

1. EUPATORIUM TRIPLINERVE
2. ANTI MALIR PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA
3. PLASMODIUM FALCIPARUM

# DISERTASI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ZAT KANDUNGAN  
DAUN PRASMAN  
(*EUPATORIUM TRIPLINERVE*. VAHL)  
YANG BERKHASIAT SEBAGAI ANTI *PLASMODIUM  
FALCIPARUM* IN VITRO.**

kk  
Des M 11/02  
Sut  
f



**Siti Masroerah Broto Sutaryo**

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ZAT KANDUNGAN  
DAUN PRASMAN (*EUPATORIUM TRIPLINERVE* . VAHL)  
YANG BERKHASIAH SEBAGAI ANTI *PLASMODIUM*  
*FALCIPARUM* IN VITRO**

**DISERTASI**

Untuk memperoleh gelar Doktor  
dalam  
Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
di bawah Pimpinan Rektor Universitas Airlangga

**Prof. H. Soedarto, dr., DTM&H., Ph.D.**

Untuk dipertahankan di hadapan  
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga

Oleh:

**Siti Masroerah Broto Sutaryo**  
NIM . 099010873

PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999

Telah diuji pada Ujian Tertutup

Tanggal 16 Desember 1998

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

- Ketua : Prof. Dr. Noorcholies Zaini, Apt.
- Anggota : 1. Prof. Dr. Soedarman Brotosisworo, Apt.  
2. Dr. H. Fasich, Apt.  
3. Prof. Drs. Sumadi, Apt.  
4. Prof. Dr. Sri Oemijati, dr., MPH. TM  
5. Prof. Dr. Sutarjadi, Apt.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan  
Rektor Universitas Airlangga  
Nomor : 609/J03/PP/1999  
Tanggal : 2 Januari 1999

**LEMBAR PENGESAHAN**

DISERTASI INI TELAH DISETUJUI  
UNTUK DIAJUKAN PADA UJIAN TAHAP II

**Promotor : Prof. Dr. H. Sutarjadi, Apt.**

Handwritten signature of Prof. Dr. H. Sutarjadi, Apt. The signature is written in black ink and is highly stylized, with a large, sweeping initial 'S'.

**Kopromotor : Prof. Dr. Sri Oemijati, dr. MPH. TM. ....**

“ DAN TIDAKLAH ENKKAU DIBERI ILMU

KECUALI HANYA SEDIKIT”

(Q.S. Al Israa' ayat 85)

## UCAPAN TERIMAKASIH

Bismillah hirrochmannirrochim,

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang telah melimpahkan Rachmat dan Hidayah-Nya sehingga disertasi ini dapat kami selesaikan.

Penyusunan disertasi ini berdasarkan hasil penelitian tentang manfaat *Eupatorium triplinerve* Vahl. sebagai obat malaria, dengan harapan dapat merupakan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya, dan khususnya di bidang penggunaan tumbuhan sebagai obat.

Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada semua yang telah memberikan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan disertasi ini, karena tanpa bantuannya penulis tidak akan dapat menyelesaikannya.

Ungkapan terimakasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada :

Prof. H. Soedarto, dr. DTM&H, PhD., Rektor Universitas Airlangga dan Prof. H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr., mantan Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan program doktor di Universitas Airlangga, Surabaya.

Prof. Dr. H. Soedijono Tirtowidardjo, dr., Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga dan Prof. Dr. Sutarjadi, Apt. mantan Direktur Program

Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan program doktor di Universitas Airlangga, Surabaya

Prof. Dr. H. Sutarjadi, Apt., selaku Promotor yang telah memberikan bimbingan selama saya mengikuti program doktor sampai terselesaikannya penulisan disertasi ini.

Prof. Dr. Sri Oemijati dr., MPH TM., Konsultan WIIO di PUSLITBANGKES DEPKES RI. sebagai kopromotor saya yang telah memberikan bimbingan dalam menyelesaikan disertasi saya.

Jend. T.N.I. Purn. Achmad Tahir, selaku Ketua Yayasan Pendidikan dan Pembina Universitas Pancasila Jakarta; Prof. Dr. Soebroto, Rektor Universitas Pancasila dan Prof. Dr. Awaloedin Djamin MPA., mantan Rektor Universitas Pancasila ; M.Sumitro, drs. Apt., Dekan Fakultas Farmasi Universitas Pancasila dan R.B.Sutrisno, drs. Apt., mantan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Pancasila yang telah memberikan kesempatan dan bantuan biaya untuk melanjutkan pendidikan.

Prof.Dr. Pinardi Hadidjaja dr. MPH TM., Prof. Wita Pribadi dr., Inge Sutanto, dr.M.Phil., Rusli Mulyono dr. MSc. dan Rawina Winita Sutjahjono dra. MSc. atas fasilitas, bimbingan dan saran yang diberikan selama kami mengikuti latihan pembiakan *Plasmodium falciparum* di bagian Parasitologi FKUI Jakarta.

Prof.Dr. Sulaksono, Prof. Dr.J.R. Wattimena (alm.), Dr.Anna Setiadi Ranti, Apt. dan Dr. Maria Immaculata , Apt. M.Sc., yang telah memberikan kesempatan, fasilitas, bantuan biaya dan bimbingan selama melakukan penelitian tumbuhan anti *P.falciparum* di PAU Ilmu Hayati ITB Bandung.

Capt. H.V.Peterson, MSc. USN, Dr.Kurt Sorensen, Budi Leksono, drs. dan staf NAMRU -2 yang telah memberikan kesempatan, fasilitas dan bimbingan selama melakukan penelitian tumbuhan anti *P.falciparum* di NAMRU-2 Jakarta.

Brig. Jen. Pol. (Purn.) H.Untung Haryono, drs. dan Sri Pancawaty, dra. yang telah memberi kesempatan dan bimbingan tehnik penggunaan alat GC-MS untuk analisa struktur senyawa anti *P.falciparum* di PUSLABFOR MABES POLRI Jakarta.

Dr. Sumarjati Arjoso SKM., Kepala PUSLIT Penyakit Menular BALITBANGKES R.I. dan Dr. Suriadi Gunawan DPH. mantan Kepala PUSLIT Penyakit Menular BALITBANGKES R.I., Harijani Marwoto, dra. Kepala Kelompok Penelitian Penyakit bersumber Binatang BALITBANGKES RI. Sekartuti Sulaksono, drg., Rita Supardiono, drh. yang telah memberikan fasilitas dan bimbingan tehnik selama saya melakukan penelitian senyawa anti *P.falciparum* di laboratorium Parasitologi PUSLIT Penyakit Menular BALITBANGKES R.I. di Jakarta.

Prof. Dr. Kurt Hostettmann, Direktur Institut Pharmacognosie et Phytochimie (IPP) Universite de Lausanne, Switzerland, Dr. A. Marston , Prof. Dr. O. Potterat, Dr. J. L.Wolfender dan seluruh staf peneliti di IPP Lausanne yang telah memberikan kesempatan, fasilitas dan bimbingan selama saya melakukan isolasi, pemurnian dan penentuan struktur senyawa anti *P. falciparum* di IPP Lausanne , Swiss.

Prof. Sumadi, drs., Apt. Prof. Dr. Koesdianto Tantular, dr.,Prof. D.Ma'rifin Husin, dr. M.Sc., Prof. Dr. Noor Cholies Zainy, Apt. dan Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan dr. M.Sc. atas saran-sarannya sebagai Panitia Penilai Usulan Penelitian.



Prof.Dr.Noor Cholies Zaini, Apt., Prof..Dr.Yoes Prijatna Dachlan dr. M.Sc. Prof.Dr.Bambang Soekardjo, Apt. S.U; Prof.Dr.Soedarman Brotosisworo Apt. dan Dr. H.Fasich .Apt. atas saran-sarannya sebagai Panitia Penilai Naskah Disertasi.

Prof. Dr. rer. nat. Gunawan Indrayanto, Apt., Dr..M.Zanuddin, Apt. dan Dr.Achmad Syahran, Apt. MS. staf pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan saran-saran dalam penyelesaian penulisan disertasi.

Dr. Wahono Sumaryono, Direktur Teknologi Farmasi dan Medika BPPT. dan Dr. Agus Supriyono peneliti di BPPT. yang telah memberikan saran-saran dalam penyelesaian disertasi ini.

Ima Nurisa, drh. Msc. dari Laboratorium Mamalogi PUSLIT Ekologi BALITBANGKES DEPKES RI yang telah memberikan bimbingan dan saran-saran dalam percobaan pembiakan *P. falciparum* di Fakultas Farmasi Universitas Pancasila .

Prof. Sardjoko, drs., Apt., Hindra Rachmawati , Apt. MS. , Ros Sumarny, Apt. MSc, A.Anton, Ir. MSc. serta semua rekan-rekan dosen di Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta yang telah memberikan bantuan dan saran-saran dalam menyelesaikan disertasi saya.

Akhirnya terimakasih yang tak terlingga kepada suami saya, H. Broto Sutaryo, dr. dan anak-anak kami yang telah dengan penuh keikhlasan memberikan dorongan selama saya menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi.

Semoga Allah Yang Maha Kuasa memberikan balasan yang setimpal dan semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kemanusiaan. Amin.

0,1% DMSO dalam satu seri terdiri dari 6 macam kadar. Medium biak yang mengandung senyawa obat dimasukkan ke dalam setiap sumur mikro, kemudian diberi darah manusia dengan eritrosit 10% yang mengandung parasitemia 1%. Setelah diinkubasi dalam "candle jar" sesuai metoda Trager dan Jensen, parasit dihitung dengan cara teknik pewarnaan dan penghitungan. Jumlah skizon yang hidup minimal mempunyai 3 inti dihitung terhadap 200 parasit aseksual digunakan sebagai kriteria efek antimalaria.

Dari isolasi dan identifikasi senyawa kandungan *E. triplinerve* yang aktif menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* in vitro diperoleh dua macam senyawa.

Senyawa pertama adalah 7-metoksi kumarin (= 7-metoksi 2-H-benzopiran-2 on =herniarin = ayapanin) dengan data spektrum sebagai berikut :

Spektrum  $^1\text{H}$ -RMI (500 Mhz, dalam  $\text{CDCl}_3$ , 26,0 C/299,1 K),  $^{13}\text{C}$ -RMI (125 Mhz, dalam  $\text{CDCl}_3$ , 26,0 C/299,1 K),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  cosy,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  cosy, dan pengamatan menggunakan DEPT menunjukkan adanya 9 puncak sinyal, yaitu : 5 sinyal dari gugus -CH- yaitu C-3 ( $\delta$ = 112,9 ppm), C-4 ( $\delta$ = 143,4 ppm), C-5 ( $\delta$ = 128,7 ppm), C-6 ( $\delta$ = 112,5 ppm), C-8 ( $\delta$ = 100,8 ppm), 1 gugus - $\text{CH}_3$  yaitu C-11 ( $\delta$ = 55,68 ppm), dan 3 atom C kwarterner yaitu: C-2 ( $\delta$ = 162,8 ppm), C-7 ( $\delta$ = 161,2 ppm), C-9 ( $\delta$ = 155,8 ppm), dan 1 atom C kwarterner berhimpit dengan C-6 yaitu : C-10 ( $\delta$ = 112,5 ppm). Juga menunjukkan sinyal proton dari H-3 ( $\delta$ = 6,213 ppm, d, J=9 Hz), H-4 ( $\delta$ = 7,614 ppm, d, J=9 Hz), H-5 ( $\delta$ = 7,344 ppm, d, J=8,5 Hz), H-6 ( $\delta$ = 6,810 ppm, dd, J=8,5,

2,5 Hz), H-8 ( $\delta = 6,711$  ppm, d,  $J = 2$  Hz, dan 3 atom H pada H-11 ( $\delta = 6,810$  ppm, s)). Spektrum massa (MS) menunjukkan berat molekul 176 Dalton dan spektrum IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ , KBr) menunjukkan adanya absorban maksimum pada 1710, 1610, 1500, 1470, 1350, dan  $1120\text{cm}^{-1}$ .

Senyawa kedua adalah 6,7 -dioksi metilen kumarin (= 6,7-dioksi metilen 2-11-benzopiran-2 on = ayapin) dengan data spektrum sebagai berikut.

Spektrum  $^1\text{H}$ -RMI (500 Mhz, dalam  $\text{DMSO-d}_6$ , 40,0 C/ 313,1 K),  $^{13}\text{C}$ -RMI (125 Mhz, dalam  $\text{DMSO-d}_6$ , 40,0 C/313,1 K),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  cosy,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  cosy, dan pengamatan menggunakan DEPT menunjukkan adanya 10 puncak sinyal, yaitu: 4 sinyal dari gugus -CH- yaitu C-3 ( $\delta = 112,5$  ppm), C-4 ( $\delta = 144,23$  ppm), C-5 ( $\delta = 105,3$  ppm), C-8 ( $\delta = 97,8$  ppm), 1 gugus -CH<sub>2</sub> yaitu C-11 ( $\delta = 102,3$  ppm), dan 5 atom C kwarterner yaitu: C-2 ( $\delta = 160,13$  ppm), C-6 ( $\delta = 150,8$  ppm), C-7 ( $\delta = 150,6$  ppm), C-9 ( $\delta = 144,3$  ppm), C-10 ( $\delta = 112,4$  ppm), dan menunjukkan sinyal proton H-3 ( $\delta = 6,29$  ppm, d,  $J = 9,5$  Hz), H-4 ( $\delta = 7,90$  ppm, d,  $J = 9,5$  Hz), H-5 ( $\delta = 7,06$  ppm, s), H-8 ( $\delta = 7,19$  ppm, s), dan 2 sinyal proton dari 2 atom H pada C-11 ( $\delta = 1,48$  ppm, s). Spektrum massa (MS) menunjukkan berat molekul 190 Dalton dan spektrum IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ , KBr) menunjukkan adanya absorban maksimum pada 1710, 1630, 1570, 1470, 1460, 1130  $\text{cm}^{-1}$ .

Aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *P.falciparum* in vitro dari 7-metoksi kumarin dengan  $\text{IC}_{50}$  sebesar 7,173  $\mu\text{g/mL}$ , lebih kuat daripada 6,7- dioksi metilen kumarin dengan  $\text{IC}_{50}$  sebesar 18,821  $\mu\text{g/mL}$ .

Kandungan utama dari *E. triplinerve* sudah pernah dilaporkan oleh peneliti lain, namun aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *P. falciparum* in vitro dari 7-metoksi kumarin dan 6,7-dioksi metilen kumarin in vitro belum pernah dilaporkan .

with 0,1% DMSO.. Aliquots of culture medium containing the compound were added to each well. Human blood with 10% erythrocyt containing 1% parasites was added to each well.

After incubation in a candle jar according to the Trager and Jensen method, the parasites can be counted by staining and counting technique. The number of living schizonts with minimum 3 nuclei per 200 asexual parasites is used as the criteria of antimalaria.

Two components of *E.triplinerve* that inhibit the growth of *P.falciparum* in vitro was isolated and identified.

The first compound is 7- methoxy coumarin (= 7 methoxy-2H-1-benzopyran-2-one = herniarin = ayapanin) which has the spectrum data as follows:

The  $^1\text{H-NMR}$  (500 Mhz, in  $\text{CDCl}_3$ , 26.0 C/299.1 K),  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 Mhz. in  $\text{CDCl}_3$ , 26.0 C/299.1 K),  $^1\text{H-}^1\text{H}$  cosy,  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$  cosy, and the DEPT spectra indicated 9 signal peaks : 5 signal indicated -CH- group: C-3 ( $\delta= 112,9$  ppm), C-4 ( $\delta= 143,4$  ppm), C-5 ( $\delta= 128,7$  ppm), C-6 ( $\delta= 112,5$  ppm), C-8 ( $\delta= 100,8$  ppm), one  $-\text{CH}_3$  at C-11 ( $\delta= 55,68$  ppm), and three C quarternair : C-2 ( $\delta= 162,8$  ppm), C-7 ( $\delta= 161,2$  ppm), C-9 ( $\delta= 155,8$  ppm), and C-10 ( $\delta= 112,5$  ppm) appeared at the same position with C-6. Also indicated protons signal due to H-3 ( $\delta= 6,213$  ppm, d, J=9 Hz), H-4 ( $\delta= 7,614$  ppm, d, J=9 Hz), H-5 ( $\delta= 7,344$  ppm, d, J=8,5 Hz), H-6 ( $\delta= 6,810$  ppm, dd, J=8,5; 2,5 Hz), H-8 ( $\delta= 6,711$  ppm, d, J=2 Hz), and 3 proton signal due to H-11 ( $\delta= 6,810$  ppm, s) . Mass spectrum (MS) indicated molecular weight 176 Dalton . Absorption

bands in the infrared spectrum (IR, KBr) are at 1710, 1610, 1500, 1470, 1350 and 1120  $\text{cm}^{-1}$

The second compound is 6,7-dioxy methylene coumarin (6,7 dioxy methylene - 2H-1-benzopyran-2-one = ayapin) which has the spectrum data as follows .

The  $^1\text{H-NMR}$  (500 Mhz, in  $\text{DMSO-d}_6$ , 40.0 C/ 313.1 K),  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 Mhz. in  $\text{DMSO-d}_6$ , 40.0 C/313.1 K),  $^1\text{H-}^1\text{H}$  cosy,  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$  cosy, and the DEPT spectra indicated 10 signal peaks : 4 signal indicated -CH- group : C-3 ( $\delta= 112,5$  ppm), C-4 ( $\delta= 144,23$  ppm), C-5 ( $\delta= 105,3$  ppm), C-8 ( $\delta= 97,8$  ppm), one - $\text{CH}_2$  group : C-11 ( $\delta= 102,3$  ppm), and five C quarternair atom: C-2 ( $\delta= 160,13$  ppm), C-6 ( $\delta= 150,8$  ppm), ), C-7 ( $\delta= 150,6$  ppm), C-9 ( $\delta= 144,3$  ppm), C-10 ( $\delta= 112,4$  ppm). Also indicated 4 proton signal : H-3 ( $\delta= 6,29$  ppm, d,J=9,5 Hz), H-4 ( $\delta= 7,90$  ppm, d, J= 9,5 Hz), H-5 ( $\delta= 7,06$  ppm, s), H-8 ( $\delta= 7,19$  ppm, s), and two proton signals due to C-11 ( $\delta= 1,48$  ppm, s). The mass spectrum (MS) indicated the molecular weight 190 Dalton . Absorption bands in the infrared spectrum (IR, KBr) are at 1710, 1630, 1570, 1470, 1460 and 1130  $\text{cm}^{-1}$

7-methoxy coumarin was proved as the more active component to inhibit the growth of *P.falciparum* in vitro with  $\text{IC}_{50}$  7,173  $\mu\text{g/mL}$ , than 6,7- dioxy methylene coumarin that inhibits the growth of *P.falciparum* in vitro with  $\text{IC}_{50}$  18,821  $\mu\text{g/mL}$ . Both constituents of *E. triplinerve* have been reported by other researchers, but their antimalarial activities were never reported before. This report of the activity as

*P.falciparum* growth inhibitor of 7-methoxy coumarin and 6,7- dioxy methylene coumarin is the first report.