi data pendukung yang penting dari tanaman ini untuk diteruskan menuju penelitian uji manfaat secara klinik . Sehingga pada akhirnya daun *C. siamea* ini dapat digunakan sebagai bahan obat nabati untuk penyakit malaria, yang dapat mengganti obat-obat antimalaria yang tidak atau kurang efektif lagi dalam menanggulangi penyakit malaria

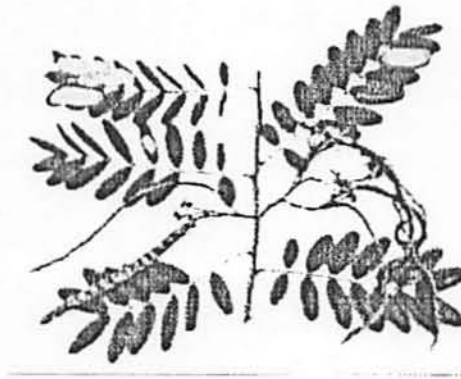
## BAB IV

## METODE PENELITIAN

## 4.1. Bahan Penelitian

4.1.1. Daun *Cassia siamea*

Daun *C. siamea* yang di peroleh dari lingkungan kampus B Universitas Airlangga dan telah dideterminasi di Laboratorium Botani-Farmasi FFUA, diambil secara acak, dicuci dan dikeringkan dengan diangin-anginkan diudara terbuka. Setelah kering daun diserbuk sampai halus



Gambar 4.1. Daun tanaman *Cassia siamea*

## 4.1.2. Parasit Uji

Parasit yang digunakan adalah biakan *Plasmodium berghei* dalam suspensi sel darah merah mencit. Biakan *Plasmodium berghei* diperoleh dari laboratorium Malaria, Lembaga Biomoleuler Eijkman, Jakarta

## 4.1.3. Hewan Coba

Mencit (*Mus musculus*) strain *Balb C* berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram. jenis kelamin jantan diperoleh dari Laboratorium Hewan Universitas Airlangga Surabaya

## 4.1.4. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Bagian Ilmu Bahan Alam FFUA dan Laboratorium Hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya

## 4.2. Prosedur Penelitian

### 4.2.1. Pembuatan Ekstrak Etanol dan Fraksi Kloroform

Serbuk daun *C. siamea* diekstraksi dahulu dengan pelarut n-heksana kemudian serbuk dikeringkan dan diekstraksi lagi dengan etanol 90% yang mengandung 1% asam tartrat. Hasil ekstrak disaring dan dipekatan dengan rotavapour. Ekstrak kental ini sebagian dilakukan uji antimalarianya sedangkan yang lainnya kemudian dibasakan dengan NH<sub>4</sub>OH dan diekstraksi kocok dengan kloroform beberapa kali. Hasil fraksi kloroform kemudian dikumpulkan dan dirotavapour sampai pekat. Sebagian fraksi dari kloroform ini dilakukan uji aktivitas antimalarianya, sedang lainnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom vakum.

### 4.2.2. Pembuatan Fraksi Alkaloid Total dengan Kromatografi Kolom Vakum

Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 G (E-merck), alat yang digunakan adalah sintered glass yang dihisap dengan pompa vakum. Elusi dilakukan dengan fase gerak yang merupakan campuran dari n-heksana - kloroform - etanol dengan berbagai perbandingan. Pada hasil fraksi yang positif alkaloid selanjutnya dilakukan uji antimalaria

### 4.2.3. Penyiapan Uji Aktivitas Antimalaria

Parasit beku *P. berghei* dalam medium alceiver (1:3) dihangatkan sampai suhu 37° C, diinfeksi pada mencit donor sebanyak 0,2 ml (i.p) dan dibiakkan sampai parasitemia 20%. Kemudian diambil 1 ml darah mencit donor dari jantung ditambah 3 ml medium Alceiver's. Diinjeksikan ke mencit sehat secara i.p. sebanyak 0,2 ml, kemudian mencit dipelihara beberapa hari sampai tingkat parasitemia 1 - 5 %. Kemudian dilakukan pengujian terhadap larutan uji.

#### 4.2.4 Pembuatan Larutan Uji

##### ♦ Kontrol positif dan negatif

Sebagai pembanding atau kontrol positif digunakan Klorokuin difosfat dengan konsentrasi 10,0 mg/kg BB mencit. (Black,1986 ; Markinde,et.al., 1987) sedang sebagai kontrol negatif digunakan CMC Na dengan konsentrasi 0,5%

##### ♦ Pembuatan larutan uji dari daun *C. siamea*

Bahan uji adalah ekstrak etanol , fraksi kloroform dan fraksi positif alkaloid daun *C. siamea* dengan konsentrasi 500; 250; 100; 50; 25; 12,5 ; 6,25; 3,13 dan 1,56 mg/ KgBB mencit.

#### 4.2.5. Pengujian Aktivitas Antimalaria

Uji aktivitas antimalaria pada percobaan ini menggunakan metode Peter test (1977). Adapun kriteria aktivitas antimalaria dari bahan uji adalah membandingkan jumlah parasit yang hidup pada larutan uji dengan jumlah parasit yang hidup pada kontrol negatif. Tiap kelompok dosis terdiri dari 5-10 mencit. Prinsip ujinya yaitu 0,200 ml bahan uji dengan berbagai konsentrasi dimasukkan dalam tubuh mencit seberat 20 gram dengan tingkat parasitemia 1-5 % secara per oral selama 4 hari berturut-turut, kemudian dilakukan pengamatan dan dilakukan perhitungan harga ED<sub>50</sub>. (Carvalho,et.al., 1991).

#### 4.2.6. Evaluasi Hasil Uji Antimalaria

Setiap hari dengan waktu yang sama, darah dari tiap mencit dengan berbagai konsentrasi dibuat hapusan darah tipis yang dicat dengan pewarna giemsa. Selanjutnya dihitung prosen penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* dengan menghitung jumlah sel terinfeksi parasit yang terhadap 5000 eritrosit.



## \* Rumus penghitungan parasitemia

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

## \* Rumus prosentase penghambatan

$$\% \text{ Penghambatan} = \left( 100\% - \left| \frac{X_p}{X_k} \right| \right) \times 100\%$$

Keterangan:  $X_p$  = % Pertumbuhan rata-rata parasit pada larutan uji  
 $X_k$  = % Pertumbuhan rata-rata parasit pada kontrol negatif

## \* Rumus pertumbuhan parasit

$$\text{Pertumbuhan rata-rata} = \frac{(D_1 - D_0) + (D_2 - D_1) + (D_3 - D_2) + (D_4 - D_3)}{4}$$

Keterangan:  $D_0$  = Parasitemia pada awal pengujian  
 $D_1 - D_4$  = Parasitemia pada hari ke-1 sampai Hari ke-4

## 4.2.7. Analisis Data

$ED_{50}$  adalah dosis efektif yang mampu menghambat 50% pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *invivo*. Untuk menentukan nilai  $ED_{50}$  digunakan analisis probit dengan membuat kurva hubungan antara probit (*Probability unit*) persen penghambatan dengan logaritma kadar menggunakan persamaan garis regresi linear. (Phillipson, 1991)

## BAB V

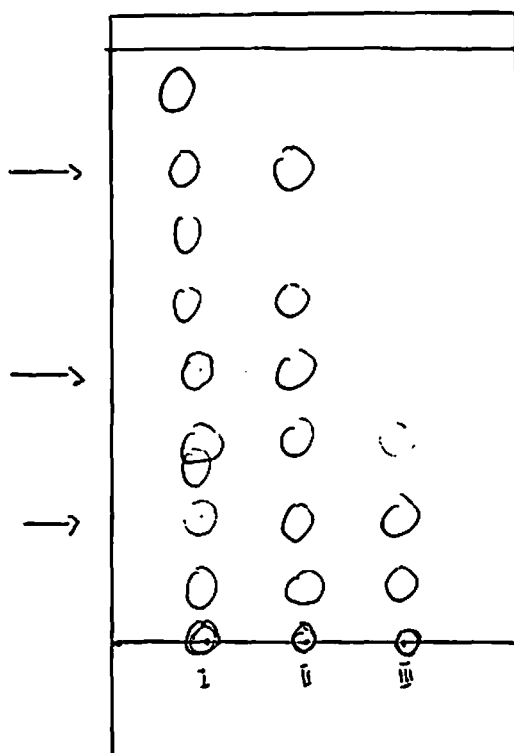
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun *Cassia siamea*

Daun *C. siamea* sebanyak 1,53 kg diekstraksi dengan pelarut n-heksana untuk menghilangkan lemak-lemaknya. Kemudian serbuk daun *C. siamea* yang telah diekstraksi tersebut dikeringkan kembali dan diekstraksi lagi dengan etanol 96% yang telah mengandung 1 % asam tartrat pada suhu kamar. Hasil ekstraksi dirotavapour kemudian dibasakan dengan  $\text{NH}_4\text{OH}$  dan diekstraksi lagi dengan  $\text{CHCl}_3$ , diperoleh fraksi  $\text{CHCl}_3$  pekat seberat 79,75 g. Selanjutnya dari 13 g fraksi kloroform dilakukan fraksinasi menggunakan kolom cepat didapatkan fraksi alkaloid total seberat 4,0580 g

#### 5.2. Identifikasi Secara Kromatografi Lapis Tipis

Hasil ekstraksi, fraksi dari daun *C. siamea* diamati dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fasa diam Silika gel GF 254, fasa gerak  $\text{CHCl}_3$  : etanol = (9 : 1) dengan penampak noda pereaksi Dragendorff dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 5.1. Kromatogram hasil KLT ekstrak, fraksi dan isolat daun *C. siamea* dengan penampak noda Dragendorff

Keterangan gambar :

- I : Ekstrak etanol daun *C. siamea*
- II : Fraksi CHCl<sub>3</sub> daun *C. siamea*
- III : Fraksi alkaloid total daun *C. siamea*

Harga Rf hasil kromatografi lapis tipis dari ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi alkaloid total daun *C. siamea* menggunakan penampak noda Dragendorff dapat dilihat pada tabel 5.1. dibawah ini :

Tabel 5.1. Hasil KLT ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi 16 dan fraksi alkaloid total

Bahan	Harga Rf	Dragendorff
Ekstrak etanol daun <i>C. siamea</i>	0,78	Jingga
	0,45	Jingga
	0,21	Jingga
Fraksi kloroform daun <i>C. siamea</i>	0,78	Jingga
	0,45	Jingga
	0,21	Jingga
Fraksi alkaloid total	0,21	Jingga

### 5.3. Hasil Uji Aktivitas Antimalaria Daun *Cassia siamea*

#### 5.3.1. Ekstrak Etanol Daun *Cassia siamea*

Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak etanol daun *Cassia siamea* pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel 5.1. Persen Parasitemia Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* yang Diberi Ekstrak Etanol *Cassia siamea***

Dosis (mg/Kg BB)	R	H0	H1	H2	H3	H4
K (-)	I	2,43	5,21	6,68	8,56	11,76
	II	4,68	6,12	9,25	11,73	13,81
	III	11,39	13,53	16,39	18,91	24,38
12,5	I	2,83	4,69	7,35	9,85	13,45
	II	3,16	5,84	6,91	8,12	9,47
	III	2,71	4,40	8,79	8,89	12,52
25	I	2,56	3,18	5,41	6,27	8,63
	II	4,18	5,69	7,36	8,20	10,15
	III	3,61	4,73	7,16	9,32	10,71
50	I	3,51	4,23	6,71	7,53	7,94
	II	4,35	5,01	6,48	7,02	7,66
	III	7,53	9,55	11,08	10,76	11,39
100	I	6,99	6,84	8,82	7,67	9,10
	II	5,56	4,84	5,9	6,89	6,8
	III	6,47	6,90	7,43	7,86	9,41
250	I	4,39	5,8	6,43	6,02	8,75
	II	2,0	3,98	4,17	3,93	3,10
	III	2,16	3,18	3,95	4,52	4,61
500	I	4,20	2,96	3,26	4,56	4,13
	II	9,84	8,69	9,16	10,50	9,11
	III	3,7	3,81	5,01	5,66	5,60
K (+)	I	2,44	2,52	1,40	1,46	0,36
	II	2,62	2,82	1,58	0,08	0
	III	3,35	2,16	1,18	0,44	0,12

Keterangan : K (-) = kontrol negatif  
 K (+) = kontrol positif  
 H0-H4 = hari I sampai hari ke 5  
 R = Replikasi

Hasil rata-rata persen pertumbuhan parasit (parasitemia) dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

**Tabel 5.2. % Pertumbuhan Dan % Penghambatan Ekstrak Etanol Daun *Cassia siamea* Terhadap *Plasmodium berghei* Secara In Vivo**

Dosis (mg/Kg BB)	Replikasi	% pertumbuhan parasitemia	% penghambatan	% penghambatan rata-rata
K-	1	2,38	0	0
	2	2,28	0	
	3	3,93	0	
12,5	1	2,65	7,35	22,5
	2	1,57	45,11	
	3	2,43	15,04	
25	1	1,51	52,79	46,27
	2	1,49	47,91	
	3	1,77	38,12	
50	1	1,10	61,54	65,50
	2	0,82	71,33	
	3	1,04	63,64	
100	1	0,87	69,59	75,41
	2	0,51	82,17	
	3	0,73	74,48	
250	1	0,67	76,58	78,79
	2	0,54	81,12	
	3	0,61	78,68	
500	1	0,4	86,02	84,38
	2	0,45	84,27	
	3	0,49	82,87	
K (+)	1	0,03	98,96	99,07
	2	0,05	98,26	
	3	0	100	

Dari perhitungan dengan menggunakan analisa probit didapatkan harga ED<sub>50</sub> ekstrak etanol daun *Cassia siamea* terhadap *P. berghei* secara *in vivo* sebagai berikut :

**Tabel 5.3. Harga ED<sub>50</sub> dari Ekstrak Etanol Daun *Cassia siamea***

Nama Bahan	Harga ED <sub>50</sub>
Ekstrak Etanol daun <i>C. siamea</i>	34,69 mg/Kg BB

### 5.3.2. Fraksi Kloroform Daun *Cassia siamea*

Hasil uji aktivitas antimalaria fraksi kloroform daun *Cassia siamea* pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel 5.4. Persen Parasitemia Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* yang Diberi Fraksi Kloroform Daun *Cassia siamea***

Dosis (mg/Kg BB)	R	H0	H1	H2	H3	H4
K (-)	I	2,43	5,21	6,68	8,56	11,76
	II	4,68	6,12	9,25	11,73	13,81
	III	11,39	13,53	16,39	18,91	24,38
6,25	I	3,56	6,67	9,31	10,56	13,41
	II	2,68	7,31	8,68	11,91	14,95
	III	2,66	6,51	7,31	10,16	14,16
12,5	I	2,02	6,42	9,21	9,11	10,02
	II	3,64	7,32	9,08	9,60	9,85
	III	2,21	5,46	7,38	8,61	9,14
25	I	5,12	6,21	5,50	5,94	7,21
	II	5,70	7,29	7,10	7,41	9,61
	III	2,86	3,96	5,43	5,97	7,31
50	I	10,12	10,91	9,03	8,03	8,00
	II	7,23	8,23	5,91	5,24	4,52
	III	2,45	3,80	3,28	3,36	3,17
100	I	2,47	3,19	3,59	3,16	3,57
	II	2,25	3,14	3,61	4,52	3,94
	III	6,85	7,97	8,15	8,31	7,84
K (+)	I	2,44	2,52	1,40	1,46	0,36
	II	2,62	2,82	1,58	0,08	0
	III	3,35	2,16	1,18	0,44	0,12

Keterangan : K (-) = kontrol negatif  
 K (+) = kontrol positif  
 H0-H4 = hari I sampai hari ke 5  
 R = Replikasi

**Tabel 5.5. % Pertumbuhan Dan % Penghambatan Fraksi Kloroform Daun *Cassia siamea* Terhadap *Plasmodium berghei* Secara *In Vivo***

Dosis (mg/Kg BB)	Replikasi	% pertumbuhan parasitemia	% penghambatan	% penghambatan rata-rata
K (-)	1	2,38	0	0
	2	2,28	0	
	3	3,93	0	
6,25	1	2,46	13,99	4,66
	2	3,00	0	
	3	2,95	0	
12,5	1	2,02	29,4	38,24
	2	1,55	45,81	
	3	1,73	39,51	
25	1	0,70	75,53	67,02
	2	1,02	64,34	
	3	1,11	61,19	
50	1	0,19	93,36	90,79
	2	0,25	91,26	
	3	0,35	87,77	
100	1	0,38	86,72	84,73
	2	0,56	80,42	
	3	0,37	87,07	
K (+)	1	0,03	98,96	99,07
	2	0,05	98,26	
	3	0	100	

Dari perhitungan dengan menggunakan analisa probit didapatkan harga ED<sub>50</sub> Fraksi kloroform daun *Cassia siamea* terhadap *P. berghei* secara *in vivo* sebagai berikut :

**Tabel 5.6. Harga ED 50 dari Fraksi Kloroform Daun *C. siamea***

Nama Bahan	Harga ED <sub>50</sub>
Fraksi kloroform daun <i>C. siamea</i>	19, 59 mg/kg BB



### 5.3.3. Fraksi Alkaloid Total Daun *Cassia siamea*

Hasil uji aktivitas antimalaria fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.7. Persen Parasitemia Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* yang Diberi Fraksi Alkaloid Total Daun *Cassia siamea*

Dosis (mg/Kg BB)	R	H0	H1	H2	H3	H4
K (-)	I	2,39	3,77	5,25	8,18	9,53
	II	1,90	2,90	5,23	8,98	9,36
	III	1,36	4,91	5,18	8,21	16,82
1,56	I	2,48	3,73	5,21	6,76	5,66
	II	2,05	3,32	1,89	3,89	2,46
	III	1,52	4,18	3,93	4,06	5,27
3,13	I	2,22	4,98	2,83	4,31	4,78
	II	3,18	2,15	5,41	6,13	4,16
	III	5,56	5,00	6,38	5,36	4,70
6,25	I	2,58	2,41	3,97	4,76	7,01
	II	2,93	3,68	3,89	4,58	5,29
	III	2,69	2,71	4,54	3,47	3,97
12,5	I	3,90	5,34	4,55	4,25	4,95
	II	1,91	1,92	2,07	3,03	2,99
	III	2,67	5,70	6,88	8,82	7,00
K (+)	I	2,44	2,52	1,40	1,46	0,36
	II	2,62	2,82	1,58	0,08	0
	III	3,35	2,16	1,18	0,04	0,12

Keterangan : K (-) = kontrol negatif

K (+) = kontrol positif

H0-H4 = hari 1 sampai hari ke 5

R = Replikasi

**Tabel 5.8. % Pertumbuhan Dan % Penghambatan Fraksi Alkaloid Total Daun *Cassia siamea* Terhadap *Plasmodium berghei* Secara *In Vivo***

Dosis (mg/Kg BB)	Replikasi	% pertumbuhan parasitemia	% penghambatan	% penghambatan rata-rata
K (-)	1	1,79	0	0
	2	1,86	0	
	3	3,86	0	
1,56	1	0,94	62,40	61,33
	2	0,96	61,60	
	3	1	60,00	
3,13	1	1,18	52,80	66,93
	2	1	61,60	
	3	0,34	86,40	
6,25	1	1,15	54,00	68,93
	2	0,59	76,40	
	3	0,59	76,40	
12,5	1	0,54	78,40	78,67
	2	0,28	88,80	
	3	0,78	68,80	
K (+)	1	0,03	98,96	99,07
	2	0,05	98,26	
	3	0	100	

Dari perhitungan dengan menggunakan analisa probit didapatkan harga ED<sub>50</sub> Fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* terhadap *P. berghei* secara *in vivo* sebagai berikut :

**Tabel 5.9. Harga ED 50 dari Fraksi Alkaloid Total Daun *C. siamea***

Nama Bahan	Harga ED <sub>50</sub>
Fraksi alkaloid total daun <i>C. siamea</i>	0,47 mg/kg BB

Pada penelitian terdahulu telah dilakukan uji aktivitas antimalaria dari daun *Cassia siamea* secara *in vitro* menggunakan *Plasmodium falciparum* dan didapatkan hasil bahwa tanaman ini amat potensial dalam menghambat pertumbuhan *P.*

*falciparum* (Wiwied 2002) . Oleh karenanya peneliti melanjutkan pengujian tentang aktivitas antimalaria dari daun *Cassia siamea* secara *in vivo* terhadap mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*, dengan harapan hasil yang didapat nantinya bisa lebih menggambarkan kondisi parasit sesungguhnya dalam tubuh inang dibandingkan uji aktivitas secara *in vitro*.

Pemilihan menggunakan *Plasmodium berghei* , dikarenakan *Plasmodium berghei* merupakan model yang sempurna untuk penelitian dan pengembangan parasit malaria secara *in vivo*. Hal ini disebabkan *Plasmodium berghei* memiliki banyak kemiripan dengan *Plasmodium falciparum* yang menginfeksi manusia. Kemiripan tersebut meliputi; sebagian struktur gen DNA, tahapan siklus hidup, dan morfologi. Keuntungan lainnya adalah sifat infeksinya yang lebih cepat dan lebih ganas dibandingkan spesies lain yang menyerang rodensia, sehingga apabila ada efek penghambatan, selama 5 hari percobaan perubahan % parasitemia pada tiap harinya akan terlihat lebih jelas dibandingkan spesies yang perkembangannya lambat. (Carter and Diggs, 1977).

Pada percobaan ini ,digunakannya klorokuin difosfat sebagai kontrol positif karena klorokuin adalah obat standar dalam pengobatan malaria (*drug of choice*), sedangkan dipilih dosis 10 mg/kg BB karena menurut penelitian Phillipson (1991) pada dosis ini sudah terjadi penghambatan 100% terhadap *P. berghei* strain ANKA. Uji kontrol negatif dilakukan untuk menghindari positif palsu yang ditimbulkan pelarut, dan untuk mengetahui pertumbuhan parasit dalam tubuh mencit tanpa dipengaruhi faktor penghambatan pertumbuhan oleh senyawa yang diduga mempunyai aktivitas antimalaria. Kontrol negatif ini selanjutnya digunakan sebagai pembanding dalam perhitungan pertumbuhan parasit pada kontrol positif dan bahan uji. Sedangkan sebagai bahan uji digunakan ekstrak etanol , fraksi kloroform dan

fraksi total alkaloid daun *Cassia siamea* dengan dosis sebesar 1,56; 3,13, 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 250 dan 500 mg/kg BB mencit

Hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan besarnya aktivitas antimalaria diketahui dengan membuat grafik antara dosis dengan persen penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei*. Selanjutnya dilakukan analisis probit sehingga diperoleh harga  $ED_{50}$  yang menunjukkan dosis efektif yang menghambat 50% pertumbuhan *Plasmodium berghei* dibandingkan kontrol negatif. Semakin kecil nilai  $ED_{50}$ , maka semakin besar efektivitas ekstrak uji terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*. Dari hasil analisa didapatkan bahwa harga  $ED_{50}$  ekstrak etanol daun *Cassia siamea* sebesar 34,69 mg/Kg BB, fraksi kloroform sebesar 19,59 mg/Kg BB dan fraksi alkaloid total sebesar 0,47 mg/Kg BB.

Apabila dibandingkan dengan harga  $ED_{50}$  dari klorokuin difosfat sebesar 0,16 mg/Kg BB (Diana, 2004) memang harga  $ED_{50}$  ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total masih lebih besar, namun hal ini dikarenakan klorokuin difosfat adalah senyawa murni. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* cukup potensial dalam menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *in vivo*. Disini juga diketahui bahwa fraksi alkaloid total daun *C. siamea* lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi kloroform daun *Cassia siamea*. Hal ini sesuai dengan hasil uji *in vitro*, yang mana makin banyak bahan mengandung senyawa alkaloid, makin besar aktivitasnya sebagai bahan antimalaria. Karenanya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui lebih jauh potensi dari senyawa alkaloid daun *Cassia siamea* dengan melakukan isolasi serta mengujinya secara *in vivo* sehingga didapatkan senyawa yang berkhasiat sebagai antimalaria.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. KESIMPULAN

Semua bahan uji dari daun *Cassia siamea* dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* secara *in vivo*. Dari perhitungan didapatkan harga  $ED_{50}$  masing-masing bahan uji sebagai berikut :

- Ekstrak etanol daun *Cassia siamea* : 34,69 mg /Kg BB
- Fraksi kloroform daun *Cassia siamea* : 19, 59 mg/Kg BB.
- Fraksi alkaloid total daun *Cassia siamea* : 0,47 mg/Kg BB

o

#### 6.2. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui lebih jauh potensi dari senyawa alkaloid daun *Cassia siamea* dengan melakukan isolasi serta mengujinya secara *in vivo* sehingga akhirnya didapatkan senyawa yang berkhasiat sebagai antimalaria.

## DAFTAR PUSTAKA

- Biswas KM, 1986. Cassiadinina Chromon Alkaloid and (+) - 6 - Hidroxymeleni A Dihydroisocoumarin from *Cassia siamea* Lamk. *Phytochemistry*. Vol. 25 : 1727 - 1730 .
- Carter and Diggs. 1977. *Parasitic Protozoa* Vol. III. Academic Press, New York. Hal. 359 - 465
- Carvalho LH, Brandao MGL, Santos-Filho D, Lopez JLC, Krettli AU, 1991. Antimalaria activity of Crude extracts from Brazilian plants studied in vivo in *Plasmodium berghei* infected mice and in vitro against *Plasmodium falciparum* in culture. *Braz.J.Med Boil Res*. 24 : 1113-1123
- Dey P.M, and Harborne J.B (Ed.) 1991. Assays for Bioactivity. *Methods in Plant Biochemistry*. vol 6. Academic Press London. p.135 - 152.
- El-Sayyad SM, Ross SA and Sayed HM, 1984. New isoquinolone alkaloids from the leaves of *Cassia siamea*. *J. of Natural Products*. Vol. 47 (4) : 708 - 710
- Harborne JB, Bouter D, Turner B, 1971. *Chemotaxonomy of the Leguminosae*. London : Academic Press, pp. 262 -265
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid 3, Terjemahan Badan Litbang Kehutanan. Jakarta : hal. 926 - 927
- Krettli Antonia U. dkk 17 Desember 2002. *The Search for New Antimalarial Drugs from Plants Used to Treat Fever and Malaria for Plants Randomly Selected a Review*. <http://www.memorias.ioc.fiocruz.br/968/4336.html>
- Mishra, SK., Satpathy, SK and Mohanty S. 1999. Survey of Malaria Treatment and Death. *Bulletin of World Health Organization*.
- Phillipson JD and Wright CW, 1991. Antiprotozoal agents plant sources. *Planta Medica* 57 (1) : 53 - 59
- Sinden, RE. 1978. *Rodent Malaria*. Academic Press. London
- World Health Organization. 1985. Special programe for research and training in tropical disease research . TDR seventh program report. *Malaria* (2). WHO Spec. programme for trop. disease. pp. 2 -13
- Wiwied E., Wahjo D., Yoes PD., and Suhintam P., 2001. In Vitro antiplasmodial activity of alkaloid fraction of chloroform extract of *Cassia siamea* leaves, WHO UI, Jakarta

Wiwied E, Wahjo D, Yoes PD. Uji Antimalaria *In Vitro* Dari Ekstrak Etanol, Kloroform Daun *Cassia Siamea*. Majalah Kedokteran Tropis Indonesia. Vol. 12 No. 12 September 2001

Wiwied E, Aty W, Suhintam P. 2002, Daya Skinzontosida Ekstrak Etanol, Ekstrak Kloroform dan Fraksi yang Positif Alkaloid daun *Cassia Siamea* Pada biakan *in Vitro Plasmodium falciparum*. Penelitian Dosen Muda (BBI). Lemlit Unair. Surabaya