

1. ZINGIBER
2. ANTHELMINTICS

DISERTASI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FRAKSI AKTIF ANTELMINTIK
DARI RIMPANG *ZINGIBER PURPUREUM* ROXB**

kk
DIS M 01/02
Tar
i



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

oleh

Taroeno

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
1990**

DISERTASI

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FRAKSI AKTIF ANTELMINTIK
DARI RIMPANG *ZINGIBER PURPUREUM* ROXB

Disertasi dalam Bidang Ilmu Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam

untuk

memperoleh gelar Doktor

pada Universitas Airlangga

dibawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga

PROF. dr. SOEDARSO DJOJONEGORO

untuk dipertahankan di hadapan

Rapat Terbuka Senat Fakultas Pascasarjana

Universitas Airlangga

hari Sabtu

tanggal 3 Maret 1990

oleh

Taroeno

lahir di Solo

2 Juni 1932

14. Tabel KLT bidimensi, fasa diam selulosa, fasa gerak TBA dan HOAc. Ekstrak etanol, jumlah bercak, hRf dan warna setelah pemberian pereagen diagnostik 132
15. Tabel hasil analisis komponen minyak atsiri *Zingiber purpureum* oleh Brian.M.Lawrence et al. (1970) 134
16. Tabel hasil analisis GLC komponen minyak atsiri *Zingiber purpureum* oleh T.E. Cassey et al. (1971) 134
17. Tabel Rt dan kadar komponen, hasil analisis kromatogram GLC minyak atsiri *Z.purpureum*, kolom OV-17,3m,FID,Hitachi 135
18. Tabel potensi relatif (PR) Ekstrak PE dan Ekstrak MeOH terhadap piperasin sitrat 136
19. Tabel potensi relatif (PR) minyak atsiri (MA) dan residu (RES) terhadap piperasin sitrat 136
20. Orientasi eluen untuk KK dengan cara KLT untuk fraksinasi fraksi II 137
21. Tabel waktu retensi dan kadar komponen, hasil analisis GLC, dengan kolom OV-17, 3m, Hitachi dari fraksi sabinen dan fraksi terpinen-4-ol... 138
22. Kromatogram gas penapisan dan spektra massa Fraksi sabinen 139
23. Kromatogram gas penapisan dan spektra massa Fraksi terpinen-4-ol 141
24. Tabel potensi relatif(PR) Fraksi terpinen-4-ol(FTPOL) dan Fraksi sabinen(FSAB) terhadap piperasin sitrat(PS) 142
25. Orientasi jumlah rata-rata telur infektif per-satu tetes suspensi telur 143
26. Hasil orientasi bobot tinja per satuan *Kato*..... 143
27. Orientasi waktu dan cara pemantauan EPG 144
28. Tabel ransum umum dan penelitian ayam pedaging . 146
29. Tabel EPG pada hari ke-1 pra(X). hari ke-1 pasca(Y) dan hari ke-3 pasca(Z) perlakuan 147

DAFTAR TABEL

1. Tabel II.1. Penggunaan Klinik beberapa mono dan seskuiterpenoid	15
2. Tabel II.2. Distribusi Kelompok senyawa organik bioaktif dalam suku tanaman menurut Marini Bettolo	16
3. Tabel IV.A.1. Jam terjadi 50% kematian cacing dalam rendaman. media air suling, larutan NaCl 0,9% dan larutan glukosa salin 5%	49
4. Tabel IV.A.2. Analisis statistik beda rerata jam mulai terjadi 50% kematian cacng dalam media air suling, larutan NaCl 0,9% dan larutan glukosa salin 5%	49
5. Tabel IV.A.3. Bobot rimpang, volume perasan, bobot jenis dan bobot perasan	51
6. Tabel IV.A.4. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman beberapa kadar perasan rimpang <i>C.aeruginosa</i> (PRCA), <i>Z.officinale</i> (PRZO), <i>Z.purpureum</i> (PRZP), piperasin sitrat, perhitungan pi dan LD50	51
7. Tabel IV.A.5. Potensi relatif perasan rimpang <i>Curcuma aeruginosa</i> , <i>Zingiber officinale</i> dan <i>Zingiber purpureum</i> terhadap piperasin sitrat	53
8. Tabel IV.A.6. Analisis statistik beda antar dua rerata potensi relatif perasan rimpang <i>C.aeruginosa</i> (PRCA), <i>Z.officinale</i> (PRZO), <i>Z.purpureum</i> (PRZP) dengan uji Tukey	53
9. Tabel IV.B.1. Hasil penelitian pendahuluan serbuk rimpang <i>Zingiber purpureum</i>	56
10. Tabel IV.B.2. Hasil penelitian penegasan serbuk rimpang <i>Zingiber purpureum</i>	57
11. Tabel IV.B.3. Hasil maserasi serbuk rimpang <i>Zingiber purpureum</i> dengan PE (40° - 60° C)	57
12. Tabel IV.B.4. Hasil ekstrak MeOH pekat dari maserasi dan perkolasi residu kering dengan MeOH ...	58
13. Tabel IV.B.5. Hasil isolasi minyak atsiri dari ekstrak PE menurut FI ed III (1979)	58

14. Tabel IIV.B.6. Hasil identifikasi organoleptik dan beberapa tetapan alam minyak atsiri rimpang <i>Zingiber purpureum</i> hasil penelitian	59
15. Tabel IV.B.7. Komponen minyak atsiri <i>Zingiber purpureum</i> hasil analisis KGC. Shimadzu, kolom kapiler FFAP; 85mx 0,5 mm, FID, kenaikan suhu 3 ^o tiap menit, 65-250 ^o C	60
16. Tabel IV.C.1. Hasil uji ketahanan hidup cacing <i>Ascaridia galli</i> dalam emulsi serbuk gom arab, tragakan dan polisorb-80	63
17. Tabel IV.C.2. Hasil pemeriksaan kekentalan emulsi serbuk gom arab berbagai kadar, dengan Brookfield viscometer LTVD AO2299	64
18. Tabel IV.C.3. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman beberapa kadar emulsi Ekstrak PE, MeOH dan piperasin sitrat, perhitungan pi dan LD50	64
19. Tabel IV.C.4. Potensi relatif ekstrak PE dan MeOH terhadap piperasin sitrat	65
20. Tabel IV.C.5. Analisis statistik beda rerata potensi relatif (PR) ekstrak PE (EPE) dan MeOH (EMeOH) dengan uji T	66
21. Tabel IV.C.6. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman beberapa kadar minyak atsiri. residu, piperasin sitrat, perhitungan pi dan LD50	67
22. Tabel IV.C.7. Potensi relatif (PR) residu dan minyak atsiri terhadap piperasin sitrat	68
23. Tabel IV.C.8. Analisis statistik beda rerata potensi relatif (PR) minyak atsiri (MA) dan residu (RES) secara uji T	69
24. Tabel IV.D.1. Hasil prafraksinasi minyak rimpang <i>Z. purpureum</i> dengan cara destilasi fraksi pada suhu 65 ^o - 75 ^o C dan tekanan 35 mm Hg, menghasilkan Fraksi I dan residu	70
25. Tabel IV.D.2. Hasil prafraksinasi ulang residu, pada suhu 60 ^o - 70 ^o C dan tekanan 10 mm Hg menghasilkan Fraksi II	71
26. Tabel IV.D.3. Hasil prafraksinasi ulang fraksi I pada suhu 35 ^o - 45 ^o C dan tekanan 10 mm Hg menghasilkan Fraksi sabinen	71

27. Tabel IV.D.4. Hasil fraksinasi kolom fraksi II; silikagel 60(70-230 ASTM), eluen heksana, heksana:Et₂O(1:1) dan Et₂O; kolom 20mm d.d X 1500mm; kumpulan fraksi ke 40-50 diuapkan eluennya, diperoleh oleh Fraksi terpinen-4-ol 73
28. Tabel IV.E.1. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman beberapa kadar emuls Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol, piperasin sitrat, penghitungan pi dan LD50 80
29. Tabel IV.E.2. Potensi relatif Fraksi terpinen-4-ol(FTPOL) dan Fraksi sabinen(FSAB) terhadap piperasin sitrat 81
30. Tabel IV.E.3. Analisis statistik beda rerata potensi relatif(PR) Fraksi terpinen-4-ol(FTPOL) dan Fraksi sabinen (FSAB) secara uji T 81
31. Tabel IV.E.4. Rerata EPG pada perlakuan dengan dosis 100 mg dan 300 mg/ekor minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol, 100 mg piperasin sitrat dan 5ml glukosa salin 5%/ekor; diamati pada hari ke-1 pra, hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan 83
32. Tabel IV.E.5. Rerata jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati setelah perlakuan dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis masing-masing 300 dan 500mg, 100mg piperasin sitrat/ekor ayam dan larutan glukosa salin 5% sebagai kontrol 86
33. Tabel IV.E.6. Analisis statistik varian terhadap penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati per perlakuan dan kontrol 87
34. Tabel IV.E.7. Analisis beda rerata penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati setelah perlakuan dan kontrol dengan uji Tukey 87
35. Tabel IV.E.8. Prosentase jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati setelah perlakuan dan kontrol 88

DAFTAR GAMBAR

1. Gambar III.A. Bagan Tahap Penelitian A	31
2. Gambar III.B. Bagan Tahap Penelitian B	36
3. Gambar III.C. Bagan Tahap Penelitian C	40
4. Gambar III.D. Bagan Tahap Penelitian D	42
5. Gambar III.E. Bagan Tahap Penelitian E	44
6. Gambar IV.A.1. Kurva waktu rendam (jam)-kematian (%) cacing dalam air suling, larutan NaCl 0,9 % dan glukosa salin 5 %	50
7. Gambar IV.A.2. Kurva log dosis-kematian(%) cacing dalam perasan beberapa kadar perasan rimpang <i>C.aeruginosa</i> , <i>Z.officinale</i> dan <i>Z.purpureum</i>	54
8. Gambar IV.B.1. Kromatogram gas minyak rimpang <i>Zingiber purpureum</i> dengan KGC Shimadzu, kolom kapiler FFAP, 85m X 0,5mm, FID, 65-250°C dengan kenaikan suhu 3°C/menit	61
7. Gambar IV.B.2. Kromatogram gas minyak rimpang <i>Zingiber purpureum</i> , KGC Hitachi 163-50, dengan kolom OV-17, 3m, FID, suhu 95-250°C, dengan kenaikan suhu 7,5°C/menit	62
8. Gambar IV.C.1. Kurva log dosis-kematian(%) cacing dalam rendaman emulsi ekstrak PE dan MeOH .	66
9. Gambar IV.C.2. Kurva log dosis-kematian(%) cacing dalam rendaman emulsi minyak atsiri dan residu	69
10. Gambar IV.D.1. Kromatogram Fraksi I	70
11. Gambar IV.D.2. Kromatogram residu	70
12. Gambar IV.D.3. Kromatogram Fraksi II	72
13. Gambar IV.D.4. Kromatogram Fraksi sabinen	72
14. Gambar IV.D.5. Kromatogram Fraksi a	73
15. Gambar IV.D.6. Kromatogram Fraksi b	73
16. Gambar IV.D.7. Kromatogram Fraksi c	74
17. Gambar IV.D.8. Kromatogram Fraksi terpinen-4-ol.	74

18. Gambar IV.D.9. Spektra IR Fraksi sabinen	75
19. Gambar IV.D.10. Spektra massa komponen dengan Me 136 dan puncak dasar pada m/e 93	76
20. Gambar IV.D.11. Spektra massa komponen dengan Me 136 dan puncak dasar pada m/e 94	77
21. Gambar IV.D.12. Spektra massa komponen dengan Me 134 dan puncak dasar pada m/e 119	77
22. Gambar IV.D.13. Spektra IR Fraksi terpinen-4-ol.	78
23. Gambar IV.D.14. Spektra massa komponen dengan Me 154 dan puncak dasar pada m/e 71	79
24. Gambar IV.E.1. Kurva log dosis-kematian(%) cacang dalam rendaman emulsi Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol	82
25. Gambar IV.E.2. Kurva garis respon(hari ke-1 pra-hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan) dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen dan Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis masing-masing 300 mg per ekor ayam	85

DAFTAR SINGKATAN.

SINGKATAN UMUM.

KKt	: Kromatografi kertas.
KLT	: Kromatografi lapis tipis.
KK	: Kromatografi kolom.
KGC	: Kromatografi gas cair.
KCKT	: Kromatografi cair kinerja tinggi.
SUV	: Spektroskopi ultra violet.
SIM	: Spektroskopi inframerah.
SM	: Spektroskopi massa.
Rf	: Jarak ditempuh senyawa pada kromatografi, nisbi terhadap garis depan.
hRf	: 100 X Rf.
Rt	: Waktu retensi, waktu diperlukan untuk mengelusi komponen dari kolom.
ml	: 1 / 1.000 liter.
ul	: 1 / 1.000.000 liter.
nm	: nano meter.
FID	: Fire ionisation detector.
FI ed III	: Farmakope Indonesia edisi III th 1979.
MMI	: Materia Medika Indonesia.

SINGKATAN KEMIKALI.

2,4,DNPH	: 2,4-Dinitro-fenil-hidrazin.
H ₂ SO ₄	: Asam sulfat.
HCl	: Asam klorida.

umum dan khusus antelmintik yang kurang bagi sebagian besar masyarakat, karena penyediaan yang kurang dan harga yang tidak terjangkau, mengakibatkan frekuensi dan prevalensi penyakit cacing tinggi.

Telah diketahui banyak tumbuhan obat yang pernah dan atau masih digunakan secara tradisional sebagai antelmintika di Afrika, Asia, Amerika Latin, India, Pakistan (Dastur, 1970), Asia Selatan dan Tenggara (Lily, 1980) dan Indonesia (Anonim, 1858; Heyne, 1950a; Steenis, 1975; Sutrisno, 1966; Sastroamidjojo, 1967; Supardi, 1967; Pemanfaatan tanaman obat, 1980; Lauw Ing Liat, 1967 dan Mardisiswoyo dkk, 1968); dari data Lampiran 1, 2, 3 dan 4 diketahui kurang lebih 105 tanaman atau bagian dari tanaman tersebut pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional. Dari jumlah ini enam tanaman diantaranya berasal dari satu suku, yaitu suku *Zingiberaceae* dan semuanya terdapat tumbuh di Indonesia; tanaman tersebut adalah *Curcuma aeruginosa* Roxb, *Curcuma heyneana* Val & V.Zijp, *Globa pendula* Roxb, *Hedychium longicornutum* Griff (Heyne, 1950a), *Zingiber purpureum* Roxb (Lily, 1980; Anonim, 1858; Sastroamidjojo, 1967) dan *Zingiber officinale* Roscoe (Abayomi Sofowora, 1980). Pada umumnya secara tradisional digunakan perasan rimpang tanaman tersebut diatas, tanpa menggunakan ukuran/bobot tertentu, atau dengan ukuran sederhana seperti satu jari, setengah rimpang dan lain sebagainya (Lily, 1980; Pemanfaatan Tana-

I_2	: Iodium.
$AlCl_3$: Aluminium klorida.
$FeCl_3$: Feri-klorida.
KOH	: Kalium hidroksida.
Mg	: Magnesium.
NaOAc	: Natrium asetat.
H_3BO_3	: Asam borat.
TBA	: Tersier butanol:asam asetat:air(3:1:1).

SINGKATAN PELARUT PADA KROMATOGRAFI.

MeOH	: Metanol.
EtOH	: Etanol.
PE	: Petroleum eter, petroleum bensin.
Et_2O	: Dietil eter.
HOAc	: Asam asetat.
$CHCl_3$: Kloroform.
EtOAc	: Etil asetat.
Me_2CO	: Aseton.
C_6H_6	: Benzen.
MeOCN	: Asetonitril.

SINGKATAN SARANA KROMATOGRAFI.

Silicagel G60	: Serbuk silikagel tipe porositas medium dengan pelekat gips.
Silikagel G60F	: Serbuk silikagel tipe porositas medium dengan pelekat gips dan mengandung indikator fluoresensi.
OV-17	: Fasa stasioner golongan metil-fenil-si-

- likon dengan penyangga *shimali-te-W*.
- OV-1 : Fasa stationer golongan metil-fenil-si-likon dengan penyangga
- FFAP : Fasa stasioner golongan *free fatty acid phase* dengan penyangga *chromosorb W-HP*.
- ASTM : American Society for Testing Materials.
- d.d. : Diameter dalam.

SINGKATAN PADA UJI DAYA ANTELMINTIK.

- DOC : Day old chicken (anak ayam umur 1 hari)
- EPK : Jumlah telur per satuan Kato (Egg per Kato).
- EPG : Jumlah telur per gram tinja (Egg per gram).
- AS 101 : Ayam pedaging galur Anwar Sirad no. 101.

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi parasit cacing, sering dikaitkan dengan daerah tropik, kepadatan penduduk yang tinggi, kondisi lingkungan hidup dan kesehatan yang rendah, walaupun kenyataan menunjukkan bahwa kurang lebih 3,5 bi- liun manusia termasuk yang hidup dalam daerah bukan tropik dan dengan kondisi lingkungan yang baik merupakan pembawa cacing (Handbook of Non-prescription drugs, 1986) Beberapa infeksi parasit cacing begitu mudah menyebar dan menular sehingga dapat dikatakan merupakan penyakit yang meliputi semua tingkat kehidupan dalam masyarakat; sebagai contohnya askariasis, walaupun umumnya terdapat didaerah tropik, ternyata infeksiinya menyebar luas ham- pir disemua lapisan masyarakat dibanyak negara, dan me- liputi kurang lebih sepertiga penduduk dunia (Ama Drug E- valuations, 1980).

Di Indonesia penyakit dikarenakan infeksi parasit cacing, terutama yang disebabkan cacing gelang, cacing tambang, cacing kremi dan cacing pita masih merupakan sa- lah satu masalah kesehatan yang perlu diperhatikan. Lingkungan, adat kebiasaan penduduk dan iklim tropik, me- nyebabkan penyebaran penyakit secara luas diseluruh daerah dengan frekuensi cukup tinggi (Noerhajati, 1978); lingkungan hidup yang kurang baik , sarana pengobatan

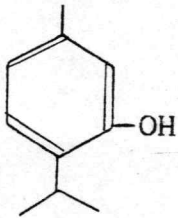
man Obat, 1980) umumnya tidak dinyatakan penggunaan untuk pengobatan jenis cacing tertentu; namun secara umum pengertian masyarakat mengenai penyakit cacing adalah penyakit yang disebabkan cacing gelang.

Dari keenam rimpang tanaman diatas, tiga diantaranya yaitu *Curcuma aeruginosa*, *Zingiber officinale* dan *Zingiber purpureum* telah diteliti dan diketahui mengandung minyak atsiri berturut-turut 1,06-1,42%, 1,85-2,24% dan 3,84-4,53% dihitung atas dasar bobot kering. Kandungan minyak atsiri rimpang *Zingiber purpureum* ternyata terbesar dari tiga rimpang yang diteliti (Sudiarto, dkk, 1985). Dari tiga rimpang diatas rimpang *Curcuma aeruginosa* dan *Zingiber officinale* telah diteliti dan cenderung diketahui mempunyai daya antelmintik (Dirdjosudjono dan Taroenno, 1975; Taroenno, dkk, 1980; Abayomi Sofowora, 1980).

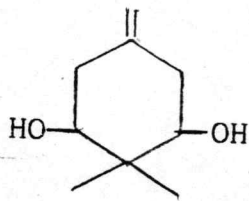
Dari beberapa hasil penelitian dapatlah diketahui penggunaan minyak atsiri dalam pengobatan baik untuk obat luar maupun obat dalam. Untuk obat luar digunakan sebagai antiseptika, antiflogistika dan insektisida dan untuk obat dalam sebagai ekspektoransia, karminativa, spasmolitik, koleretika, diuretika dan antelmintika (Wichtl 1971; Schilcher, 1984; Sticher, 1977).

Penggunaan timol, suatu komponen minyak atsiri *Thymus vulgaris*, oleorisin dari *Dryopteris Felix Mas* yang mengandung filicin dan minyak atsiri *Chenopodium ambrosoides* var *anthelminticum* yang mengandung 65% askaridol,

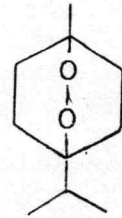
sebagai antelmintik resmi (Martindale, 1977) menguatkan perkiraan daya antelmintik dalam rimpang tanaman suku *Zingiberaceae* terutama disebabkan karena minyak atsiri yang dikandungnya.



Timol

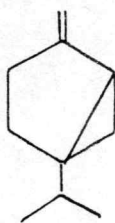


Filicin

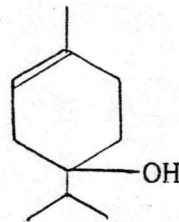


Askaridol

Rimpang *Zingiber purpureum* (bangle) pernah digunakan sebagai obat cacing untuk kanak-kanak di Malaysia dan Indonesia (Lily,1980; Anonim, 1858; Sastroamidjojo, 1967), tetapi belum pernah diadakan penelitian mengenai daya antelmintiknya. Dari beberapa peneliti diketahui bahwa sabinen dan terpinen-4-ol merupakan komponen utama minyak atsiri rimpang *Zingiber purpureum* (Lawrence,dkk, 1970; Cassey,dkk, 1972).



Sabinen



Terpinen-4-ol

Penelitian terhadap daya antelmintik rimpang *Zingiber purpureum* dengan kadar minyak atsiri tinggi, dan mengandung sabinen dan terpinen-4-ol dalam kadar cukup tinggi, menjadi menarik dalam usaha menemukan fraksi ak-

tif antelmintik, sebagai dasar pengembangan lebih lanjut untuk menemukan antelmintik baru.

Perumusan Masalah

Masalah yang timbul dalam usaha menemukan fraksi aktif antelmintik dalam rimpang *Zingiber purpureum* adalah:

1. Apakah rimpang *Zingiber purpureum* mempunyai daya antelmintik yang cukup efektif.
2. Jika ada, fraksi utama apa dalam rimpang diperkirakan berkhasiat antelmintik.
3. Apakah fraksi berkhasiat antelmintik hasil pemisahan mempunyai daya antelmintik *in vitro* dan *in vivo*.

C. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

1. Tujuan penelitian

- a. Mengetahui apakah rimpang *Zingiber purpureum* berkhasiat antelmintik; dibandingkan piperasin sitrat dan rimpang *Curcuma aeruginosa* dan *Zingiber officinale*.
- b. Mengetahui golongan senyawa dan fraksi aktif antelmintik dalam rimpang *Zingiber purpureum*.
- c. Mengetahui daya antelmintik fraksi aktif hasil pemisahan, secara *in vitro* dan *in vivo*.

2. Kegunaan penelitian

Penelitian selain diharapkan berguna sebagai dasar pengembangan antelmintika dari bahan alam nabati, juga diharapkan dapat memacu penelitian sumber daya alam nabati dan pengembangan bahan alam nabati bioaktif dengan khasiat antiparasitosis khususnya sebagai antelmintika. Disamping itu penelitian ini diharapkan dapat berguna dan memperkaya khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang bahan alam nabati untuk farmasi dengan informasi ilmiah yang bersifat mendasar maupun terapan khususnya dibidang parasitosis.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA, LANDASAN TEORI, HIPOTESIS DAN RENCANA PENELITIAN

A. Tinjauan Pustaka

1. Sumber daya alam nabati sebagai sumber bahan obat

Sumber daya alam adalah segala sesuatu yang terdapat di alam, baik yang merupakan komponen biotik maupun abiotik yang terdapat di dalam tanah, di dalam air, maupun di udara yang dapat dimanfaatkan manusia untuk memenuhi kebutuhan hidup dan meningkatkan kesejahteraannya. Berdasarkan jenisnya, sumber daya alam dibedakan atas sumber daya alam hayati dan non hayati.

Sumber daya alam hayati Indonesia yang berupa tumbuhan sangat beraneka ragam, dan jauh lebih tinggi keaneka-ragamannya dibanding dengan daerah tropik lainnya yang terletak terutama di kawasan Amerika dan Afrika. Ditaksir sejumlah 30.000 jenis tumbuhan terdapat di kawasan Indonesia; diantaranya banyak yang bermanfaat bagi kehidupan dan digunakan sebagai sumber pangan dan obat-obatan (Setiati dkk, 1977).

Menurut Farnsworth (1973), Paris & Moyse(1976) dan Birch (1984), terutama sumber daya alam nabati dikenal merupakan sumber bahan alam nabati yang mempunyai nilai tinggi bagi kesejahteraan manusia.

Bahan alam nabati juga dikenal sebagai sumber penelitian yang menarik dan tidak pernah akan habis, dalam usaha menggali, menemukan dan mengembangkan bahan obat ba-

ru (Ika Wiani,dkk,1987;Baerheim Svendsen & Scheffer,1982 Birch, 1984).

Dikatakan oleh Paris & Moyse (1976) dan Wagner & Wolf (1977) penggunaan bahan alam nabati sangat luas dalam bidang kesehatan, baik sebagai hasil olah galenik seperti ekstrak dan tingtura, maupun sebagai sumber senyawa nabati bioaktif dalam usaha menemukan dan mengembangkan bahan obat baru asal nabati.

Dalam usaha menemukan senyawa bioaktif dan mengembangkannya menjadi bahan obat baru, beberapa cara penelitian dilakukan, antara lain penelitian dengan pendekatan berdasar prinsip-prinsip etnofarmakologi dan berdasar sintesis murni.

Malone (1981) cenderung menyimpulkan bahwa hasil penelitian berdasar prinsip-prinsip etnofarmakologi secara nisbi lebih efektif dibanding dengan hasil penelitian berdasar sintesis murni.

Dalam sepuluh tahun terakhir ini, dikatakan oleh Baerheim Svendsen & Scheffer (1982), di RRC telah dilakukan serangkaian penelitian tuntas terhadap kurang lebih 2000 obat tradisional yang telah digunakan dirumah sakit, untuk mengetahui senyawa nabati bioaktif yang dikandung. Sebagai hasilnya ditemukan banyak senyawa nabati bioaktif dan setelah melalui beberapa uji klinik dan diketahui tingkat keamanan dan kebenaran akan khasiatnya, dapat di gunakan dalam pelayanan kesehatan (He et al, 1984; Liu et al, 1984; Anonim, 1986).

Di Indonesia, dalam usaha memenuhi kebutuhan akan obat, obat tradisional masih digunakan secara luas dan cenderung meningkat (Anwar & Sutarto, 1975), walaupun kebenaran akan khasiatnya belum diketahui dan belum dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah (Panjaitan, 1975).

Dalam usaha meningkatkan pelayanan kesehatan dengan mengikut sertakan obat tradisional di Indonesia, langkah yang akan dilaksanakan antara lain meningkatkan penelitian obat tradisional, terutama penelitian khasiat dan keamanan penggunaan disamping penelitian senyawa nabati bioaktif yang dikandung didalamnya.

2. Penelitian daya antelmintik tumbuhan obat

Beberapa informasi penelitian daya antelmintik terhadap tumbuhan obat telah ditelusuri sejak tahun 1965 antara lain ditemukan sebagai berikut: Oleh peneliti Gaid dan Budhiraja (1967) telah dilakukan penelitian daya antelmintik secara *in vitro* minyak atsiri buah dari tanaman *Withania coagulans* D. terhadap cacing tanah. Hasilnya menunjukkan kurang lebih seperseratus daya antelmintik pembanding heksilresorsinol.

Telah diteliti oleh Kaleyswaraj dan Kurup (1961) daya antelmintik fraksi Et_2O dari ekstrak EtOH biji *Butea frondosa*. Ternyata aktivitas antelmintik disebabkan kandungan alkaloid didalamnya. Uji daya antelmintik dilakukan secara *in vitro* terhadap cacing tanah.

Oleh peneliti Agarwal (1979) telah dilakukan uji

daya antelmintik minyak atsiri biji *Nigella sativa* terhadap beberapa jenis cacing antara lain cacing tanah dan pita secara *in vitro*. Dapat dilihat bahwa aktivitas antelmintik minyak atsiri biji tanaman tersebut kurang lebih sama dengan heksilresorsinol, tetapi lebih kuat dari piperasin fosfat.

Penapisan daya antelmintik 223 macam obat tradisional Cina terhadap *Clonorchis sinensis* secara *in vitro* telah dilakukan oleh Jae Ku Rhee pada tahun 1982. Hasil penelitian membuktikan 33 macam diantaranya menunjukkan aktivitas antelmintik yang cukup kuat.

Pada tahun yang sama oleh Byung Zun Ahn(1982b) telah dilakukan penelitian daya antelmintik *in vitro* kulit batang *Machilus thumbergii* terhadap *Clonorchis sinensis*. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa aktivitas antelmintik disebabkan kandungan alkaloid dalam kulit batang tanaman tersebut.

Penelitian terhadap seduhan beberapa serbuk bagian tanaman obat, yang digunakan sebagai obat cacing secara tradisional di Korea, terhadap *Clonorchis sinensis* secara *in vitro* menunjukkan aktivitas antelmintik. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa substansi hasil destilasi uap dari akar *Inula helenium* dan minyak atsiri hasil destilasi uap dari *Saussurea lappa* mempunyai daya antelmintik yang kuat (Byung Zun Ahn, 1982a).

Penelitian daya antelmintik ekstrak ET_2O kulit ari *Cyprinus carpio* (sejenis ikan air tawar) terhadap

Clonorchis sinensis dilakukan oleh peneliti Jae Ku Rhee & Byung Zun Ahn (1983) cara *in vitro*. Fraksi berwarna kemerahan hasil fraksinasi ekstrak ET_2O dengan KK, menggunakan silikagel dan eluen C_6H_6 , ternyata menunjukkan daya antelmintik terkuat.

Biji buah tanaman *Prunus mume* yang tumbuh di Korea telah diteliti oleh Yung Sie Kwack dkk (1985) dan dinyatakan mempunyai daya antelmintik. Penelitian dilakukan secara *in vitro* terhadap *Clonorchis sinensis* dan menggunakan fraksi Et_2O dari ekstrak EtOH dari biji. Diperkirakan daya antelmintik disebabkan kandungan 5-hidroksi-metil-furfural dalam biji tanaman yang diteliti.

Pada penelitian daya antelmintik *in vitro* perasan rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. (temu hitam) dengan beberapa kadar berbeda, dilaporkan bahwa LD50 perasan temu hitam 200 kali lebih besar dari pada LD50 piperasin sitrat. Penelitian yang dilakukan oleh Dirdjosudjono dan Taroeno (1975) terhadap cacing askaris babi menunjukkan perasan rimpang dengan kadar meningkat mempunyai aktivitas menekan amplitudo kontraksi spontan jejunum kelinci *in vitro* dan meniadakan kontraksi tersebut pada kadar tertentu. Diperkirakan dalam perasan rimpang terdapat senyawa aktif yang mengantagonisasi asetil-kolin dengan cara yang belum jelas.

Oleh Taroeno dkk (1980) dilakukan perbandingan LD50 dari perasan rimpang, infusa rimpang dan minyak atsiri dengan LD50 piperasin sitrat dan levamisol secara

in vitro. Cenderung dapat disimpulkan bahwa LD50 minyak atsiri *Curcuma aeruginosa* jauh lebih kecil dari LD50 piperasin sitrat dan sedikit lebih besar dari pada LD50 levamisol.

3. Tanaman *Zingiber purpureum* Roxb

a. Pertelaan. Tanaman *Zingiber purpureum* tumbuh di Asia terutama daerah tropik, dari India sampai Indonesia. Di Jawa banyak ditanam didaerah rendah sampai pada ketinggian 1.300 meter diatas permukaan laut. Tanaman dengan nama daerah banglai (Sumatra), bengle (Jawa), panglai (Sunda), banggele (Bali) [MMI.I, 1977; Anonim, 1985], kunyit bolai (Melayu) [MMI.I. 1977], dan phlai (Thailand) [Casey, dkk, 1971; Lawrence, dkk, 1970].

Merupakan terna tahunan berbatang basah, dengan rimpang kuat, berdaging. Batang semu, terdiri dari pelepah daun yang dipinggir ujung berambut sikat, tangkai daun pendek. Daun banyak, berhadapan, daun paling bawah tereduksi, helai daun lonjong, panjang 10 sampai 11 kali lebar, pangkal tumpul, ujung sangat lancip, kedua permukaan berambut halus, jarang, panjang helai daun 23-35cm, lebar 20-37 mm. Perbungaan terdapat diujung, panjang gagang sampai 20 cm, bagian yang berbunga berbentuk tandan bentuk bulat telur atau mirip gelondong, panjang 6-10 cm lebar 4-5 cm; daun kelopak tersusun seperti genting; kelopak bentuk tabung, ujung bergerigi tiga, panjang $\pm 1,5$ cm, warna merah menyala; tajuk bentuk tabung pada bagian

pangkal, panjang $\pm 1,5$ cm, warna kuning, bagian ujung berbelah lonjong berujung lancip, panjang $\pm 2,5$ cm; bibir bunga berbentuk agak bulat memanjang, warna putih atau pucat, panjang 2-4 cm lebar 2-2,5 cm (MMI.I. 1977; Backer & Bakhuizen Van den Brink, 1963).

b. Kandungan tanaman. Tanaman *Zingiber purpureum* mengandung minyak atsiri yang belum banyak diketahui komposisi komponennya, damar, amilum dan zat samak (MMI.I., 1977; Gunawan, dkk, 1983; MMI.III, 1979; Sudiarto, dkk, 1985; Karsten & Weber, 1956). Analisis KGC minyak atsiri rimpang tanaman *Zingiber purpureum* yang tumbuh di Thailand, ditemukan 19 komponen oleh Lawrence (Lawrence, dkk, 1970) dan 10 komponen oleh Cassey (Cassey, dkk, 1971), dengan komponen utama sabinen dan terpinen-4-ol; minyak atsiri diperoleh secara destilasi uap rimpang segar.

c. Kegunaan. Penggunaan tanaman suku *Zingiber purpureum* terutama bagian tanaman yang terdapat didalam tanah, sangat luas dalam masyarakat sebagai campuran bumbu, bahan pewarna, bahan kosmetika dan obat tradisional (Kloppenburg Versteegh, 1934; Heyne, 1950b).

Sebagai obat cacing pada pengobatan kanak-kanak dikenal di Indonesia (Anonim, 1858; Satroamidjojo, 1967), dan digunakan luas di Malaysia (Lily, 1970).

4. Minyak atsiri dan kegunaannya

Minyak atsiri merupakan hasil metabolisme sekun-

der dengan susunan senyawa kimia yang sangat heterogen terdiri dari banyak komponen (Kubeczka, 1979; Janssen, et al, 1987 dan Hegnauer, 1980).

Dikatakan bahwa komposisi kimia minyak atsiri ternyata khas bagi tanaman yang mengandungnya (Janssen, 1987). Sehingga dapat dimengerti jika minyak atsiri yang terkandung dalam suatu species tanaman menyebabkan aktivitas biologi yang spesifik bagi species tanaman tersebut (Pellecier, 1983).

Secara umum dapat dikatakan minyak atsiri merupakan campuran yang kompleks terdiri dari banyak komponen. Penggunaan minyak atsiri dalam farmasi didasarkan atas efek fisiologi dari komponen tunggal atau kelompok komponen yang menyusunnya (Kubeczka, 1979).

Menurut Sticher (1977) beberapa monoterpena yang terdapat dalam minyak atsiri diantaranya alfa-pinen dan beta-pinen mempunyai aktivitas sebagai iritansia; limonen, sineol dan felandren diketahui mempunyai aktivitas sebagai ekspektoransia sedangkan terpinen-4-ol diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai diuretika. Oleh peneliti Janssen, et al (1987) dikatakan bahwa aktivitas antimikroba dalam ginjal kemungkinan disebabkan karena kandungan terpinen-4-ol.

Menurut Wagner dan Sprinkmeyer (1973) dikatakan bahwa linalool, sitral dan limonen menunjukkan aktivitas pada susunan syaraf sentral, dan kemungkinan besar aktivitas sentral sedatif; minyak *Valeriana sp*, *Acorus*

Promotor : Prof. Dr. Sutarjadi, Apt.

Ko-promotor : Prof. Dr. Noerhajati S, DTM&H.

Panitia Penguji Disertasi

Ketua : Prof. Nanizar Zaman Joenoes, Pharm.D.

Anggota : 1. Prof. Dr. Sutarjadi, Apt.

2. Prof. Dr. Noerhajati S, DTM & H.

3. Prof. Dr. dr. Koesdianto Tantular.

4. Prof. Drs. Soemadi, Apt.

5. Dr. A. Aziz Hubeis, Apt.

Ditetapkan dengan

SURAT KEPUTUSAN
REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA
Nomor : 9111/PT03.H/I/1989

mampu melihat dan
mau menangani

*untuk istriku
dan diharapkan berguna
untuk anak - anakku*

PRAKATA

Tulisan ini merupakan hasil penelitian fitokimiawi senyawa kandungan utama rimpang *Zingiber purpureum* Roxb, pemisahan, identifikasi dan uji daya antelmintik metoda rendaman secara *in vitro* dan metoda Penurunan Jumlah Telur dan Uji Terkontrol secara *in vivo*.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui golongan senyawa aktif antelmintik dan daya antelmintik bersangkutan, dalam rimpang *Zingiber purpureum*, sebagai dasar pengembangan antelmintika bahan alam nabati. Diharapkan pula penelitian dapat memacu upaya penelitian sumber daya alam nabati, berguna bagi pengembangan bahan alam nabati, bioaktif dan pengembangan bagi khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang bahan alam nabati untuk farmasi.

Pada kesempatan ini dengan rasa rendah hati penulis panjatkan puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat yang telah dilimpahkan-Nya kepada penulis sekeluarga, sehingga penulis mampu menyelesaikan disertasi ini.

Pada kesempatan ini pula penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya:

Kepada Rektor Universitas Gadjah Mada, Dekan Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada atas pemberian kesempatan dan bantuan untuk mengikuti Program Pendidikan S3.

Kepada Rektor Universitas Airlangga dan Dekan Fakultas Pascasarjana Universitas Airlangga, atas persetujuan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti Program Pendidikan S3 di Universitas Airlangga.

Kepada Prof.Dr.Sutarjadi, atas kesediaannya menjadi Promotor, memberikan motivasi, bimbingan dan pengarahan sejak penyusunan rencana, pelaksanaan penelitian sampai penyusunan dan penulisan disertasi ini.

Kepada Prof.Dr.Noerhayati.S.DTM&H, atas kesediaannya menjadi Kopromotor, memberikan bimbingan dan bantuan yang sangat berarti dalam pelaksanaan penelitian ini.

Kepada Yayasan Supersemar atas bantuan untuk memperlancar pelaksanaan tahap akhir penelitian ini.

Kepada Perpustakaan Pusat dan Perpustakaan Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Pusat Dokumentasi Ilmiah Nasional di Jakarta dan British Council di Jakarta atas bantuan penelusuran informasi pustaka ilmiah.

Kepada Fakultas Biologi dan Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada atas bantuan identifikasi tanaman dan cacing yang diteliti.

Kepada Kepala Bagian Biologi Farmasi dan Bagian Bio-Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada atas izin menggunakan fasilitas di lingkungan Bagian.

Kepada Kepala Laboratorium Parasitologi Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada atas pemberian izin bekerja dan menggunakan fasilitas laboratorium. Kepada Drh.Julianti.S dan Drh.Eril.S. atas saran dan bantuan pelaksanaan uji *in vivo*.

Kepada Drh.Darjono.Msc.Ph.D. atas saran dan bantuan yang diberikan dibidang desain penelitian dan analisis statistik.

Kepada Dr.Hardjono Sastrohamidjojo, atas izin pemakaian sarana penelitian yang ada dilingkungan Laboratorium Kimia dan Fisika Pusat Universitas Gadjah Mada.

Kepada Dr.Brophy dari School of Chemistry, University of New South Wales, Dr.J.H.Zwaving dari State University Groningen, Dr.H.Weerma dari State University Utrecht, atas bantuan analisis kromatografi.

Kepada PT Konimex yang telah banyak membantu dalam sarana penelitian baik berupa penggunaan bahan maupun alat sehingga memungkinkan penelitian dilakukan dengan semestinya.

Kepada Firmenich di Geneva dan CV.Indonesian Essential Oils atas bantuan berupa beberapa senyawa referensi yang sangat dibutuhkan dalam penelitian ini.

Kepada PT.Air Mancur yang memberikan izin memakai kebun percobaan untuk menanam tanaman yang diteliti.

Dan akhirnya terima kasih yang tulus dan tidak terhingga besarnya kepada istri dan anak-anakku, yang selalu mendorong, membantu dan menunjukkan pengertian dan memberikan pengorbanan selama penulis mengikuti program pendidikan S3 ini.

Semoga semua bantuan yang telah kami terima memperoleh imbalan yang setimpal dari Allah SWT.

Amin.

DAFTAR ISI

PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xxi
DAFTAR SINGKATAN	xxiii
BAB.I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan dan Kegunaan Penelitian	5
1. Tujuan Penelitian	5
2. Kegunaan Penelitian	6
BAB.II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tinjauan Pustaka	7
1. Sumber daya alam nabati sebagai sumber bahan obat	7
2. Penelitian daya antelmintik tumbuhan obat ...	9
3. Tanaman <i>Zingiber purpureum</i> Roxb	12
a. Pertelaan	12
b. Kandungan tanaman	13
c. Kegunaan	13
4. Minyak atsiri dan kegunaannya	14
5. Bahan alam nabati dan analisis fitokimia	16
a. Bahan alam nabati	16
b. Analisis fitokimia	17

6. Uji daya antelmintik	20
a. Uji <i>in vitro</i>	21
1).Cacing uji	21
2).Cacing <i>Ascaridia galli</i> Schrank	22
3).Media penyimpan dan uji	22
4).Pengukuran daya antelmintik dan kemati- an cacing	23
b. Uji <i>in vivo</i>	24
1).Uji Pengurangan Jumlah Telur	24
2).Uji Kritik	25
3).Uji Terkontrol	25
4).Dosis perlakuan	26
B. Landasan teori	26
C. Hipotesis	28
D. Rencana penelitian	29
1. Tahap penelitian	29
2. Rancangan percobaan	30
 BAB III.TAHAP, BAHAN, ALAT DAN METODA PENELITIAN ..	 31
A. Tahap uji daya antelmintik perasan rimpang	31
1. Bagan Tahap penelitian	31
2. Bahan	31
a. Cacing yang digunakan dalam penelitian ...	31
b. Rimpang tanaman	32
1).Rimpang segar	32
2).Rimpang kering	32
c. Perasan rimpang	32
d. Media penyimpan dan uji	33
3. Alat	33
a. Alat peras dan hisap Braun	33
b. Perangkat uji antelmintik <i>in vitro</i>	33
4. Metoda	33
a. Uji media	33

b. Uji daya antelmintik	34
1).Menentukan LD50	34
2).Menentukan potensi relatif	35
B. Tahap penelitian fitokimia dan penyediaan bahan penelitian	36
1. Bagan Tahap penelitian	36
2. Bahan	36
a. Rimpang segar	36
b. Rimpang kering	36
3. Alat	36
4. Metoda	37
a. Penelitian pendahuluan	37
1).Metoda organoleptik	37
2).Metoda histokimia	37
3).Metoda fitokimia	38
b. Penelitian penegasan	38
c. Penyediaan ekstrak PE	38
d. Penyediaan ekstrak MeOH	39
e. Penyediaan minyak atsiri	39
f. Identifikasi	39
1).Identifikasi minyak atsiri	39
2).Identifikasi komponen minyak atsiri ...	39
C. Tahap uji daya antelmintik Ekstrak, minyak atsiri rimpang dan residu	40
1. Bagan Tahap penelitian	40
2. Bahan	40
a. Ekstrak PE	40
b. Ekstrak MeOH	40
c. Minyak atsiri	40
d. Residu	40
e. Serbuk Gom Arab, Tragakan dan polisorbate 80	40

3. Alat	40
4. Metoda	41
a. Uji emulgator	41
b. Penentuan % emulgator dalam emulsi	41
c. Uji antelmintik <i>in vitro</i>	41
D. Tahap fraksinasi minyak atsiri rimpang	42
1. Bagan Tahap penelitian	42
2. Bahan	42
a. Minyak atsiri	42
3. Alat	42
4. Metoda	43
a. Prafraksinasi	43
b. Fraksinasi kolom	43
E. Tahap uji daya antelmintik fraksi minyak atsiri	44
1. Bagan Tahap penelitian	44
2. Bahan	45
a. Minyak atsiri	45
b. Fraksi sabinen	45
c. Fraksi terpinen-4-ol	45
d. Anak ayam pedaging (DOC) AS 101	45
e. Telur infeksi	45
1).Pengumpulan telur cacing	45
2).Pengadaan telur infeksi	45
3. Alat	46
4. Metoda	46
a. Uji daya antelmintik <i>in vitro</i>	46
b. Uji daya antelmintik <i>in vivo</i>	46
1).Penginfeksian anak ayam	47

2). Uji daya antelmintik <i>in vivo</i> metoda Penurunan Jumlah Telur	47
3). Uji daya antelmintik <i>in vivo</i> metoda Uji Terkontrol	48
BAB IV. HASIL PENELITIAN	49
A. Hasil Tahap uji daya antelmintik perasan rimpang	49
1. Hasil uji media	49
2. Hasil penyediaan perasan rimpang	50
3. Hasil uji daya antelmintik <i>in vitro</i> perasan rimpang	51
a. Hasil perhitungan LD50 perasan rimpang dan piperasin sitrat	51
b. Hasil perhitungan potensi relatif perasan rimpang terhadap piperasin sitrat	52
B. Hasil Tahap penelitian fitokimia dan penyediaan bahan penelitian	55
1. Hasil penelitian fitokimia	55
a. Hasil penelitian pendahuluan	55
1). Hasil penelitian organoleptik	55
2). Hasil penelitian histokimia	55
3). Hasil penelitian fitokimia	56
b. Hasil penelitian penegasan	56
2. Penyediaan bahan penelitian	57
a. Hasil penyediaan ekstrak PE	57
b. Hasil penyediaan ekstrak MeOH	58
c. Hasil penyediaan minyak atsiri	58
1). Hasil identifikasi minyak atsiri <i>Zingiber purpureum</i>	59
2). Hasil identifikasi komponen minyak atsiri <i>Zingiber purpureum</i>	59
C. Hasil Tahap uji daya antelmintik Ekstrak, minyak atsiri dan residu	63
1. Hasil uji emulgator	63
2. Hasil penentuan % emulgator dalam emulsi	63

3. Hasil uji daya antelmintik <i>in vitro</i> ekstrak .	64
a. Hasil perhitungan LD50 ekstrak PE, MeOH dan piperasin sitrat	64
b. Hasil perhitungan potensi relatif terhadap piperasin sitrat	65
4. Hasil uji antelmintik <i>in vitro</i> minyak atsiri dan residu	67
a. Hasil perhitungan LD50 minyak atsiri, residu dan piperasin sitrat	67
b. Hasil perhitungan relatif minyak atsiri dan residu terhadap piperasin sitrat	68
D. Hasil Tahap fraksinasi minyak atsiri	70
1. Hasil prafraksinasi minyak atsiri	70
2. Hasil fraksinasi kolom Fraksi II	72
E. Hasil Tahap uji antelmintik fraksi minyak atsiri	80
1. Hasil uji daya antelmintik <i>in vitro</i> Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol	80
a. Hasil perhitungan LD50 Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol	80
b. Hasil perhitungan potensi relatif Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol	81
2. Hasil uji antelmintik <i>in vivo</i>	82
a. Hasil uji metoda Penurunan Jumlah Telur ...	83
b. Hasil metoda Uji Terkontrol	86
BAB.V. PEMBAHASAN	89
BAB.VI. KESIMPULAN	98
BAB.VII. RINGKASAN	103
DAFTAR PUSTAKA	110
LAMPIRAN	119
RIWAYAT HIDUP	160

DAFTAR LAMPIRAN

1. Tumbuhan yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional di Indonesia ...	119
2. Tumbuhan suku <i>Zingiberaceae</i> yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional yang tumbuh di Indonesia	119
3. Tumbuhan yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional di Afrika, Asia dan Afrika Selatan	120
4. Tumbuhan yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional di India, Pakistan dan Asia Tenggara	120
5. Tabel data hasil uji media air suling, larutan NaCl 0,9 % dan 5 % glukosa salin isotoni	122
6. Tabel waktu mulai terjadi 50% kematian cacing dalam rendaman air suling, larutan NaCl 0,9 % dan larutan glukosa salin 5 %	123
7. Tabel volume, bobot jenis, berat dan % b/b perasan rimpang	124
8. Tabel potensi relatif (PR) perasan rimpang <i>C.aeruginosa</i> (PRCA), <i>Z.officinale</i> (PRZO) dan <i>Z.purpureum</i> (PRZP) terhadap piperasin sitrat .	125
9. Tabel hasil penelitian pendahuluan serbuk rimpang <i>Zingiber purpureum</i>	127
10. Tabel hasil uji fitokimia penegasan terhadap golongan senyawa yang diperkirakan ada menurut uji pendahuluan rimpang <i>Zingiber purpureum</i>	128
11. Tabel hRf minyak atsiri hasil destilasi ekstrak PE	131
12. Tabel hRf minyak atsiri hasil destilasi ekstrak PE	131
13. Hasil hRf ekstrak bensen dari serbuk yang telah diawaleamkan	132

30. Analisis kovarian dan <i>split-plot</i> terhadap EPG 1 hari pra dan 3 hari pasca perlakuan dengan emulsi minyak atsiri fraksi sabinen dan fraksi terpinen-4-ol dengan dosis 100 mg dan 300 mg/ 5 ml/ekor	148
31. Tabel jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati dan konversi ($\log X+1$)	157
32. Tabel penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati	158
33. Analisis varian penurunan jumlah cacing	158
34. Perhitungan beda rerata penurunan jumlah cacing dengan uji Tukey HSD	159

calamus dan *Melissa officinalis* pernah digunakan sebagai sedativa karena mengandung komponen tersebut.

Minyak atsiri telah pula digunakan dalam pencegahan dan pengobatan penyakit disebabkan karena jamur, serangga dan cacing usus (Hauschild, 1956).

Menurut Sticher (1977) walaupun terpenoid mempunyai lingkup aktivitas biologi yang sangat luas, tetapi baru beberapa yang digunakan secara klinik dewasa ini diantaranya seperti tercantum dalam tabel berikut.

Tabel.II.1, Penggunaan klinik beberapa mono dan seskui terpenoid.

Penggunaan sebagai	mono terpenoid	seskui terpenoid
Antelmintik	+	+
Desinfektansia	+	-
Iritansia	+	-
Sedativa	+	-

5. Bahan alam nabati dan analisis fitokimia

a. Bahan alam nabati. Bahan alam nabati merupakan kelompok senyawa organik nabati hasil metabolisme baik primer maupun sekunder. Umumnya metabolit sekunder dibuat melalui jalur biosintesis yang spesifik, sehingga senyawa organik nabati biasanya menunjukkan efek biologi terhadap sistem biokimia dalam tanaman.

Hanya dalam taraf pemakaian yang sesuai dapatlah senyawa bahan nabati dimanfaatkan sebagai senyawa

organik bioaktif untuk kepentingan manusia.

Berbagai kelompok senyawa organik nabati seperti alkaloid, glikosid, flavonoid, monoterpena, seskuiterpena merupakan contoh dari sekian banyak senyawa organik nabati bioaktif.

Berdasarkan kemotaksonomi, rupanya beberapa kelompok senyawa organik bioaktif tertentu hanya terdapat terbatas dalam beberapa suku tanaman tertentu saja. Keadaan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai pengarah dalam usaha penapisan fitokimia (Marini, *et al* 1981).

Tabel.II.2.Distribusi kelompok senyawa organik bio aktif dalam suku tanaman menurut Marini-Bettolo

Antranoid	: Leguminosae, Liliaceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Verbenaceae, Rhamnaceae, Bignoniaceae, Amaryllidaceae.
Alkaloid	: Papaveraceae, Rubiaceae, Apocynaceae, Rutaceae, Anonaceae, Labiatae, Loganiaceae, Sapindaceae, Menispermaceae, Liliaceae, Solanaceae, Berberidaceae, Campanulaceae, Cactaceae, Ranunculaceae, Leguminosae, Compositae, Coprinaceae, Magnoliaceae, Gentianaceae, Lycopodiaceae, Amaryllidaceae.
Kardenolid	: Apocynaceae, Labiatae, Euphorbiaceae, Asclepiadaceae, Cactaceae, Celastraceae, Compositae, Ranunculaceae, Cruciferae, Moraceae, Sterculiaceae, Rhamnaceae, Tiliaceae.
Flavonoid	: Bryophytae, Chlorophytae, Cupressaceae, Cyatheaceae, Equisetaceae, Dicksoniaceae, Gleicheniaceae, Hymenophyllaceae, Lycopodiaceae, Pinaceae, Podocarpaceae, Polypodiaceae, Psilotaceae, Schizaeaceae, Selaginellaceae, Taxodiaceae, Araceae, Zingiberaceae.

Tabel 2 lanjutan

Steroid	: Tersebar di suku-suku tanaman.
Saponin	: Tersebar di suku-suku tanaman.
Tanin	: Tersebar di suku-suku tanaman.

b. Analisis fitokimia. Aktivitas biologi bahan alam nabati disebabkan kandungan metabolit sekunder yang berupa senyawa organik nabati bioaktif. Sangat penting untuk mengetahui senyawa tersebut sebelum melakukan usaha ekstraksi terhadapnya (Koji, *et al*, 1974; Fong *et al*, 1966).

Usaha mempelajari kandungan metabolit sekunder umumnya dilakukan dalam beberapa tahap penelitian. Tahap permulaan dilakukan dengan cara penapisan fitokimia (Maiti, 1968).

Umumnya metoda penapisan berdasar atas reaksi pengendapan dan reaksi warna. Untuk pemantapan dilakukan analisis KLT (Marini, *et al*, 1981).

1). Ekstraksi. Tahap selanjutnya dalam analisis fitokimia sesudah penapisan adalah ekstraksi. Bahan yang akan diekstrak dapat berupa bahan segar atau dikeringkan dari tanaman yang telah diketahui dan dibuktikan identitas botaninya (Marini, *et al* 1981 ; Harborne, 1984).

Cara ekstraksi yang tepat adalah cara yang menggunakan larutan penarik yang sesuai dengan sifat golongan senyawa yang akan diisolasi. Umumnya ekstraksi

dilakukan dengan menggunakan EtOH dengan kadar air bervariasi. Ekstraksi sinambung dilakukan dengan menggunakan beberapa pelarut berganti-ganti mulai dengan yang nonpolar untuk ekstraksi lipid dan terpenoid, kemudian digunakan pelarut EtOH dan EtOAc untuk ekstraksi senyawa yang lebih polar. Dengan cara ini jarang dapat diperoleh pemisahan senyawa yang sempurna (Harborne, 1984; Farnsworth, 1966 dan Nakanishi, 1982).

Ekstraksi minyak atsiri umumnya dilakukan dengan cara penyulingan uap, penyulingan uap dan air, hidrodifusi dan ekstraksi menggunakan pelarut organik yang sesuai (Guenther, 1975; Pellecuer, 1983; Koedam, 1980). Penggunaan cara ekstraksi dengan pelarut organik dimaksudkan untuk memperoleh minyak atsiri dengan komposisi komponen yang mirip dengan komposisi komponen dalam alam (Koedam, 1980).

2). **Pemisahan.** Pemisahan dan pemurnian secara umum dapat dilakukan dengan cara kromatografi (Randerath, 1966; Smith, 1969; Harborne, 1973; Hardjono & Nagel, 1979; Hardjono, 1985 dan Wichtl, 1971); yaitu kromatografi kertas (Kkt), kromatografi lapis tipis atau KLT (Stahl, 1968), kromatografi gas cair (KGC) dan kromatografi cair kinerja tinggi atau KCKT (Snyder, 1979). Cara yang digunakan disesuaikan dengan sifat kelarutan dan keatsirian senyawa yang dipisah (Harborne, 1984; Pryde & Gilbert, 1979; Goran & Ehrson, 1978 dan Heinz Engelhardt, 1979).

KLT merupakan salah satu cara yang terbaik untuk pemisahan senyawa kandungan yang larut dalam lipid, sebagai contoh dapat diberikan bermacam kandungan lipid, steroid karotenoid dan klorofil. KGC merupakan cara pemisahan khusus untuk senyawa dengan keatsirian tinggi, seperti pemisahan komponen minyak atsiri (Croteau, 1983). Untuk senyawa kandungan tanaman dengan keatsirian yang rendah akan lebih baik hasil pemisahannya, jika digunakan cara pemisahan dengan KCKT (Harborne, 1984 dan Frei, 1980).

Gabungan beberapa cara pemisahan kadang dilakukan dengan tujuan memperoleh hasil pemisahan yang lebih baik untuk golongan senyawa tertentu (Goran & Ehrson, 1983 dan Harborne, 1984) sebagai contoh cara pemisahan gabungan KCKT - MS (Games, 1981) dan KGC - MS (Games, 1984; Eckers *et al*, 1980 dan Faddens, *et al*, 1977).

3). Identifikasi. Setelah ditentukan golongan senyawa dengan reaksi warna, reaksi pengendapan, kelarutan, angka Rf pada KKT maupun KLT, ciri spektrum UV dan uji biokimia dan biologi pada penentuan golongan senyawa tertentu, baru dapat dilakukan identifikasi pemantapan terhadap hasil isolasi yang dimurnikan dengan pengukuran sifat atau ciri senyawa tersebut dan dibandingkan dengan senyawa baku ataupun perbandingan data dalam pustaka. Dalam hal ini yang diukur adalah antara lain tetapan alami, Rf, spektrum UV, spektrum IM; spektrum RMI dan MS

(Harborne, 1984; Heller & Millne, 1973; Ten Noever, et al. 1980; Silverstein, R.M., et al, 1974).

6. Uji daya antelmintik

Sistematika uji daya antelmintik dari substansi yang diperkirakan bersifat antelmintik telah dikenal dan mulai digunakan pada permulaan abad ke 20. Beberapa uji daya antelmintik yang umum dilakukan walaupun sedikit bervariasi, dapat digolongkan dalam dua cara, yaitu uji *in vitro* dan uji *in vivo*.

Banyak faktor yang menentukan perbedaan hasil yang diperoleh dari uji *in vitro* dan *in vivo*. Jenis cacing cukup berpengaruh pada hasil uji *in vitro* sedang jenis cacing dan hewan percobaan sangat mempengaruhi hasil uji *in vivo*.

Kondisi uji *in vivo* yang tidak mungkin dapat ditiru secara sempurna pada uji *in vitro* merupakan faktor penyebab perbedaan hasil akhir kedua uji tersebut.

Efektivitas suatu antelmintika pada dasarnya ditentukan dengan prosen parasit yang keluar dari semang. Atas dasar tersebut maka hasil uji *in vitro* umumnya hanya merupakan pengarahannya untuk uji *in vivo* lebih lanjut (Duwel, 1975; Morgan & Hawkins, 1953).

a. Uji in vitro. Banyak ragam uji antelmintik *in vitro* sejak lama digunakan, dari yang menggunakan radas sederhana sampai canggih, dari cara rendaman dalam wadah

yang sederhana sampai dengan yang kompleks dan dilengkapi bermacam alat seperti helmintograf.

Waktu tahan hidup dari cacing dalam rendaman, merupakan parameter dari uji ini, tanpa diperhatikan peristiwa yang mungkin akan terjadi terhadap senyawa yang diuji didalam tubuh semang antara lain peristiwa absorpsi, disposisi, distribusi dan eliminasi (Lamson, 1935).

1).Cacing uji. Pada uji daya antelmintik *in vitro* beberapa jenis cacing uji telah digunakan antara lain *Ascaris lumbricoides* dari babi, cacing pita dan cacing tambang digunakan dalam penelitian Chopra dan Lamson, sedang cacing tanah pernah digunakan peneliti Sollmann, Nandi dan Ganguly (Lamson, 1935). Untuk model askariasis oleh Duwel (1975) disarankan penggunaan beberapa hewan laboratorium dan cacing yang sesuai, diantaranya ayam dengan cacing *Ascaridia galli*, selain mudah pengerjaannya, antisipasi pada manusia cukup tinggi.

2).Cacing *Ascaridia galli* Schrank. Termasuk cacing nematoda yang merupakan parasit dalam usus halus ayam, angsa dan unggas liar (Soulsby, 1976 dan Morgan & Hawkins, 1953). Siklus hidupnya mirip dengan *Ascaris lumbricoides* yang merupakan parasit pada manusia (Elmer, 1961). Dalam kondisi yang baik, telur cacing berkembang menjadi infeksiif yang mengandung larva stadium kedua dalam 8-14 hari. Telur tersebut akan

menetas dan berkembang diperut atau usus halus hewan semang, beberapa diantaranya masuk dalam mukosa usus. Setelah periode dalam mukosa usus, larva akan kembali masuk dalam usus dan menjadi dewasa, mulai bertelur pada minggu ke 5 pasca infeksi (Levine, 1968 dan Olsen, 1962). Adapun ciri-ciri *Ascaridia galli* antara lain yang jantan panjang 30-80 mm yang betina lebih panjang umumnya antara 60-120 mm (Levine, 1968).

Menurut Nugroho (1983) cacing berwarna putih kekuningan, agak kaku seperti batang lidi. Pada ekor cacing jantan terdapat *alae* kecil dan kurang lebih 10 pasang papila. Diantara papila tersebut terdapat *prae cloacal sucker* (Soulsby, 1976).

3).Media penyimpan dan uji. Beberapa peneliti menggunakan media penyimpan dan uji yang berbeda, antara lain air suling (Gaird & Budhiraja, 1967), larutan Ringer (Kaleysaraj & Kurup, 1962), larutan garam NaCl fisiologi (Lamson, 1935; Agarwal, 1979; Jae Khu Rae, *et al*, 1981 dan Byung Zun Ahn, 1982a). Pengembangan media dilakukan dengan tujuan memperpanjang daya tahan hidup cacing yang direndam didalamnya, dengan menambahkan vitamin dan komponen penambah makanan yang lain (Lamson, 1935).

4).Pengukuran daya antelmintik dan kematian cacing. Uji daya antelmintik *in vitro* umumnya dilakukan dengan cara rendaman. Pengukuran daya antelmintik larutan yang diuji secara *in vitro* dilakukan dengan

pengukuran secara fisik dan secara kimiawi. Secara fisik dilakukan pengukuran daya tahan hidup cacing dalam rendaman, sedangkan pengukuran secara kimiawi dilakukan dengan membandingkan hasil proses fisiologi tertentu dari cacing pada pra dan pasca perlakuan, contohnya *glycogen depletion method* dan metoda konsumsi O_2 dari Warburg (Lamson, 1935).

Beberapa cara pengukuran kematian cacing secara mekanik berdasar motilitas cacing telah dikenal dan dilakukan dalam penelitian antara lain: dengan helmintograf, dimana cacing keseluruhan direndam dalam wadah berisi larutan substansi yang diteliti. Ujung cacing dihubungkan dengan kimograf. Waktu yang diperlukan untuk cacing mati dalam rendaman, terdeteksi pada kimogram (Lamson, 1935). Kebanyakan peneliti menentukan kematian cacing berdasar motilitas dengan cara yang lebih sederhana, sebagai contohnya terhadap cacing yang telah mengalami perlakuan perendaman dalam larutan substansi yang diteliti, diangkat, dicuci, dimasukkan dalam larutan asam klorida dengan kadar tertentu atau air suling dengan suhu tertentu (lebih dari $50^{\circ}C$). Adanya gerakan aktif menandakan cacing masih hidup (Lamson, 1935).

b. Uji *in vivo* Untuk memantapkan hasil uji antelmintik diperlukan uji *in vivo* terhadap satu atau beberapa jenis cacing. Metoda uji daya antelmintik *in*

vivo perlu dirumuskan secara tepat dan sesuai, karena kebanyakan cacing hidup dalam lokasi tertentu dalam tubuh dimana aksi antelmintik tidak langsung dapat dipantau. Dikenal tiga metoda uji antelmintik *in vivo* yang banyak digunakan oleh para peneliti.

1). Uji Penurunan Jumlah Telur. Merupakan metoda uji berdasar perbedaan jumlah telur dalam tinja pra dan pasca perlakuan. Beberapa cara penghitungan jumlah telur per gram tinja (EPG) dikenal *The Dilution Egg Count Test* yang diperkenalkan oleh Stoll dan Hausheer (1926) dan penghitungan EPG secara Metoda Sediaan Tebal dari Kato, merupakan metoda paling cocok untuk evaluasi khasiat antelmintik suatu obat pada manusia. Penghitungan EPG menurut metoda sediaan tebal Kato (Komiya & Kobayashi, 1966; Martin & Beaver, 1968), merupakan juga cara menghitung EPG secara kuantitatif.

2). Uji Kritik (*Critical test*). Diperkenalkan oleh Hall (Moskey, 1941) sebagai salah satu cara uji yang lebih handal dan dipercaya, sehingga banyak digunakan dalam penelitian-penelitian. Dalam uji ini tinja pasca perlakuan selama 3 hari/lebih dikumpulkan dari hewan perlakuan dan diperiksa jumlah cacing yang terdapat didalamnya. Setelah diketahui tidak ada cacing lagi yang keluar bersama tinja pasca perlakuan, binatang percobaan dibunuh dan diperiksa jumlah cacing yang terdapat dalam bagian tubuh. Jumlah cacing yang keluar dan jumlah

cacing yang terdapat dalam tubuh dianggap sebagai jumlah cacing pada permulaan percobaan. Perbandingan jumlah cacing yang keluar dan jumlah cacing pada permulaan percobaan menggambarkan prosentase efek obat yang diuji.

3). Uji Terkontrol (*Controlled test*). Merupakan cara uji *in vivo* yang membutuhkan waktu penelitian yang lama. Berbeda dengan cara uji sebelumnya selain menggunakan infestasi buatan juga menggunakan kelompok kontrol. Cara uji ini dilakukan sebagai berikut: Dibedakan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang terdiri dari 10 ekor hewan percobaan. Pada kedua kelompok ini dilakukan infeksi telur cacing infeksi dalam jumlah tertentu. Pada waktu diperkirakan telur menetas dalam bagian tubuh binatang percobaan, dilakukan pengobatan pada kelompok percobaan, kecuali pada kelompok kontrol. Pada waktu tertentu pasca perlakuan, semua binatang percobaan dibunuh dan dihitung jumlah cacing dalam tubuh. Jumlah cacing dalam tubuh kelompok kontrol dianggap sebagai jumlah cacing pra perlakuan, sedangkan jumlah cacing dalam tubuh kelompok perlakuan dianggap sebagai cacing yang tidak keluar setelah dilakukan perlakuan.

Dalam beberapa hal tertentu Uji Kritik dan Uji Terkontrol merupakan uji yang dapat memberikan informasi yang dapat dipercaya (Moskey dan Harwood 1941).

4). Dosis perlakuan. Umumnya pada penelitian hewani, pemberian dosis obat perlu disesuaikan dengan bobot badan hewan percobaan, karena perlu diperhatikan toksisitas obat terhadap hewan percobaan. Hal ini tidak perlu dilakukan dalam menentukan efisiensi atau hasil optimum suatu antelmintika. Disebabkan permukaan dan panjang usus tidak sebanding dengan bobot badan hewan muda dan dewasa. Bahkan usus hewan muda relatif lebih panjang dibanding hewan dewasa. Jumlah cacing dalam usus juga merupakan masalah. Sehingga akan terjadi variasi dalam efikasi dari obat yang sama, jika diberikan dalam dosis yang sebanding dengan bobot badan hewan (Lamson, 1935).

B. Landasan Teori

Dari tinjauan pustaka dan penelitian dijabarkan landasan teori sebagai berikut :

1. Senyawa metabolit sekunder biasanya terjadi dari hasil metabolisme senyawa metabolit primer dalam alam nabati, dan umumnya merupakan kelompok senyawa organik nabati bioaktif; umumnya senyawa metabolit sekunder terdistribusi terbatas dan spesifik dalam suku-suku tumbuhan. Pada tanaman suku *Zingiberaceae* umumnya mengandung minyak atsiri dan flavonoid.

2. Salah satu cara yang sering dilakukan dalam penapisan senyawa bioaktif kandungan tanaman, adalah penapisan uji biologi terhadap ekstrak tanaman tersebut. Dari

tinjauan pustaka mengenai kegunaan minyak atsiri dan beberapa hasil penapisan daya antelmintik ekstrak/fraksi tanaman, cenderung dikatakan bahwa minyak atsiri merupakan kandungan aktif antelmintik dalam tanaman; juga pernah dilaporkan terdapatnya alkaloida yang aktif antelmintik dalam biji *Butea frondosa* (Kaleyswaraj & Kurup, 1916).

3. Penapisan fitokimia merupakan langkah awal usaha menetapkan penggolongan senyawa kandungan tanaman, sedang identifikasi hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan cara tetapan alami, kromatografi dan spektroskopi.

4. Dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik yang sesuai, akan diperoleh minyak atsiri dengan komposisi komponen yang mirip dengan komposisi komponen alami (Koedam, 1980). Pemisahan secara KK yang didahului dengan destilasi bertingkat dengan pengurangan tekanan terhadap minyak atsiri, akan dapat diperoleh beberapa fraksi dengan kadar komponen yang cukup tinggi (Scheffer, et al, 1977).

5. Penentuan daya antelmintik bahan obat dapat dilakukan dalam 2 tahap penelitian. Pertama dilakukan uji *in vitro* dengan cara rendaman; jika terbukti efektif, dapat dilanjutkan dengan uji *in vivo* dengan binatang percobaan laboratorium dan cacing yang sesuai. Metoda Uji Penurunan Jumlah Telur dan dimantapkan dengan Uji Terkontrol (*Controlled test*), keduanya dengan infestasi buatan da-

lam kondisi tertentu, diharapkan dapat memberikan informasi daya antelmintik yang dapat dipertanggung jawabkan.

C. Hipotesis

Berdasar penjabaran tinjauan pustaka dan hasil penelitian sebelumnya, beberapa hipotesis dapat disusun:

1. Rimpang *Zingiber purpureum* mengandung fraksi aktif-antelmintik yang cukup efektif.
2. Dengan cara yang sesuai, fraksi aktif-antelmintik tersebut dapat diisolasi dan diidentifikasi.
3. Daya antelmintik fraksi aktif-antelmintik hasil pemisahan tersebut dapat diukur secara kualitatif dan kuantitatif dengan metoda uji daya antelmintik *in vitro* dan *in vivo*.

D. Rencana Penelitian

1. Tahap penelitian

Tahap-tahap penelitian disusun sebagai berikut :

- a. Tahap uji daya antelmintik perasan rimpang. Dalam tahap ini diharap dapat diketahui ada tidaknya dan efektifitas daya antelmintik perasan rimpang *Zingiber purpureum* dibandingkan piperasin sitrat. Dilakukan juga perbandingan dengan daya antelmintik perasan rimpang *Zingiber officinale* dan *Curcuma aeruginosa*, rimpang tanaman

sesuku dan yang telah dilakukan penelitian daya antelmintik terhadapnya, dengan cara membandingkan LD50 dan potensi relatif perasan terhadap piperasin sitrat. Diharapkan perbandingan dengan kedua rimpang diatas akan dapat diperoleh informasi yang banyak.

b. Tahap penelitian fitokimia rimpang dan penyediaan bahan penelitian. Diharapkan dalam tahap ini ditemukan golongan senyawa yang diperkirakan berpotensi antelmintik; dan tersedianya bahan untuk penelitian.

c. Tahap uji daya antelmintik ekstrak, minyak atsiri dan residu. Diharapkan dalam tahap ini diketahui dan ditentukan secara *in vitro* ekstrak / golongan senyawa dengan daya antelmintik terkuat, untuk diteliti lebih lanjut.

d. Tahap fraksinasi ekstrak/golongan senyawa aktif-antelmintik rimpang. Diharapkan dalam tahap ini dapat diperoleh beberapa fraksi dari ekstrak / golongan senyawa rimpang yang aktif-antelmintik.

e. Tahap uji antelmintik *in vitro* dan *in vivo*. Diharapkan dalam tahap ini diketahui daya antelmintik secara kualitatif dan kuantitatif dari fraksi aktif antelmintik hasil pemisahan.

2. Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap, pola searah dengan replikasi sama. Dila-

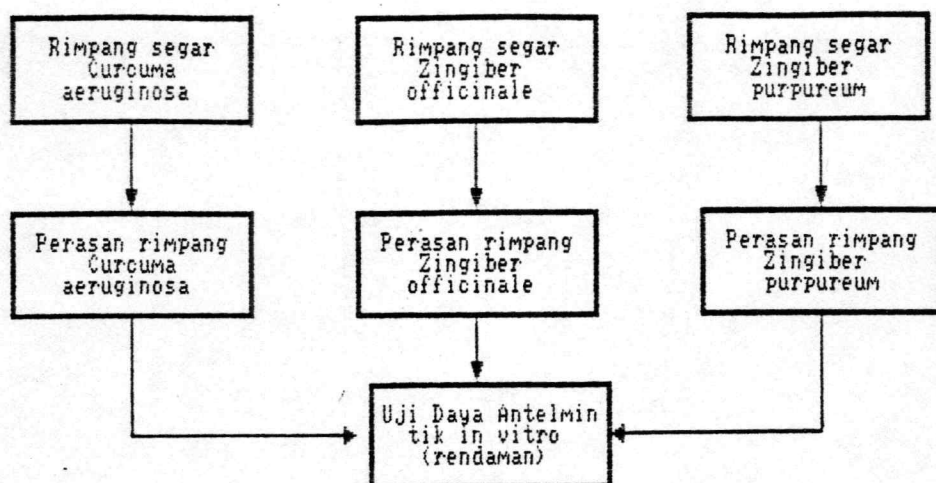
kukan analisis varian dengan taraf kepercayaan 0,05.

Juga digunakan Rancangan Acak Lengkap, *single covariate* dan Rancangan *split plot*. Membandingkan beda antara dua / lebih rerata perlakuan dilakukan analisis uji t dan Tukey (Rumyon & Haber, 1970; Maria, 1980; Steel & Torrie, 1980 dan Maria, 1981).

BAB.III.TAHAP, BAHAN, ALAT DAN METODA PENELITIAN

A. Tahap Uji Daya Antelmintik Perasan Rimpang.

1. Bagan tahap penelitian



Gambar III.A. Bagan Tahap Penelitian A.

2. Bahan.

a. Cacing yang digunakan dalam penelitian.

Baik dalam uji *in vitro* maupun *in vivo* digunakan cacing *Ascaridia galli* Schrank, diperoleh dari pemotongan ayam; segera setelah ayam dipotong, cacing dikumpulkan dengan hati-hati dari usus dan dicuci dengan air suling. Setelah dibuktikan kebenaran zoologinya segera disimpan dalam media, di almari pengeras Memmert dengan suhu 42°C (Soulsby, 1976). Cacing yang kurang lebih sama besar dan aktif, disimpan tidak lebih dari 2 hari digunakan dalam

uji antelmintik *in vitro*.

b. Rimpang tanaman.

Rimpang *Zingiber purpureum*, *Curcuma aeruginosa* dan *Zingiber officinale*, diperoleh dari tanaman bersangkutan, umur 6 sampai 8 bulan, tumbuh di kebun percobaan PT Air Mancur, Jumantono, Karanganyar, Surakarta; lokasi tanah dengan tinggi \pm 138 m di atas permukaan air laut.

Jenis tanah : Latosol warna merah / merah kuning.

Tekstur : Lempung liat berdebu.

Kandungan : Tanah liat 47,9 - 56,3 %

Debu 32,9 - 38,2 %

Pasir 10,8 - 14,8 %

1). Rimpang segar. Rimpang segar adalah rimpang tanaman, tidak dikuliti, dibersihkan dari kotoran yang melekat, dicuci bersih segera pasca panen.

2). Rimpang kering. Rimpang kering adalah rimpang segar yang diiris merupakan kepingan dengan tebal 0,25-0,5 cm, dikeringkan dibawah sinar matahari tidak langsung.

c. Perasan rimpang.

Perasan rimpang tanaman, diperoleh dengan metoda perasan menggunakan alat peras dan hisap Braun.

Cara : Tiga ratus g rimpang segar diiris kecil, diperas sampai tuntas. Hasil perasan ditampung, diukur volume, ditentukan bobot jenis dan bobot perasan. Untuk memperoleh perasan dengan kadar tertentu (X % b/v)

dilakukan pengenceran dengan larutan glukosa salin 5 %.

Rimpang segar yang digunakan adalah rimpang segar yang baru dipanen atau rimpang segar yang disimpan dalam almari es tidak lebih dari 6 hari.

d. Media penyimpanan dan uji.

Tiga media penyimpanan dan uji yang akan ditentukan sebagai media dalam penelitian adalah:

1. Air suling.
2. Larutan NaCl 0,9%. (NaCl E.Merck.6404).
3. Larutan glukosa salin 5%.

(Diperoleh dari melarutkan 50,000 g glukosa monohidrat(Ph.Eur.E.Merck.8346), 1,040 g NaCl(E.Merck 6404) dalam 1000 ml air suling.Larutan isotonis dengan pH 5,5 - 5,7).

3. Alat.

- a. Alat peras dan hisap Braun.
- b. Perangkat Uji antelmintik *in vitro* (Almari pengeram Memmert dilengkapi pengatur suhu, piring petri garis tengah 12 cm dan isi 50 ml, batang kaca panjang 15 cm dan garis tengah 1 mm).

4. Metoda.

a. Uji media.

Media dengan daya mematikan cacing terkecil, dipilih sebagai media dalam penelitian ini. Metoda uji yang digunakan adalah metoda rendaman, dengan jam terjadi 50% kematian cacing sebagai parameter daya mematikan cacing,

sedang pengukuran kematian cacing secara mekanik.

Cara : Cacing direndam dalam 50 ml masing-masing media, dalam almari pengering Memmert dengan suhu 42°C. Dilakukan pantauan jumlah kematian cacing setiap 4 jam.

Jumlah perlakuan (n) = 10.

Jumlah pengulangan (r) = 3.

Pengukuran kematian secara mekanik:

Dari beberapa pengukuran kematian cacing secara mekanik berdasar motilitas, dipilih cara penekanan/sentuhan pada bagian sensitif dengan hati-hati menggunakan batang kaca ; gerakan aktif kekedua arah menunjukkan adanya kehidupan. Keuntungan dari cara ini, cacing tidak perlu dipindah tempat dan dicuci, yang dapat menyebabkan perubahan kondisi cacing.

b. Uji daya antelmintik.

Dilakukan uji daya antelmintik *in vitro*, dengan cara rendaman menurut metoda Lamson (1935) dimodifikasi; pengukuran daya antelmintik dilakukan dengan membandingkan potensi relatif sediaan yang diuji terhadap piperasin sitrat. Potensi relatif diperoleh dengan membandingkan LD50 sediaan dengan LD50 piperasin sitrat.

1).Menentukan LD50. Penentuan LD50 sediaan terhadap cacing *Ascaridia galli*, dilakukan menurut metoda F.I ed. III (1979), dengan persyaratan:

1. Menggunakan seri dosis dengan pengenceran berkelipatan tetap.

2. Jumlah hewan percobaan tiap kelompok harus sama.
3. Dosis diatur sedemikian hingga memberikan efek dari 0% sampai 100% ;dan perhitungan dibatasi pada kelompok percobaan yang memberi efek dari 0% sampai 100%.

Rumus yang digunakan : $m = a - b (\sum p_i - 0.5)$.

$m = \log LD50$.

$a = \log$ dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok.

$b =$ beda \log dosis yang berurutan.

$p_i =$ jumlah hewan percobaan yang mati yang menerima dosis i , dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i .

Cara : Cacing direndam dalam 50ml sediaan yang diuji dan larutan piperasin sitrat, dengan beberapa kadar kelipatan tetap dalam almari pengering Memmert dengan suhu $42^{\circ}C$. Dipantau % kematian cacing dalam sediaan yang diuji dan larutan pembanding dengan kadar berefek 0%-100%. Uji dilakukan dalam waktu 20 jam.

Jumlah perlakuan $(n) = 10$.

Jumlah pengulangan $(r) = 5$.

Pengukuran kematian cacing secara mekanik.

2).Penentuan potensi relatif sediaan terhadap piperasin sitrat. Potensi relatif sediaan terhadap piperasin sitrat ditentukan menurut rumus:

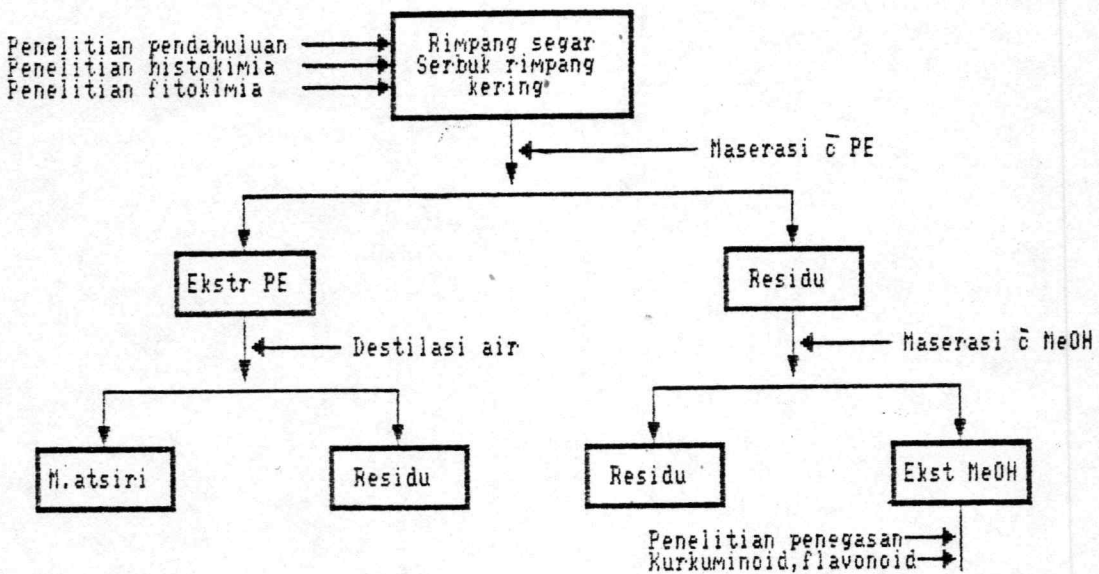
$$\frac{LD.50 \text{ piperasin sitrat}}{LD.50 \text{ sediaan}} \times 100\%$$

Keterangan:

Dalam Uji daya antelmintik *in vitro* perasan rimpang, dilakukan perbandingan dengan daya antelmintik rimpang *Curcuma aeruginosa* dan *Zingiber officinale* untuk pemantapan dan menambah informasi.

B. Tahap Penelitian Fitokimia Rimpang dan Penyediaan Bahan Penelitian

1. Bagan tahap penelitian



Gambar III.B. Bagan Tahap Penelitian B

2. Bahan.

- a. Rimpang segar (lihat BAB.III.A.2.b1).
- b. Rimpang kering (lihat BAB.III.A.2.b2).

3. Alat.

- a. Alat destilasi Stahl. Labu 1000 ml.

b. Alat maserasi, perkolasi dan pengkocok otomatis.

c. Piknometer ukuran 10 ml.

d. Refraktometer Atago IT.43208

e. Polarimeter Atago-Polax.D.

d. 1). Kromatografi gas Shimadzu.

Jenis kolom : FFAP.
Ukuran kolom : 85 m x 0.5 mm.
Suhu kolom : 65° sampai 225° C.
Kenaikan 3° C per menit.
Volume injeksi : 0,1 ul.
Jarak : 2 x 10³.
Alir kertas : 1 cm per menit.

2). Kromatografi gas Hitachi 163-50.

Jenis kolom : 3% OV-17. 3 m.
Detektor : FID.
Suhu injektor : 270°C.
Suhu kolom : 90°-250°C. Kenaikan 7,5°C/menit.
Volume injeksi : 1ul.
H₂ : 0,9 kg/cm². O₂ : 1,8 kg/cm².
Gas pembawa : N₂ 30 ml/menit.
Jarak : 10³. Kepekaan : 256.
Alir kertas : 10 mm/menit.

f. Spektrometer Massa: Keratos MS I

g. Perangkat KLT Desaga.

4. Metoda.

a. Penelitian pendahuluan.

1). Metoda organoleptik. Dilakukan penelitian secara organoleptik terhadap rimpang segar dan serbuk kering rimpang *Zingiber purpureum* untuk identifikasi bentuk, warna, bau dan rasa.

2). Metoda histokimia. Dilakukan penelitian secara mikroskopi terhadap irisan rimpang segar dan serbuk rimpang dalam air dan kloralhidrat untuk pengarahannya penun-

jukan adanya tanin, minyak atsiri secara teknik mikro. Digunakan larutan reagen pewarna dan pengendap.

3).Metoda fitokimia. Dilakukan uji fitokimia pendahuluan penunjukan alkaloid, antranoid, glikosida, saponin, tanin dan senyawa polifenol menurut metoda Marini, *et al* (1981).

b. Penelitian penegasan.

Dilakukan uji fitokimia penegasan terhadap penunjukan golongan senyawa yang diperkirakan ada menurut hasil uji pendahuluan; uji dilakukan menurut metoda Farnsworth (1966). Uji golongan senyawa dilakukan terhadap ekstrak PE untuk penunjukan minyak atsiri, sedang terhadap ekstrak MeOH dari residu serbuk terutama untuk penunjukan alkaloid, glikosid, flavonoid (Mabry,*et al* 1975), saponin dan tanin.

c. Penyediaan ekstrak PE

Diperoleh dengan cara maserasi serbuk rimpang kering dengan PE (40° - 60° C).

Cara : Sembilan kg serbuk kering rimpang *Zingiber purpureum* setiap kali digunakan 3 kg, dimaserasi berturut-turut dengan 5, 3, 3 dan 3 L PE (40° - 60° C). Maserasi dilakukan selama 3 hari; pengkocokan dengan pengkocok otomatis; maserat disaring dengan filter Buchner dan dikumpulkan jadi satu. Diperoleh ekstrak PE dan residu. Ekstrak PE dipisahkan pada suhu dan tekanan rendah dalam rotavapor; residu berupa serbuk dikeringkan.

d. Penyediaan ekstrak MeOH.

Ekstrak metanol diperoleh dengan maserasi dan perkolasi serbuk residu kering (BAB.III.B.4c) dengan MeOH 80%.

Cara : Tiga ratus g residu kering (BAB.III.B.4c) dimaserasi dengan MeOH 80%, 500 ml, dilanjutkan dengan perkolasi dengan MeOH 80% sampai tuntas. Dipantau warna tetes perkolat dan dikembangkan dengan KLT.

Volume perkolat diukur, dipekatkan dengan rotavapor dan ditimbang beratnya.

e. Penyediaan minyak atsiri.

Diperoleh dari destilasi air ekstrak PE menurut metoda FI ed III (1979).

Cara : Seratus g ekstrak PE ditambah dengan 500 ml air suling, didestilasi selama 3 jam dihitung setelah air mendidih. Destilat ditampung, dipisahkan dari fasa air, dikumpulkan, dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrida. Residu dicuci dengan PE, dikeringkan.

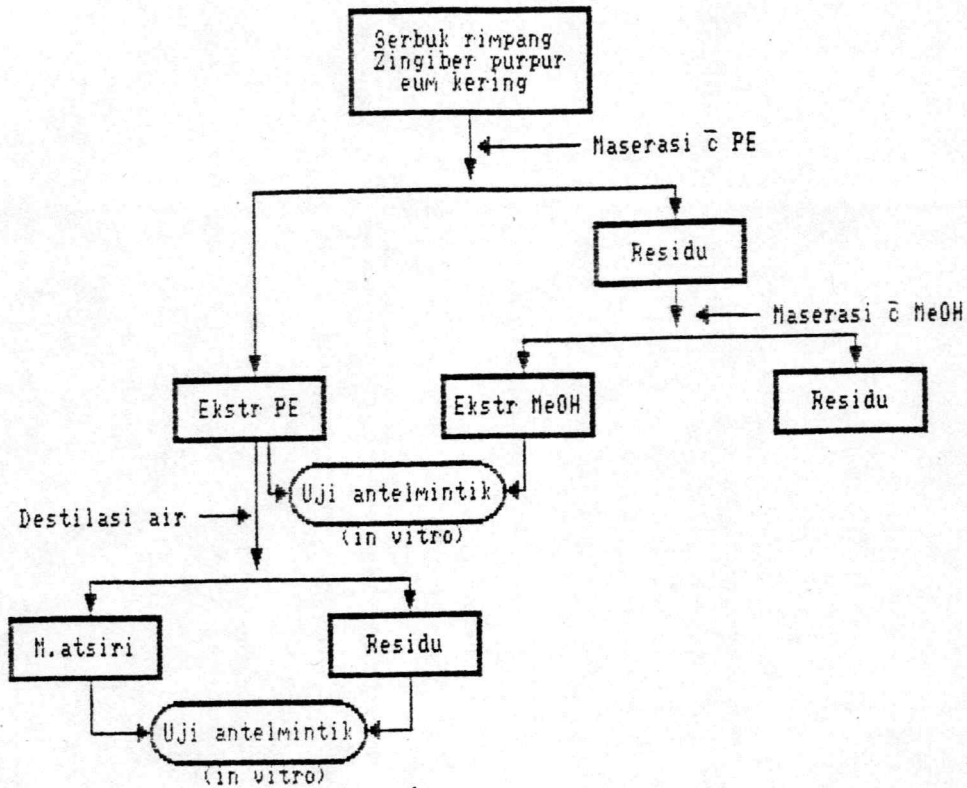
f. Identifikasi.

1).Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri dilakukan dengan menentukan beberapa tetapan alami (indeks bias, bobot jenis dan pemutaran bidang polarisasi) menurut metoda FI ed III (1979).

2).Identifikasi komponen minyak atsiri. Dilakukan dengan metoda KGC dan MS.

C. Tahap Uji Daya Antelmintik Ekstrak, Minyak atsiri dan Residu

1. Bagan Tahap Penelitian



Gambar III.C. Bagan Tahap Penelitian C

2. Bahan.

- Ekstrak PE (lihat BAB.III.B.4c).
- Ekstrak MeOH (lihat BAB.III.B.4d).
- Minyak atsiri (lihat BAB.III.B.4e).
- Residu (lihat BAB.III.B.4c).
- Serbuk Gom Arab DAB 7 (E.Merck.4282), Tragakan (teknik) dan Polisorbat 80 (E.Merck.822187).

3. Alat.

- Perangkat Uji daya antelmintik *in vitro*.

b. Pengukur kekentalan Brookfield LTVD A02299 Digital.

4. Metoda.

a. Uji emulgator.

Untuk memilih emulgator yang diperlukan, dilakukan uji ketahanan hidup cacing dalam emulsi emulgator bersangkuatan dalam kadar tertentu. Digunakan metoda rendaman. Larutan emulgator dengan daya mematikan terlemah digunakan sebagai emulsi dalam penelitian.

Cara : Cacing direndam dalam 50 ml emulsi gom arab 100, 200, 400 dan 800 mg % b/v, tragakan 100 mg% b/v dan polisorbat 700 mg% b/v dalam larutan glukosa salin 5%. Dipantau setiap jam terhadap jam mulai terdapat kematian cacing; dilakukan pada suhu 42°C.

Jumlah perlakuan (n) = 10.

Jumlah pengulangan (r) = 3.

Pengukuran kematian cacing secara mekanik.

b. Penentuan % emulgator dalam emulsi.

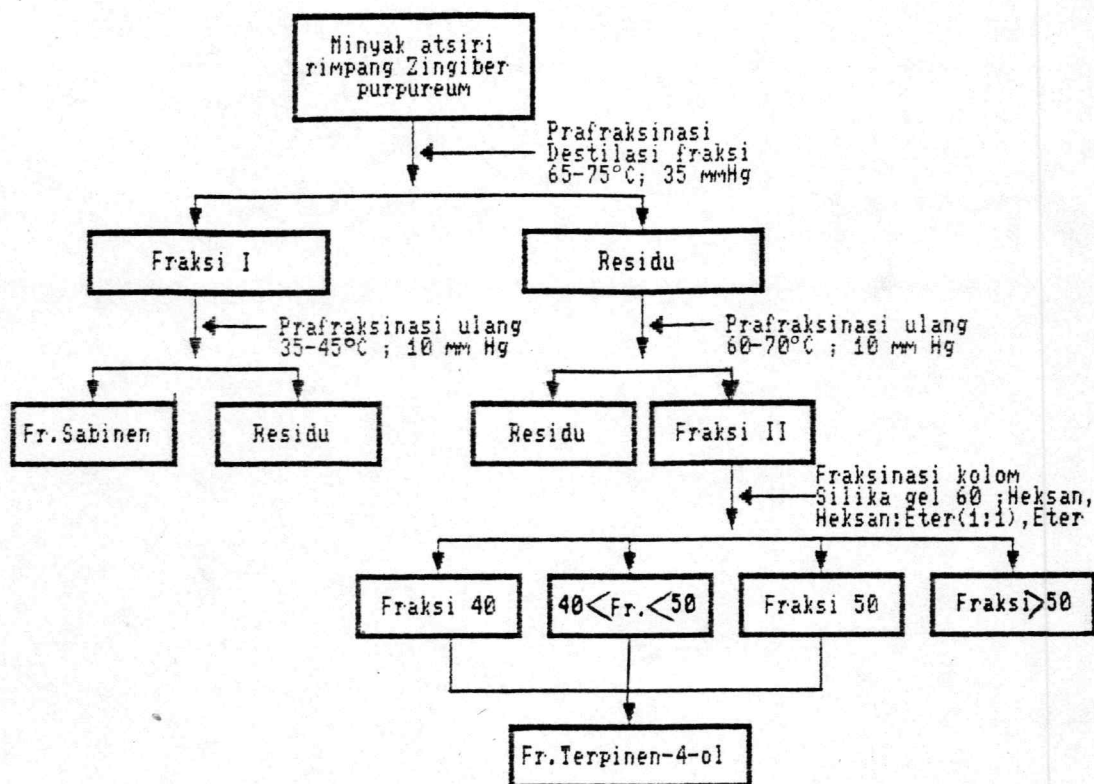
Ditentukan % emulgator dalam emulsi dengan angka kekentalan kurang lebih sama dengan angka kekentalan media. Pengukuran dilakukan dengan pengukur kekentalan Brookfield LTVD A02299 Digital, dengan pembanding larutan glukosa salin 5%.

c. Uji antelmintik *in vitro*.

Digunakan metoda uji *in vitro* (lihat BAB.III.A.4b).

D. Tahap Fraksinasi Minyak Atsiri

1. Bagan Tahap Penelitian



Gambar III.D. Bagan Tahap Penelitian D

2. Bahan.

Minyak atsiri (lihat BAB.III.B.4e).

3. Alat.

- Perangkat destilasi semi mikro (Dengan kolom fraksi Vigreux dan 4 labu isi 20 ml yang berputar, penangas minyak dan pompa vakum Mc. Loyd).
- Perangkat Kromatografi Kolom (Kolom kaca panjang 1500 mm, d.d. 20 mm dan MRK rotary fractionizer).
- Rotary evaporator tipe VV 1, Heidolph. MRK.
- KG Hitachi 163-50 dan KG-MS JEOL JMS DX303.
- Spektrometer IR (Perkin Elmer 597).

4. Metoda.

a. Prafraksinasi.

Prafraksinasi minyak atsiri dilakukan dengan metoda destilasi fraksi semi mikro dengan pengurangan tekanan.

Cara : Empat puluh ml minyak atsiri didestilasi dengan menggunakan kolom fraksi *Vigreux*, pemanasan dengan perlahan dilakukan diatas penangas minyak, pengurangan tekanan diatur pada 10 dan 35 mm Hg. Destilat yang keluar pada jarak suhu destilasi tertentu dikumpulkan. Catat jarak suhu dan ukur volume destilat yang keluar pada jarak suhu tersebut. Terhadap kelompok fraksi dilakukan analisis KGC. Jika perlu dilakukan prafraksinasi ulang.

b. Fraksinasi kolom.

Fraksinasi kolom terhadap hasil prefraksinasi dilakukan dengan tujuan pemisahan golongan hidrokarbon dan golongan senyawa teroksigenasi.

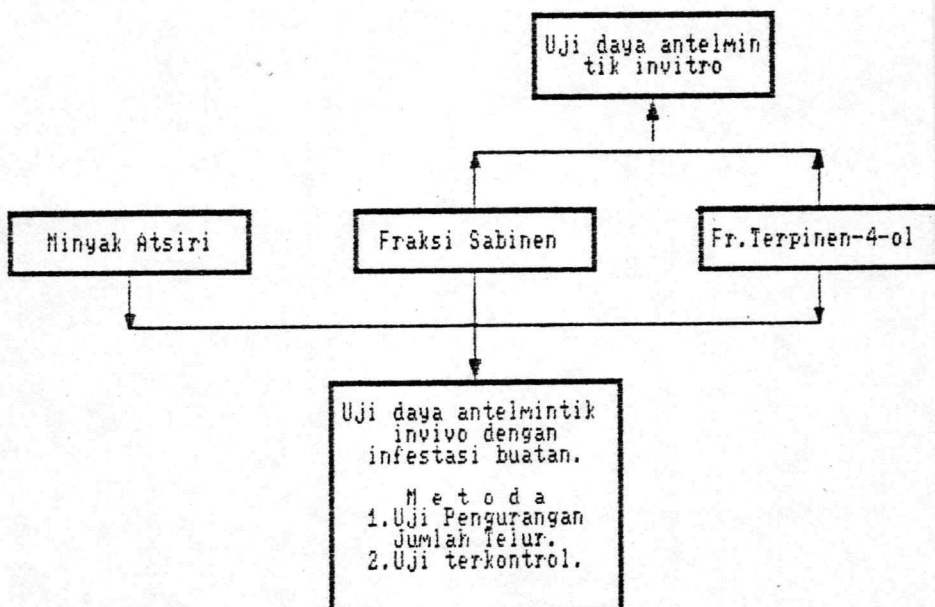
Fraksinasi kolom dilakukan menurut metoda Ikan (1969) dimodifikasi atas dasar hasil penelitian peneliti Koedam (1977), Scheffer (1976a) dan Scheffer, *et al* (1976b).

Fraksinasi menggunakan kolom gelas panjang 1500 mm dengan diameter dalam 20 mm, adsorben silika gel 60 untuk KK E. Merck, dengan ukuran butir 70 - 230 mesh ASTM. Sebelum digunakan silika gel dinetralkan dengan cara mencuci berturut-turut dengan HCl, air suling, amonia dan dicuci kembali dengan air suling hingga netral dan dipanaskan selama 1 jam pada 100^o C. Digunakan alat penampung fraksi MRK *fractionizer* dengan volume fraksi 20 ml.

Cara : Sepuluh g fraksi minyak atsiri dipisah melalui kolom silika dengan eluen heksana. Kecepatan tetesan diatur 20-30 tetesan per menit. Ditampung dalam fraksi a 20 ml. Setelah fraksi terelusi sampai kurang lebih setengah kolom, eluen diganti campuran heksana:Et₂O(1:1), sampai pita berada dibagian bawah dari kolom. Eluen segera diganti dengan Et₂O, sampai seluruh pita terelusi dari kolom. Fraksi dianalisis dengan metoda KLT, dikumpulkan yang sama, dianalisis dengan KGC. Fraksi dengan kromatogram sama dicampur, diuapkan pelarutnya dalam rotavaor pada suhu rendah, disimpan untuk uji analisis KGC dan uji antelmintik *in vitro* dan *in vivo*. Diperoleh fraksi sabinen dan terpinen-4-ol.

E. Tahap Uji Daya Antelmintik Fraksi Minyak Atsiri

1. Bagan Tahap Penelitian



Gambar III.E. Bagan Tahap Penelitian E

2. Bahan.

- a. Minyak atsiri (lihat BAB.III.B.4e).
- b. Fraksi sabinen (lihat BAB.III.D.4b).
- c. Fraksi terpinen-4-ol (lihat BAB.III.D.4b).
- d. Anak ayam pedaging (DOC) AS 101.

e. Telur infeksi. Diperoleh dengan tahap berikut:

1). Pengumpulan telur cacing. Telur cacing *Ascaridia galli* dikumpulkan dari cacing betina dewasa yang telah diketahui kebenarannya zoologinya.

Cara : Kurang lebih 75 ekor cacing betina dewasa, dipotong dibagian anterior, keluarkan semua isi cacing dan dibuang kulitnya. Kumpulkan telur dari uterus. Telur dengan fertilitas tinggi terdapat terutama pada bagian uterus proksimal ke vagina (Hansen, et al, 1954).

2). Pengadaan telur infeksi. Pembuatan telur infeksi dilakukan menurut metoda Fairbairn (1957).

Cara : Telur yang telah dikumpulkan, dicuci dengan air suling, dimasukkan dalam labu berisi 75 ml larutan NaOH 0.5 N, diaduk hati-hati dengan pengocok otomatis selama 15 menit. Suspensi telur dipusingkan, dan supernatan dibuang. Tambahkan 75 ml larutan NaOH 0.5 N pada endapan, dilakukan pengadukan hati-hati selama 15 menit, dipusingkan dan sekali lagi supernatan dibuang.

Penambahan larutan NaOH 0.5 N dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah supernatan terakhir dibuang, dilakukan pencucian dengan 75 ml air suling 2 kali berturut-turut.

Tambahkan pada endapan telur, air suling 10 ml dan 1ml H_2SO_4 0.1 N untuk setiap gram endapan. Hubungkan labu dengan pompa udara untuk memberikan O_2 udara. Biarkan erasi berlangsung selama waktu inkubasi (2-3 minggu), diatur keluarnya O_2 sedemikian sehingga tidak merusakkan telur. Pemantauan mikroskopik pertumbuhan larva dalam telur dilakukan. Telur infeksi yang disimpan dalam almari es selama 2 minggu masih dapat digunakan untuk menginfeksi anak ayam.

3. Alat.

- a. Perangkat Uji daya antelmintik *in vitro*.
- b. Perangkat penghitung EPG menurut Kato.
- c. Kandang ayam sistim baterai.
- d. Pompa erasi.

4. Metoda.

Uji daya antelmintik dilakukan dengan metoda *in vitro* dan *in vivo*.

a. Uji daya antelmintik *in vitro*.

Terhadap Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol dilakukan uji daya antelmintik *in vitro* (lihat BAB.III.A.4b).

b. Uji daya antelmintik *in vivo*.

Terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol dilakukan uji antelmintik *in vivo* dengan infestasi buatan, menggunakan metoda Pengurangan jumlah telur dan Uji Terkontrol.

1). Penginfeksi-an anak ayam.

Penginfeksi-an dilakukan per oral dengan pipet yang telah ditara (diketahui jumlah telur infeksi per tetes suspensi).

Cara : Anak ayam (DOC) jenis pedaging AS 101 umur satu minggu, belum memperoleh vaksinasi apapun, diinfeksi dengan telur infeksi sebanyak kurang lebih 250 butir telur dengan pipet. Tambah beberapa ml air suling untuk menyempurnakan pemasukan telur.

Pelihara anak ayam dengan pemberian ransum untuk penelitian, selama 6 - 8 minggu, dikandang sistim baterai.

2). Uji daya antelmintik *in vivo* metoda Penurunan Jumlah Telur.

Dilakukan terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol.

Cara : Delapan puluh delapan ekor ayam terinfeksi, dikelompokkan menjadi 8 kelompok terdiri 11 ayam secara acak. Setelah terdapat jumlah telur mantap dalam tinja pada minggu ke 6, dilakukan pengobatan.

Masing-masing kelompok diobati dengan minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis 100 mg dan 300 mg per ekor; obat dalam bentuk emulsi dengan volume 5ml diberikan per oral. Sebagai kontrol negatif digunakan 5 ml larutan glukosa saline 5%, dan kontrol positif piperasin sitrat 100 mg per ekor.

Penghitungan EPG dilakukan pada hari ke 1 pra dan hari ke 1 dan ke 3 pasca pengobatan dengan metoda Kato

terhadap cuplikan tinja yang dikumpulkan dalam 1 hari.

3). Uji daya antelmintik *in vivo* cara Uji Terkontrol.

Dilakukan terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol.

Cara : Delapan puluh ekor ayam terinfeksi, dikelompokkan menjadi delapan kelompok terdiri 10 ayam secara acak. Pada hari ke 26 pasca penginfeksi, dilakukan pengobatan. Masing-masing kelompok diobati dengan minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis 300 mg dan 500 mg per ekor; obat dalam bentuk emulsi, volume 5 ml diberikan per oral; satu kelompok digunakan sebagai kelompok kontrol positif diobati dengan piperasin sitrat 100 mg per ekor dan satu kelompok sisa digunakan sebagai kelompok kontrol negatif diobati dengan larutan glukosa saline 5%, 5 ml.

Pada hari ke 3 pasca pengobatan, ayam dibunuh dan dilakukan pemeriksaan pasca mati terhadap jumlah cacing yang terdapat dalam usus tiap ayam masing-masing kelompok. Dihitung prosen cacing yang hidup dan yang mati, dengan membandingkan pada kelompok kontrol negatif.

Keterangan: Umumnya pada penelitian hewani, pemberian obat perlu disesuaikan dengan bobot badan, karena harus diperhatikan toksisitas obat terhadap hewan percobaan. Hal ini tidak perlu dilakukan dalam menentukan efisiensi atau hasil optimum suatu antelmintika (Lamson, 1935).

BAB.IV. HASIL PENELITIAN

A.Hasil Tahap Uji Daya Antelmintik Perasan Rimpang

1. Hasil uji media

Dari data hasil uji media air suling, larutan NaCl 0,9% dan larutan glukosa salin 5% (Lampiran 5), jam mulai terjadi 50% kematian cacing dalam masing-masing media disusun dalam Tabel IV.A.1. dibawah ini.

Tabel IV.A.1.Saat terjadi 50% kematian cacing dalam rendaman media air suling, larutan NaCl 0,9% dan larutan glukosa salin 5%.

Media	Saat terjadi 50% kematian cacing (jam)			
	I	II	III	Rata-rata
Air suling	52	52	54	52,66 ± 0,9
NaCl 0,9%	78	76	78	77,33 ± 0,9
Glukosa salin 5%	84	90	86	86,66 ± 0,9

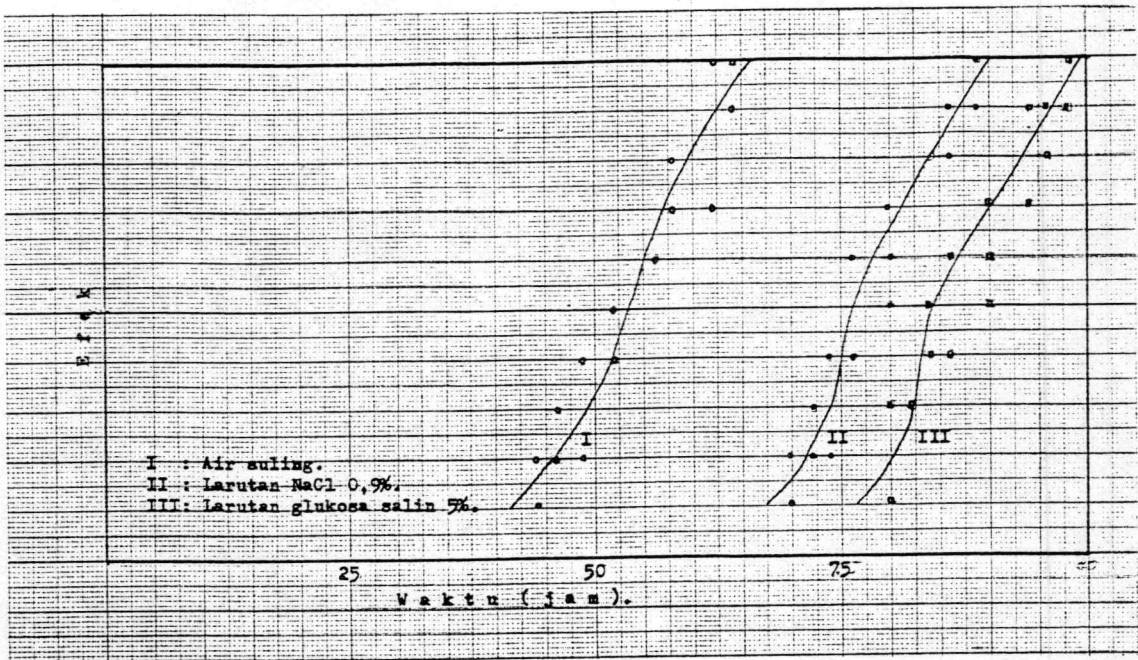
Dari hasil analisis statistik, beda rerata jumlah jam mulai terjadi 50% kematian cacing dalam rendaman ketiga media, bermakna (Tabel IV.A.2).

Tabel IV.A.2. Analisis statistik beda rerata jam mulai terjadi 50% kematian cacing dalam media air suling, larutan NaCl 0,9% dan larutan glukosa salin 5%.

Media yang dibandingkan	Beda Thitung rerata	db	Ttabel
NaCl 0,9% - air suling	24,663	25,140*	3;6 4,34 6,33
Glukosa salin 5%-air suling	33,993	34,850*	
Glukosa salin 5%-NaCl 0,9%	9,330	9,510*	

* : berbeda bermakna (P<0,05). Perhitungan pada Lampiran 6

Dari waktu rendam dan kematian cacing dapat dibuat kurva hubungan waktu rendam-kematian (%) cacing dalam rendaman ketiga media yang diuji (Gambar IV.A.1.).



Gambar IV.A.1. Kurva waktu rendam(jam) - kematian(%) cacing dalam air suling, larutan NaCl 0,9% dan glukosa salin 5%

Dari hasil analisis statistik beda rerata jam terjadi 50% kematian dan kurva waktu rendam(jam)-kematian(%) cacing, menunjukkan kelebihan larutan glukosa salin 5% sebagai media dari kedua larutan yang lain, dan dipilih sebagai media dalam penelitian ini.

2. Hasil penyediaan perasan rimpang

Dari 300 g rimpang segar diperoleh volume, bobot dan bobot jenis perasan rimpang seperti tertera dalam Tabel IV.A.3.

Tabel IV.A.3. Bobot rimpang, volume, bobot jenis dan bobot perasan

Rimpang	Bobot rimpang rata-rata (g)	Vol perasan rata-rata (ml)	B.J. rata-rata	Bobot perasan rata-rata (g)	% rata-rata perasan (b/b)
<i>Curcuma aeruginosa</i>	300 ±0.0	191.0 ±1.35	1.0172 ±1.73	194.200 ±1.49	64.5666 ±0.46
<i>Zingiber officinale</i>	300 ±0,0	178.6 ±0.75	1.0191 ±1.57	182.223 ±0.83	60.6845 ±0.25
<i>Zingiber purpureum</i>	300 ±0,0	174.63 ±0,82	1.0309 ±0.69	180.038 ±0.84	60.0422 ±0.26

3. Hasil uji daya antelmintik *in vitro* perasan rimpang

a. Hasil perhitungan LD50 perasan rimpang dan piperasin sitrat. Hasil perhitungan LD50 perasan rimpang dan piperasin sitrat dapat dilihat dalam Tabel IV.A.4. dibawah ini.

Tabel IV.A.4. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman berbagai kadar perasan rimpang *C.aeruginosa*(PRCA), *Z.officinale*(PRZO), *Z.purpureum*(PRZP), piperasin sitrat(PS), perhitungan pi dan LD50.

Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar PRCA (mg %)						pi	LD50 (mg%)
	60000	30000	15000	7500	3750	1875		
I	10	9	7	5	2	0	3,3	8616,8
II	10	9	8	4	1	0	3,3	8616,8
III	10	9	8	2	1	0	3,0	10608,4
IV	10	8	7	4	2	0	3,1	9898,0
V	10	9	8	2	1	0	3,0	10608,4

Lanjutan Tabel IV.A.4.

Perla kuan	Jumlah cacing mati dalam ber bagai kadar PRZO (mg %)						pi	LD50 (mg%)
	30000	15000	7500	3750	18750	9375		
I	10	9	7	1	1	0	2,8	6092,8
II	10	8	7	4	2	0	2,8	6092,8
III	10	6	5	4	2	0	2,5	7501,0
IV	10	9	5	1	0	0	2,5	7501,0
V	10	8	7	3	1	0	2,8	6092,8
Perla kuan	Jumlah cacing mati dalam ber bagai kadar PRZP (mg %)						pi	LD50 (mg%)
	15000	7500	3750	18750	9375	4687		
I	10	9	7	4	1	0	3,1	2474,5
II	10	8	7	5	2	0	3,1	2474,5
III	10	9	8	4	1	0	3,2	3308,8
IV	10	7	7	4	1	0	3,1	2651,6
V	10	8	8	4	1	0	3,1	2474,5
Perla kuan	Jumlah cacing mati dalam ber bagai kadar larutan PS (mg%)						pi	LD50 (mg%)
	3750	9375	2343,7	585,9	146,4	36,62		
I	10	8	5	3	1	0	2,7	117,5
II	10	8	5	4	1	0	2,8	154,5
III	10	7	6	3	1	0	2,7	177,5
IV	10	6	6	3	2	0	2,7	177,5
V	10	8	6	3	1	0	2,8	154,5

b. Hasil perhitungan potensi relatif perasan rimpang terhadap piperasin sitrat. Hasil perhitungan potensi relatif perasan rimpang terhadap piperasin sitrat, dapat dilihat pada Tabel IV.A.5., yang merupakan hasil perhitungan dari data yang tertera dalam tabel Lampiran 8. Dari tabel dapat dilihat bahwa potensi relatif perasan rimpang *Z. purpureum* tertinggi dibanding dengan potensi relatif dua perasan rimpang yang lain.

Tabel IV.A.5. Potensi relatif perasan rimpang *C.aeruginosa* (PRCA), *Z.officinale*(PRZO) dan *Z.purpureum*(PRZP) terhadap piperasin sitrat

Potensi relatif		
PRCA (%)	PRZO (%)	PRZP (%)
2,0599	2,9132	7,1731
1,7933	2,5361	6,2447
1,6732	2,3663	5,7480
1,7932	2,3663	6,6028
1,4566	2,5361	6,1447
1,7372	2,5436	6.4207
$\pm 0,2187$	$\pm 0,2234$	$\pm 0,5373$

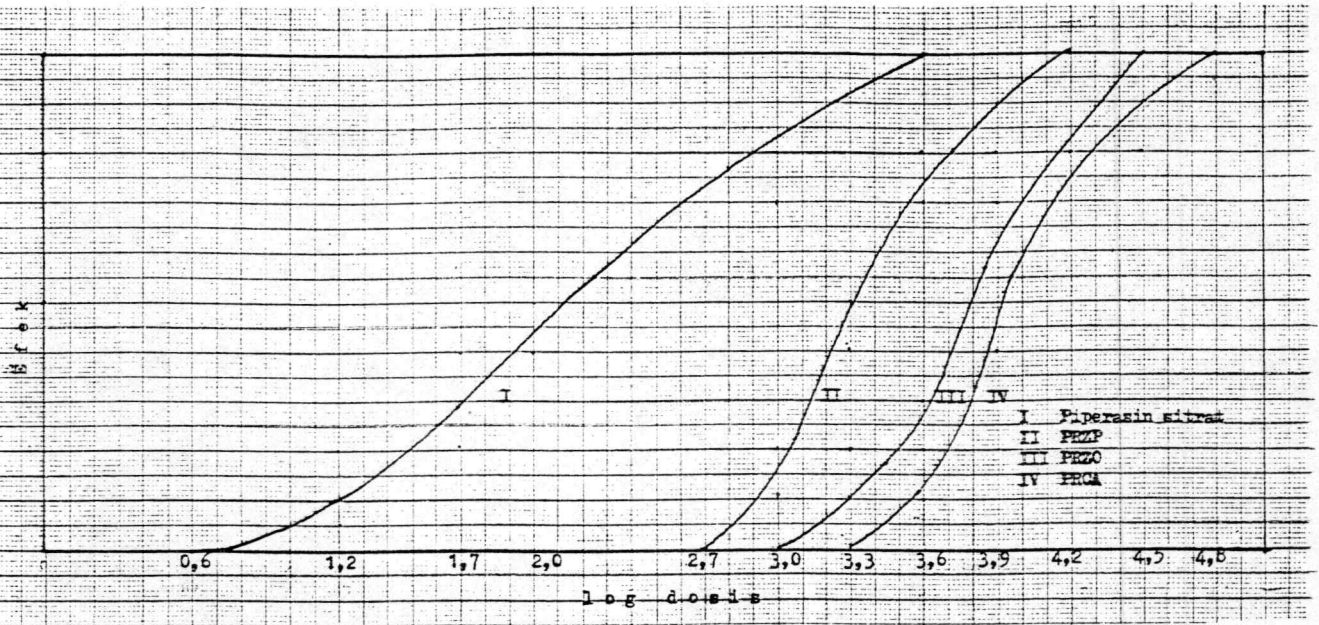
Hasil analisis statistik beda rerata potensi relatif ketiga perasan rimpang disajikan dalam Tabel IV.A.6.

Tabel IV.A.6. Analisis statistik beda antar dua rerata potensi relatif perasan rimpang *C.aeruginosa*(PRCA), *Z.officinale*(PRZO), *Z.purpureum*(PRZP) dengan uji Tukey

PR yang dibandingkan	Beda rerata	T hitung	db	T tabel	
				0,05	0,01
PRZO - PRCA	0,8064	5,04*	3;12	3,77	5,04
PRZP - PRCA	4,6834	29,27*			
PRZP - PRZO	3,8771	24,23*			

* Berbeda bermakna ($P < 0,05$). Perhitungan dalam Lampiran 8

Kurva log dosis - kematian (%) cacing direndam dalam perasan ketiga rimpang dapat dilihat pada Gambar IV.A.2. yang menggambarkan hubungan log dosis masing-masing perasan rimpang dengan % kematian cacing yang direndam didalamnya.



Gambar IV.A.2. Kurva log dosis - kematian(%) cacing dalam rendaman beberapa kadar perasan rimpang *C.aeruginosa*, *Z. officinale* dan *Z.purpureum*

Terlihat dari hasil diatas, yang disajikan baik dalam Tabel IV.A.4, Tabel IV.A.5. dan Tabel IV.A.6. maupun yang terlihat pada Gambar IV.A.2., bahwa perasan rimpang *Z. purpureum* adalah yang terkuat aktivitas mematikan cacing *Ascaridia galli* secara *in vitro* dibanding kedua perasan rimpang lainnya.

B. Hasil Tahap Penelitian Fitokimia dan Penyediaan Bahan Penelitian

1. Hasil penelitian fitokimia

a. Hasil penelitian pendahuluan

1). Hasil penelitian organoleptik. Irisan rimpang *Zingiber purpureum* berwarna kuning tua sampai kuning kecoklatan. Bau aromatik menandai, rasa agak pahit. Serbuk rimpang *Zingiber purpureum*, berwarna kuning kecoklatan, bau aromatik menandai, rasa agak pahit.

2). Hasil penelitian histokimia. Pada irisan melintang rimpang segar terlihat daerah stele merupakan silinder pusat, tersusun dari sel-sel parenkim sebagai jaringan dasar, diantaranya terdapat banyak ruang antar sel, kadang terlihat sel minyak. Endodermis terdiri sel agak memanjang. Di dalam dan di luar endodermis terlihat berkas pengangkut tersebar. Di bagian kortek terdapat banyak sel berisi minyak dan damar berwarna kuning coklat muda. Dibeberapa sel terdapat amilum. Epidermis terdiri dari sel memanjang. Irisan ditambah Sudan III, butir-butir minyak berwarna merah muda. Penambahan larutan besi(III) klorida pada beberapa sel terjadi warna abu-abu ungu muda.

Hasil mikroskopi serbuk rimpang *Zingiber purpureum*, terlihat butir-butir amilum, sel-sel minyak, sel serabut. Butir-butir amilum bulat dengan tonjolan. Ruang sekreto-

ris bentuk tidak teratur, warna kuning, sedang sel sekretoris bentuk bulat, warna kemerahan. Dengan Sudan III, butir-butir minyak berwarna merah muda. Sedang penambahan larutan besi(III) klorida pada beberapa sel terjadi perubahan warna menjadi abu-abu ungu muda.

3). Hasil penelitian fitokimia. Dari data uji fitokimia pada penelitian pendahuluan (Lampiran 9) dapat disusun hasil penelitian pendahuluan (Tabel IV.B.1).

Tabel IV.B.1. Hasil penelitian pendahuluan serbuk rimpang *Zingiber purpureum*

U j i	I n d i k a s i
Terhadap ekstrak air	<ol style="list-style-type: none"> 1. Terdapat senyawa dengan gugus kromofor, yang larut dalam air. (liofil). Kurkuminoid, kinoid, antranoid, flavonoid ? 2. Tidak terdapat asam dan atau garam asam. 3. Tanin, jika terdapat sedikit. Terdapat senyawa polifenol. 4. Terdapat protein /atau lendir. 5. Terdapat senyawa mereduksi. 6. Alkaloid meragukan. 7. Saponin meragukan.
Terhadap ekstrak metanol	<ol style="list-style-type: none"> 8. Terdapat senyawa dengan gugus kromofor, yang larut dalam metanol(lopofil). Karotenoid?

b. Hasil penelitian penegasan

Dari hasil uji fitokimia penegasan (Lampiran 10), terhadap golongan senyawa yang diperkirakan ada menurut hasil penelitian pendahuluan dan hasil analisis KLT(Lampiran 10, 11, 12, 13 dan 14) dapat disusun hasil penelitian penegasan seperti tertera dalam Tabel IV.B.2.

Tabel IV.B.2. Hasil penelitian penegasan serbuk rimpang *Zingiber purpureum*

Uji yang dilakukan	H a s i l
Uji alkaloid	- (negatif)
Uji flavonoid	+ (positif)
Uji tanin	± (meragukan)
Uji polifenol	+ (positif)
Uji antrakinon	- (negatif)
Uji glikosida	- (negatif)
Uji saponin	- (negatif)
Uji minyak atsiri	+ (positif)

2. Hasil penyediaan bahan penelitian

a. Hasil penyediaan ekstrak PE

Dari 9,000 kg serbuk kering rimpang *Zingiber purpureum* dengan cara maserasi diperoleh 37.250,000 ml maserat (ekstrak PE) dan 8.430 g residu berupa serbuk kering. Setelah ekstrak PE dikentalkan dalam rotavapor dengan pengurangan tekanan dan suhu 0^o-5^oC, diperoleh 377,420 g ekstrak PE kental dan (Tabel IV.B.3.).

Tabel IV.B.3. Hasil maserasi serbuk rimpang *Zingiber purpureum* dengan PE (40^o - 60^oC)

Maserasi	Bobot serbuk (g)	Volume maserat (ml)	Bobot ekstrak PE (g)	Bobot residu (g)
I	3000,0	11490,0	125,470	2860,0
II	3000,0	12400,0	140,500	2820,0
III	3000,0	13360,0	111,450	2750,0
Jumlah	9000,0	37.250,0	377,420	8430,0

b. Hasil penyediaan ekstrak MeOH

Dari 8430,0 g residu kering (Tabel IV.B.3.), ditimbang 300,0 g, dimaserasi dan diperkolasi dengan menggunakan 750 ml MeOH, diperoleh ekstrak MeOH yang setelah dipisahkan diperoleh 32,500 g ekstrak MeOH pekat seperti tertera dalam Tabel IV.B.4.

Tabel IV.B.4. Hasil ekstrak MeOH pekat dari maserasi dan perkolasi residu kering dengan MeOH

Bobot residu kering (g)	Vol menstrum (ml)	Bobot ekstrak pekat MeOH (g)
300	750	32,500

c. Hasil penyediaan minyak atsiri

Dari 372,420 g ekstrak PE kental, dengan cara destilasi air, dihasilkan 184,780 g minyak atsiri kering dan 67,535 g residu berupa substansi semi padat warna kuning keputihan (Tabel IV.B.5.). Sisa 5,000 g ekstrak PE digunakan uji daya antelmintik *in vitro*.

Tabel IV.B.5. Hasil isolasi minyak atsiri dari ekstrak PE menurut metoda destilasi FI ed III (1979)

Bobot ekstrak PE (g)	Bobot minyak atsiri kering (g)	Bobot residu bersih (g)
100,000	45,790	15,850
100,000	51,310	22,480
100,000	57,210	18,755
72,420	30,470	10,450
372,420	184,780	67,535

1).Hasil identifikasi minyak atsiri *Zingiber purpureum*.

Hasil identifikasi organoleptik dan penentuan beberapa tetapan alami minyak atsiri hasil isolasi, menurut metoda FI ed III (1979) dapat dilihat di Tabel IV.B.6.

Tabel IV.B.6. Hasil identifikasi organoleptik dan beberapa tetapan alami minyak atsiri rimpang *Zingiber purpureum* hasil penelitian

Pemerian	: Minyak jernih. Berwarna kekuningan. Bau aromatik menandai. Rasa sedikit pahit.
Bobot jenis	: 0,8708 (25 ^o C).
Indek bias	: 1.48826 (28,3 ^o C).
Rotasi optik	: - 35,00 ^o .

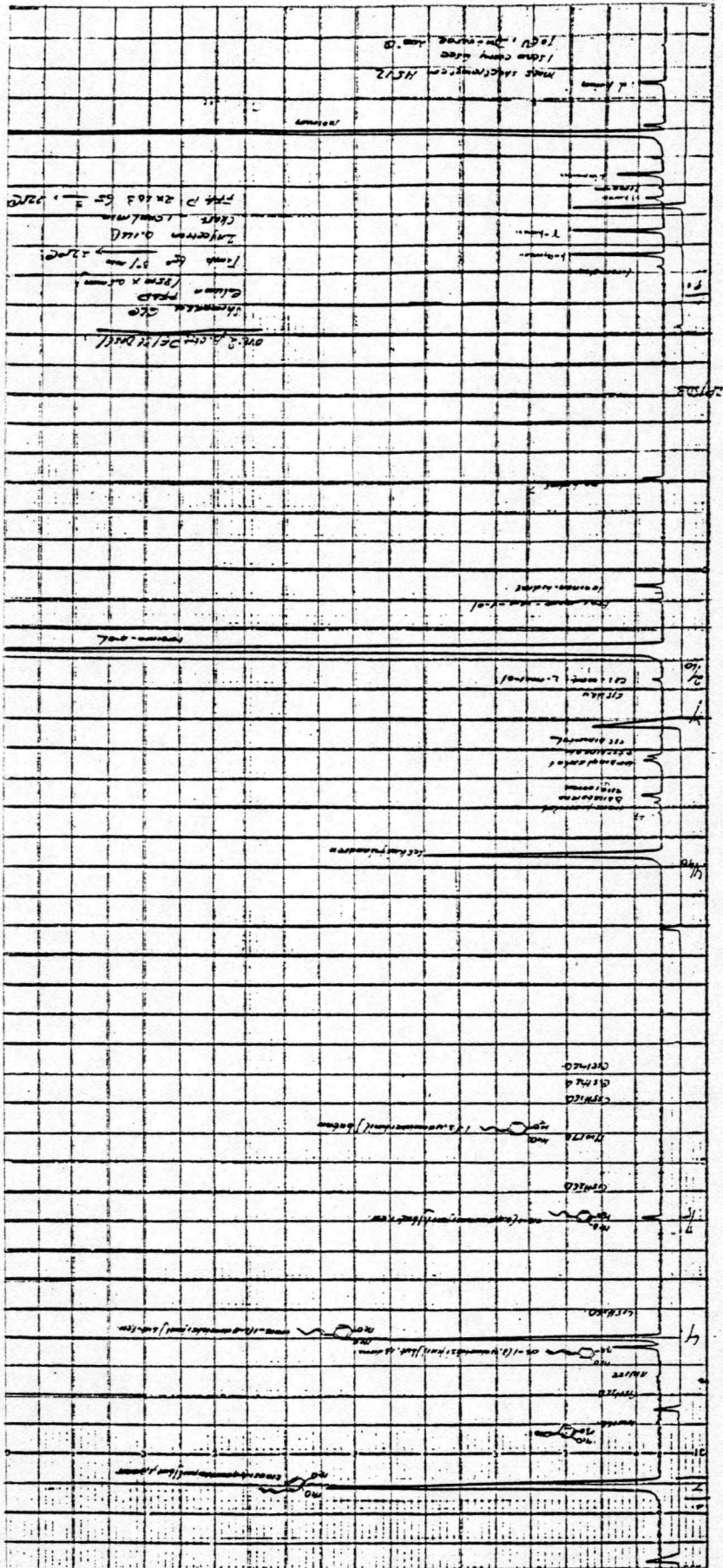
2).Hasil identifikasi komponen minyak atsiri *Zingiber purpureum* Roxb

Dari hasil analisis minyak atsiri dengan kolom kapiler FFAP, 85 m x 0,5 mm, ditemukan kurang lebih 42 komponen, diantaranya sabinen (21,26%) dan terpinen-4-ol(37,70%). Juga dilakukan analisis KGC dengan kolom OV-17, 3 m. Susunan dan kadar komponen hasil pemisahan dengan kolom FFAP kapiler 85 m disajikan dalam Tabel IV.B.7. sedang kromatogram minyak atsiri rimpang bersangkutan dapat dilihat pada Gambar IV.B.1. Sedang pemisahan komponen minyak atsiri yang sama melalui KGC dengan kolom OV-17, panjang 3 m, FID, Hitachi menghasilkan kurang lebih 26 puncak, dengan puncak-puncak utama yang sesuai dengan hasil pemisahan dengan kolom FFAP di atas. Kromatogram bersangkutan tertera pada Gambar IV.B.2

sedang tabel Rt dan kadar komponen hasil analisis disajikan dalam tabel pada Lampiran 17.

Tabel IV.B.7. Komponen minyak atsiri *Zingiber purpureum* hasil analisis KGC Shimadzu, kolom kapiler FFAP 85m X 0,5mm, FID, kenaikan suhu 3°C tiap menit, 65-250°C

Senyawa	%
1. alfa-pinen	0.45
2. beta-pinen	0.44
3. sabinen	21.26
4. mirsen	0.92
5. alfa-terpinen	0.02
6. limonen	0.10
7. beta-felandren	0.42
8. gamma terpinen	1.58
9. para-simen	1.57
10. terpinolen	0.60
11. sabinen hidrat	0.61
12. sabinen hidrat	0.45
13. trans-ment-2-en-1-ol	0.28
14. terpinen-4-ol	37.70
15. cis-ment-2-en-1-ol	0.20
16. C ₁₅ H ₂₄	0.01
17. cis-piperitol	0.09
18. alfa-terpineol	0.38
19. terpinil-asetat	0.45
20. zingiberen	0.51
21. beta-bisabolen	0.20
22. trans-piperitol	0.10
23. seskui-felandren	6.70
24. tidak diketahui	0.01
25. tidak diketahui	0.01
26. C ₁₅ H ₂₆ O	0.01
27. C ₁₅ H ₂₆ O	0.01
28. C ₁₅ H ₂₆ O	0.01
29. 1-(3,4-dimetoksifenil)butan	0.04
30. tidak diketahui	0.01
31. tidak diketahui	0.01
32. C ₁₅ H ₂₆ O	0.01
33. cis-1(3,4-dimetoksifenil)but-1-en	0.42
34. tidak diketahui	0.01
35. tidak diketahui	0.01
36. C ₁₅ H ₂₆ O	0.01
37. trans-1(3,4-dimetoksifenil)but-1-en	7.59
38. cis-1(3,4-dimetoksifenil)but-1,3-dien	0.59
39. tidak diketahui	0.01
40. C ₁₅ H ₂₂ O	0.01
41. 3,4-dimetoksibenzaldehida	0.01
42. trans-1(3,4dimetoksifenil)but-1,3-dien	15.11



Gambar IV.B.1. Kromatogram gas minyak rimpang *Zingiber purpureum*, dengan KGC Shimadzu, kolom kapiler FFAP, 85 m x 0,5 mm, FID, 65^o- 250^oC dengan kenaikan suhu 3^oC/menit.

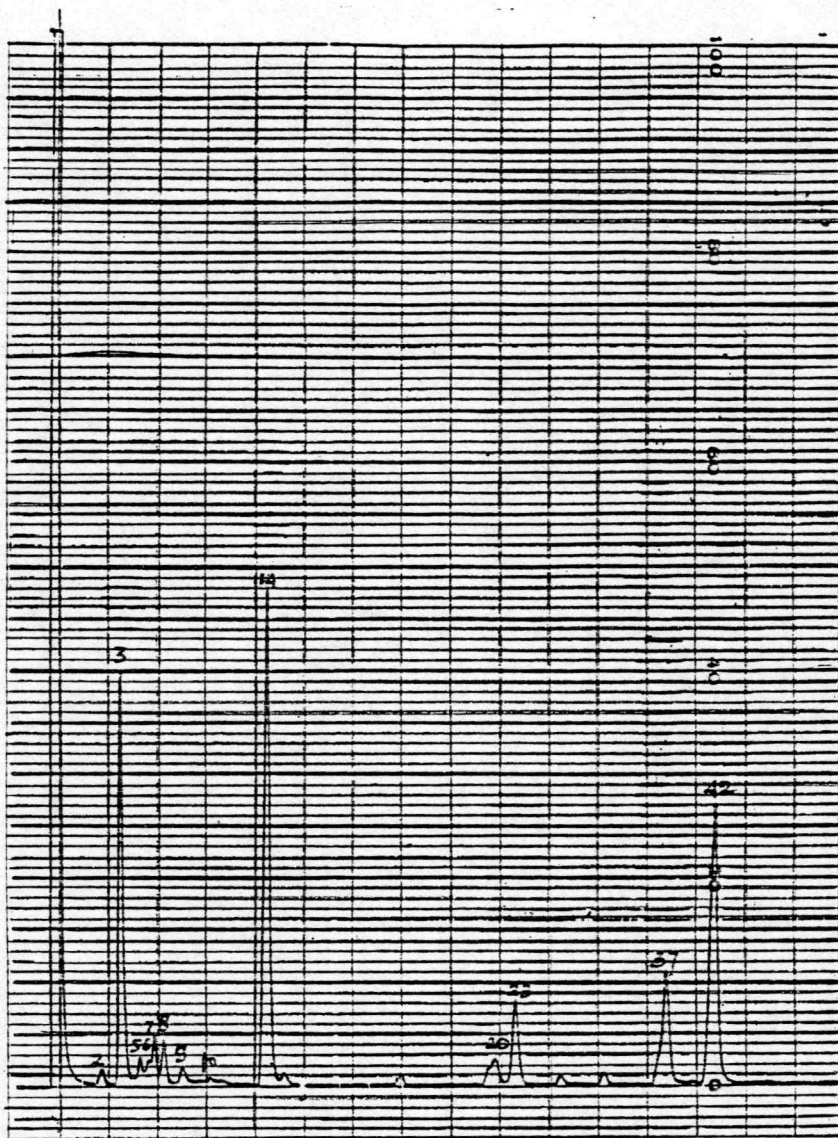
C. Hasil Tahap Uji Daya Antelmintik Ekstrak,
Minyak Atsiri dan Residu

1. Hasil uji emulgator. Data waktu mulai terjadi kematian cacing (jam) dalam rendaman emulsi polisorbat 700 mg% tragakan 100 mg% dan gom arab 100, 200, 400, 800 mg% disajikan dalam Tabel IV.C.1. Ketahanan hidup cacing dalam emulsi gom arab lebih baik dari dua emulsi lain yang dibandingkan. Serbuk gom arab selanjutnya digunakan sebagai emulgator.

Tabel IV.C.1. Hasil uji ketahanan hidup cacing *Ascaridia galli* dalam emulsi serbuk gom arab, tragakan dan polisorbat-80

Macam emulgator	Kadar (mg%)	Kematian cacing							
		I		II		III		IV	
		jam mati ke	-	jam mati ke	-	jam mati ke	-	jam mati ke	-
Polisorbat-80	700	50	-	52	3	50	1	51	1
Tragakan	100	58	-	60	2	59	3	58	1
Gom arab	100	74	-	75	1	76	3	74	2
	200	74	-	76	5	76	1	75	2
	400	73	-	74	3	75	4	76	3
	800	72	-	72	1	74	4	74	7

2. Hasil penentuan % emulgator dalam emulsi. Dilakukan pemeriksaan kekentalan emulsi gom arab dengan kadar 800, 600, 400 dan 200 mg% b/v dalam glukosa salin 5%. Angka kekentalan emulsi gom arab 200 mg% kurang lebih sama dengan angka kekentalan media (Tabel IV.C.2.). Penyediaan



Gambar IV.B.2. Kromatogram gas minyak rimpang *Zingiber purpureum*, KGC Hitachi 163-50, dengan kolom OV-17, 3 m, FID, suhu 95°C - 250°C , dengan kenaikan suhu $7,5^{\circ}\text{C}/\text{menit}$.

emulsi dalam penelitian selanjutnya menggunakan serbuk gom arab 200 mg per 100 ml emulsi.

Tabel IV.C.2. Hasil pemeriksaan kekentalan emulsi serbuk gom arab beberapa kadar, dengan Viscometer Brookfield LTVD A02299

Larutan Gom arab	Pembacaan					Faktor	Keken- talan (cps)	Suhu C	Waktu (menit)
						1		26	1
800 mg%	2.7	2.9	3.0	2.9	3.9		2.9		
600 mg%	2.8	3.2	2.3	2.5	2.7		2.7		
400 mg%	2.3	2.8	2.5	2.2	2.8		2.5		
200 mg%	2.2	2.2	2.3	2.4	2.6		2.3		
Larutan glukosa salin 5%							2.29		

3. Hasil uji daya antelmintik *in vitro* ekstrak

a. Hasil perhitungan LD 50 ekstrak PE, MeOH dan piperasin sitrat, Hasil perhitungan LD50 ekstrak PE, MeOH dan piperasin sitrat disusun dalam Tabel IV.C.3.

Tabel IV.C.3. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman berbagai kadar emuls ekstrak PE(EPE), ekstrak MeOH(EMeOH) dan piperasin sitrat(PS), perhitungan pi dan LD50

Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar emuls EPE (mg%)					pi	LD50 (mg%)
	1600	400	100	25	6,25		
I	10	8	4	1	0	2,3	131,8682
II	10	7	3	3	0	2,3	131,8682
III	10	7	4	3	0	2,4	114,7889
IV	10	6	5	3	0	2,4	114,7889
V	10	6	5	1	0	2,2	151,4956

Lanjutan Tabel IV.C.3.

Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar emuls EMeOH(mg%)					pi	LD50 (mg%)
	6400	1600	400	100	25		
I	10	8	6	4	0	2,8	263,6331
II	10	9	5	3	0	2,7	302,9005
III	10	7	6	4	0	2,7	302,9005
IV	10	8	6	2	0	2,6	347,9365
V	10	9	7	1	0	2,7	302,9005
Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar larutan PS(mg%)					pi	LD50 (mg%)
	6400	1600	400	100	25		
I	10	9	7	5	0	3,1	263,6331
II	10	8	8	4	0	3,0	199,8020
III	10	9	6	3	0	2,8	263,6938
IV	10	9	7	4	0	3,1	173,9322
V	10	9	7	3	0	2,9	229,5628

b. Hasil perhitungan potensi relatif terhadap piperasin sitrat. Hasil perhitungan potensi relatif emuls ekstrak PE dan MeOH terhadap piperasin sitrat tertera pada Tabel IV.C.4 . Perhitungan di Lampiran 18.

Tabel IV.C.4.Potensi relatif ekstrak PE dan ekstrak MeOH terhadap piperasin sitrat

Potensi relatif	
Ekstr.PE (%)	Ekstr.MeOH (%)
199,9216	100,0000
151,5164	65,9625
229,7206	89,0562
151,5235	49,9896
151,5304	75,7879
176,8425	75,7593
+36,24	+19,20

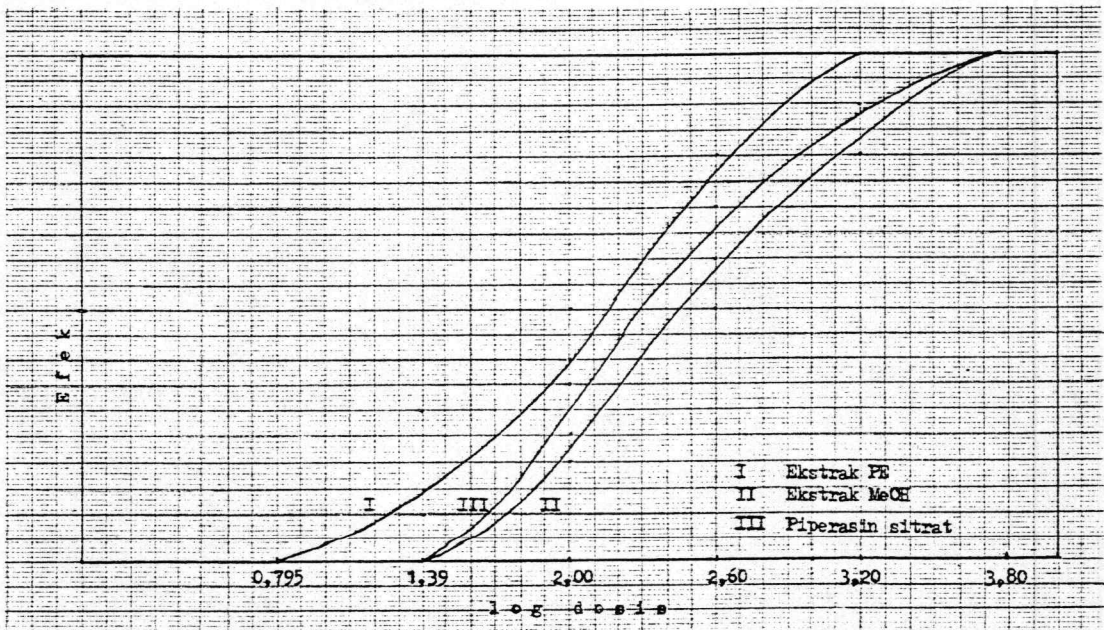
Hasil analisis statistik beda rerata potensi relatif emuls ekstrak PE dan MeOH menggunakan metoda uji T, terdapat pada Tabel IV.C.5.

Tabel IV.C.5. Analisis statistik beda rerata potensi relatif (PR) ekstrak PE (EPE) dan MeOH (EMeOH) dengan uji T

PR yang dibandingkan	Beda rerata	T hitung	db	T tabel	
				0,05	0,01
EPE - EMeOH	101,0832	5,5116*	8	1,860	2,896

*:Berbeda bermakna ($P < 0,05$). Perhitungan lihat Lampiran 18

Dari hubungan dosis emuls ekstrak dan kematian cacing yang terendam di dalamnya dapat dibuat kurva log dosis - kematian (%) cacing, seperti tertera pada Gambar IV.C.1.



Gambar IV.C.1. Kurva log dosis-kematian(%) cacing dalam rendaman emulsi ekstrak PE dan MeOH

Dari perhitungan, hasil analisis statistik beda rerata potensi relatif dan kurva log dosis - kematian(%) cacing dalam rendaman kedua emuls ekstrak PE dan MeOH, dapat diketahui bahwa aktivitas mematikan cacing ekstrak PE lebih kuat dari pada ekstrak MeOH.

4. Hasil uji antelmintik in vitro minyak atsiri dan residu

a. Hasil perhitungan LD50 minyak atsiri, residu dan piperasin sitrat. Hasil perhitungan LD50 minyak atsiri, residu dan piperasin sitrat disusun dalam Tabel IV.C.6.

Tabel IV.C.6. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman berbagai kadar emulsi minyak atsiri (MA), residu (RES), piperasin sitrat(PS), perhitungan pi dan LD50

Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar emuls MA (mg%)					pi	LD50 (mg%)
	1600	400	100	25	6,25		
I	10	8	6	2	0	2,4	114,7889
II	10	7	6	2	0	2,5	99,9309
III	10	8	5	3	0	2,5	99,9309
IV	10	8	6	2	0	2,6	86,9961
V	10	7	5	2	0	2,4	114,7889
Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar emuls RES (mg%)					pi	LD50 (mg%)
	6400	1600	400	100	25		
I	10	8	7	3	0	2,8	263,6331
II	10	9	7	1	0	2,7	302,9005
III	10	7	6	3	0	2,6	345,9365
IV	10	7	6	3	0	2,6	345,9365
V	10	7	7	3	0	2,7	302,9005

Lanjutan Tabel IV.C.6.

Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar larutan PS (mgg%)					pi	LD50 (mg%)
	6400	1600	400	100	25		
I	10	8	9	5	0	3,1	173,7801
II	10	9	7	4	0	3,0	199,8021
III	10	8	7	5	0	3,0	199,8021
IV	10	8	6	4	0	2,8	263,6331
V	10	8	7	6	0	3,1	173,7801

b. Hasil perhitungan potensi relatif minyak atsiri dan residu terhadap piperasin sitrat. Hasil perhitungan potensi relatif minyak atsiri dan residu terhadap piperasin sitrat disajikan dalam Tabel IV.C.7., sedang perhitungannya terdapat pada Lampiran 19.

Tabel IV.C.7. Potensi relatif (PR) residu (RES) dan minyak atsiri (MA) terhadap piperasin sitrat

Potensi relatif	
RES (%)	MA (%)
65,9174	151,3910
65,9629	199,9402
57,4248	199,9402
75,7704	303,0401
57,3720	151,3910
64,4895	201,1405
$\pm 7,6164$	$\pm 51,2350$

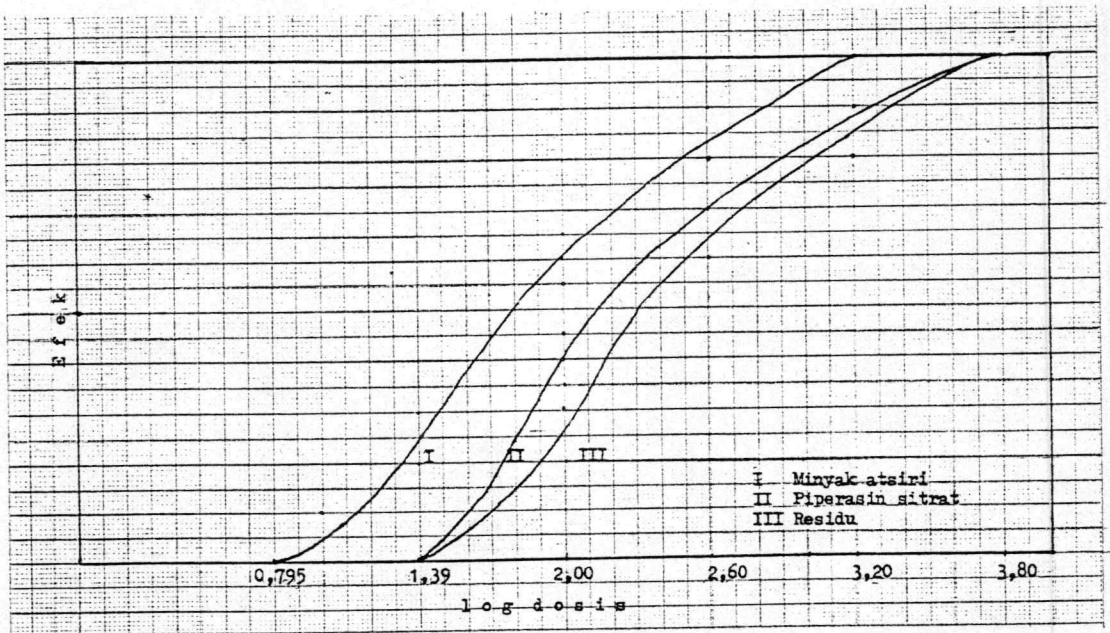
Hasil analisis statistik beda rerata potensi relatif residu dan minyak atsiri secara uji T, disajikan dalam Tabel IV.C.8.

Tabel IV.C.8. Analisis statistik beda rerata potensi relatif (PR) minyak atsiri (MA) dan residu (RES) secara uji t

PR yang dibandingkan	Beda rerata	T hitung	db	T tabel	
				0,05	0,01
MA - RES	136,6510	4,8978*	8	1,860	2,896

*:Berbeda bermakna ($P < 0,05$). Perhitungan lihat Lampiran 19

Kurva log dosis - kematian (%) cacing dalam rendaman emuls minyak atsiri dan residu, terlihat pada Gambar IV.C.2. Dari hasil diatas diketahui bahwa minyak atsiri mempunyai aktivitas mematikan cacing lebih kuat dari emuls residu dan sekaligus dapat dikatakan bahwa minyak atsiri merupakan substansi yang terutama yang terdapat dalam rimpang *Z.purpureum* yang mempunyai aktivitas mematikan cacing *Ascaridia galli* secara *in vitro*.



Gambar IV.C.2. Kurva log dosis-kematian(%) cacing dalam rendaman emulsi minyak atsiri dan residu

Terhadap residu dan Fraksi I dilakukan prafraksinasi ulang dengan tekanan 10 mm Hg; pada prafraksinasi ulang 50 g residu berhasil ditampung destilat pada suhu $\pm 60^{\circ}$ - 70°C sebanyak 33,22 g (Fraksi II) seperti tertera dalam Tabel IV.D.2. berikut ini.

Tabel IV.D.2. Prafraksinasi ulang residu, pada suhu 60° - 70°C dan tekanan 10 mm Hg menghasilkan Fraksi II

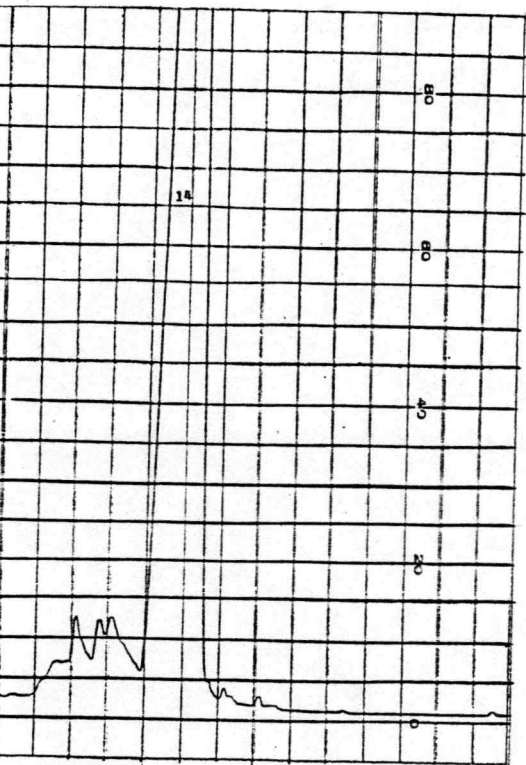
Bobot residu (g)	Fraksi	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Tekanan (mmHg)	Bobot Fraksi II (g)
25,00	II	62,5-69,5	10	18,44
25,00	II	63,0-70,5	10	14,98
50,00				33,22

Sedang pada prafraksinasi ulang 34 g Fraksi I, berhasil ditampung destilat pada suhu $\pm 35^{\circ}$ - 45°C sebanyak 17,85 g (Fraksi sabinen) dan tertera dalam Tabel IV.D.3. dibawah ini. Waktu retensi dan komposisi Fraksi sabinen tertera dalam tabel Lampiran 21.

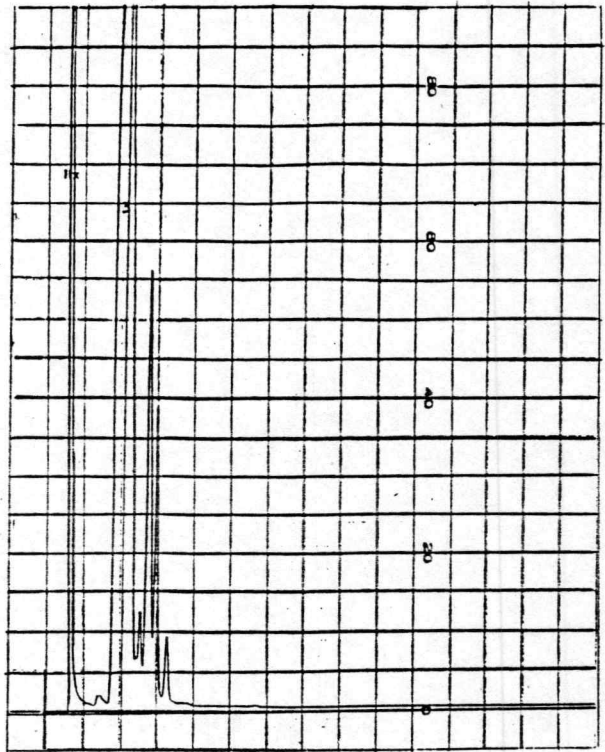
Tabel IV.D.3. Hasil prafraksinasi ulang Fraksi I, pada suhu 35° - 45°C dan tekanan 10mm Hg menghasilkan Fraksi sabinen

Bobot Fraksi I (g)	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Tekanan (mmHg)	Bobot Fraksi sabinen (g)
17,0	35,5-44,5	10	8,79
17,0	33,0-45,5	10	9,06
34,0			17.85

Terhadap Fraksi II dan Fraksi sabinen yang diperoleh dilakukan analisis KGC, kolom OV-17, 3m, FID, menghasilkan kromatogram tertera pada Gambar IV.D.3. dan IV.D.4.



Gambar IV.D.3. Kromatogram Fraksi II



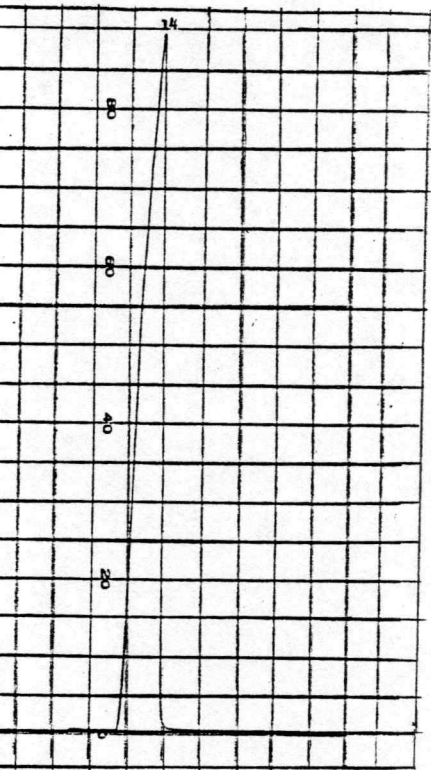
Gambar IV.D.4. Kromatogram Fraksi sabinen

2. Hasil fraksinasi kolom Fraksi II Dari 30,000 g Fraksi II, masing-masing 10,000 g dilakukan fraksinasi kolom dengan silika gel sebagai fasa diam dan berturut-turut heksana, heksana:Et₂O (1:1) dan Et₂O sebagai eluen, dan eluat ditampung dalam fraksi a 20 ml; fraksi ke 40 sampai dengan 50 dikumpulkan. Kumpulan fraksi masing-masing dicampur dan dilakukan analisis KGC, kolom OV-17, 3 m, FID. Setelah itu fraksi yang kurang lebih sama dikumpulkan jadi satu. Dari tiga kali fraksinasi kolom diperoleh 620 ml eluat, setelah dipekatkan pada suhu 0°C dengan pengurangan tekanan dalam rotavapor, diperoleh Fraksi terpinen-4-ol 16,87 g, seperti tertera dalam Tabel IV.D.4. Orientasi eluen untuk KK dapat dilihat pada Lampiran 20.

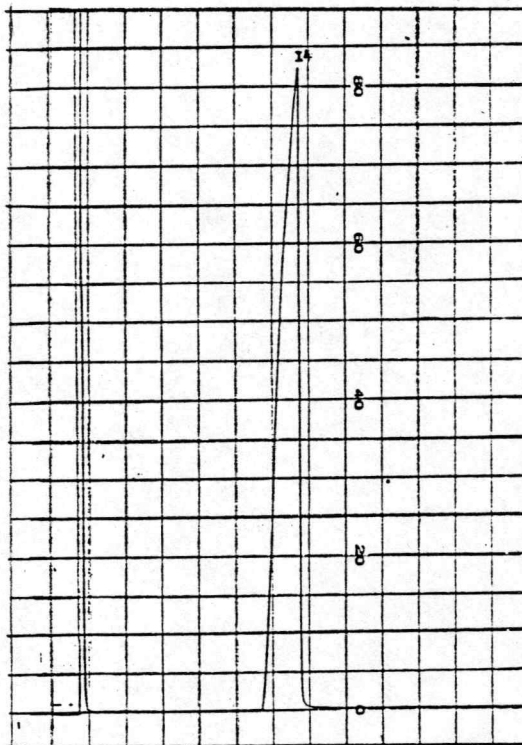
Tabel IV.D.4. Hasil fraksinasi kolom Fraksi II; silika-gel 60 (70-230 ASTM), eluen heksana, heksana:Et₂O(1:1) dan Et₂O; kolom 20 mm d.d.x 1500 mm; kumpulan fraksi ke 40 - 50, diuapkan eluennya, diperoleh Fraksi terpinen-4-ol

Bobot Fraksi II (g)	Fraksi ke	Vol fraksi (ml)	Bobot Fraksi terpinen-4-ol pekat (g)
10,0	40 - 50(a)	210	
10,0	41 - 50(b)	200	
10,0	41 - 50(c)	210	
30,0	(a + b + c)	620	16,87

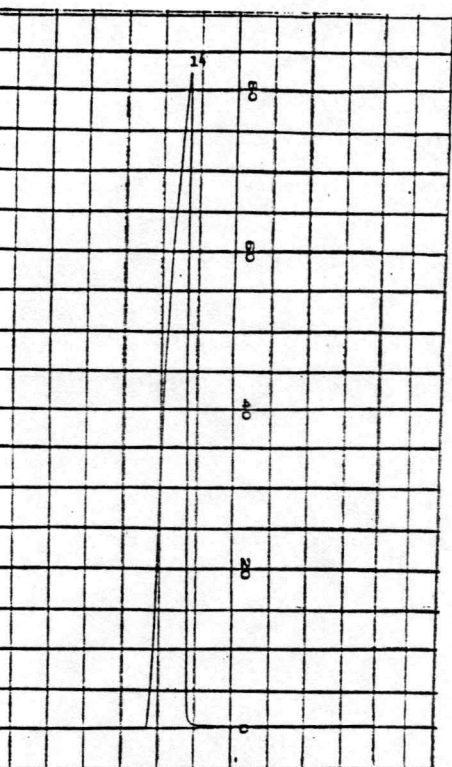
Terhadap Fraksi a,b,c dan Fraksi terpinen-4-ol dilakukan analisis KGC, kolom OV-17, 3 m, FID. Kromatogram terdapat pada gambar IV.D.5, IV.D.6, IV.D.7 dan IV.D.8 sedang waktu retensi dan komposisi Fraksi terpinen-4-ol terdapat pada tabel Lampiran 21.



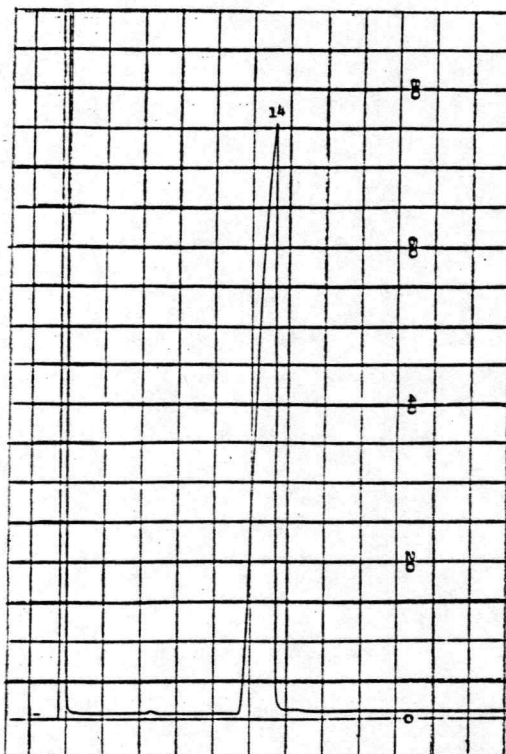
r IV.D.5. Kromatogram
i a



Gambar IV.D.6. Kromatogram
Fraksi b



r IV.D.7. Kromatogram
i c

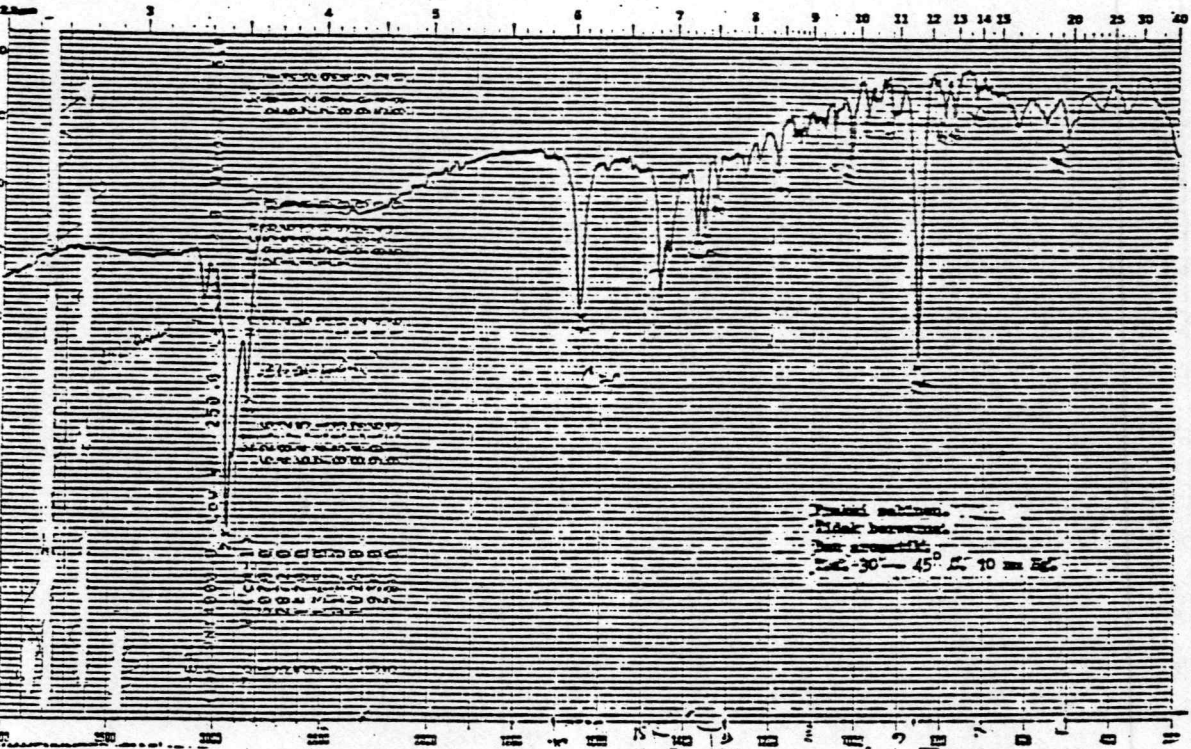


Gambar IV.D.8. Kromatogram
Fraksi terpinen-4-ol

Sekedar mengetahui perbedaan gugus fungsional yang terdapat pada komponen kandungan Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol, terutama gugus $-OH$, $-COOH$ dan $-CHO$ dapatlah dilakukan analisis spektrometri infra merah; spektra bersangkutan tertera pada Gambar IV.D.9 dan IV.D.13.

Dengan melihat spektra IR dari Fraksi sabinen pada Gambar IV.D.9, cenderung tidak terlihat puncak yang kuat pada pita serapan antara 1820 dan 1600 cm^{-1} , sehingga adanya rentangan $C=O$ sangat diragukan, berarti diragukan adanya gugus $>C=O$; juga rentangan OH pada pita serapan $3350-2500\text{ cm}^{-1}$, yang disebabkan terdapatnya gugus $-OH$

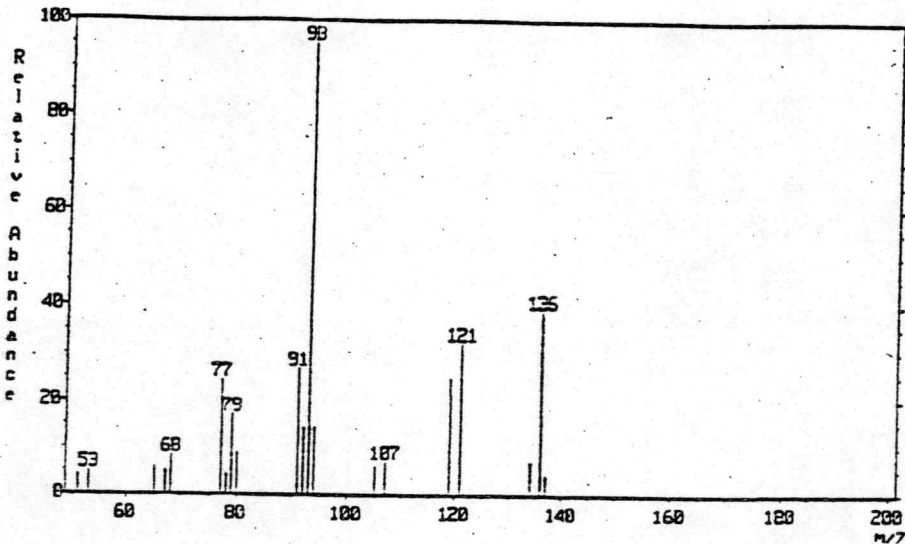
tidak nampak disini. Rentangan $-CH$ pada pita serapan 2940 dan 1660 cm^{-1} menunjukkan kecenderungan adanya gugus $-CH_3$ dan $C=C$ aromatik. Tidak terlihat rentangan $-OH$ pada pita serapan $1270-1200\text{ cm}^{-1}$, meragukan adanya gugus $-C-OH$.



Gambar IV.D.9. Spektra IR Fraksi sabinen

Analisis KGC-MS yang dilakukan terhadap Fraksi sabinen dengan spektrometer massa JEOL JMS, kolom OV-1, diperoleh spektra komponen-komponen diantaranya yang tertera pada Gambar IV.D.10., IV.D.11 dan IV.D.12. Kromatogram gas dan penapisan bersangkutan dapat dilihat di Lampiran 22.

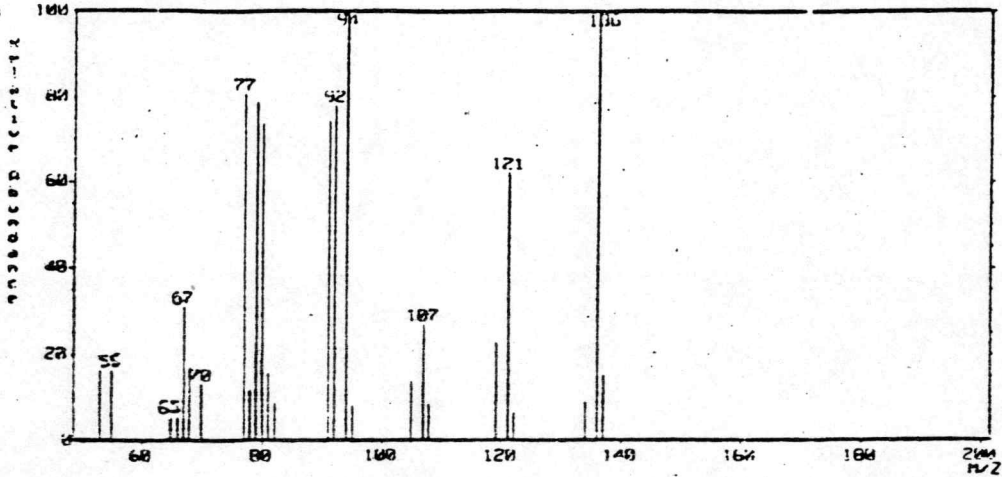
Sample: TARUNO
 RT 0'46" EI (Pos.) GC 97.8c EP: m/z 93.0000 Int. 54.6020 Lv 4.00
 Scan# (47)



Gambar IV.D.10. Spektra massa komponen dengan Me 136 dan puncak dasar pada m/e 93

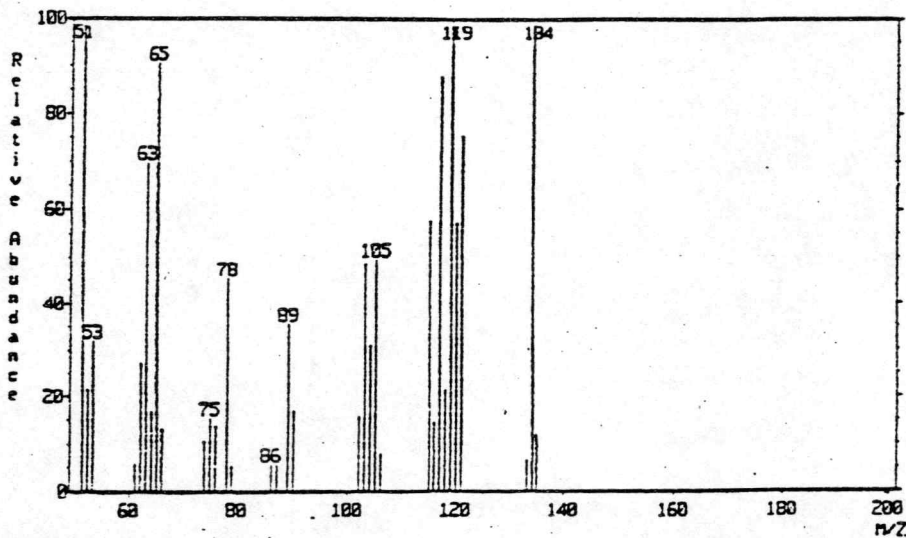
Pembandingan spektra dengan puncak m/e 136(M^+) dan puncak dasar pada m/e 93($M-43$) diatas dengan spektra sabinen (Groningen) pada Lampiran 22 dan spektra sabinen dalam Compilation of the mass spectra of volatile compounds in food (Ten Noever, 1980) terdapat kesesuaian. Spektra komponen pada Gambar IV.D.11. dibawah ini, dengan puncak pada m/e 136(M^+), puncak dasar pada m/e 94($M-42$) dengan fragmentasi pada 121, 107, 92, 77, 67, 65 dan 55 tidak diketahui. Sedang spektra pada Gambar IV.D.12. dengan puncak pada m/e 134(M^+), dengan puncak dasar pada m/e 119 ($M-25$) dan fragmentasi 105, 89, 78, 65, 63 mirip dengan spektra p-simen (Groningen) pada Lampiran 22, hanya berbeda pada intensitas puncak (M^+).

Sample: TARUN
 RT 0'49" EI (Pos.) GC 96.8c BP: m/z 94.0000 Int: 24.2592 Lv: 4.00
 Scan: (50) - (49, 51) [coef. 1.00]



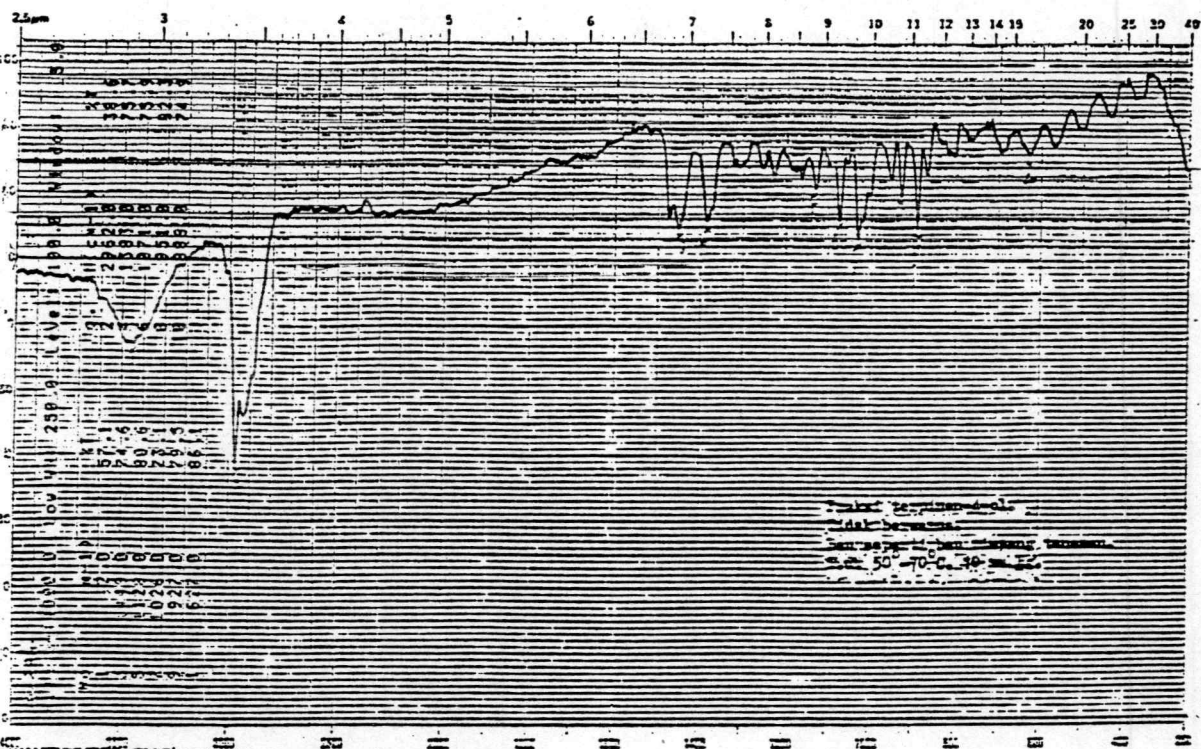
Gambar IV.D.11. Spektra massa komponen dengan Me 136 dan puncak dasar pada m/e 91

Sample: TARUN
 RT 0'43" EI (Pos.) GC 96.7c BP: m/z 51.0000 Int: 12.4625 Lv: 4.00
 Scan: (44) - (43, 46) [coef. 1.00]



Gambar IV.D.12. Spektra massa komponen dengan Me 134 dengan puncak dasar pada m/e 119

Terhadap Fraksi terpinen-4-ol juga dilakukan analisis IR dan spektra IR dapat dilihat pada Gambar IV.D.13.

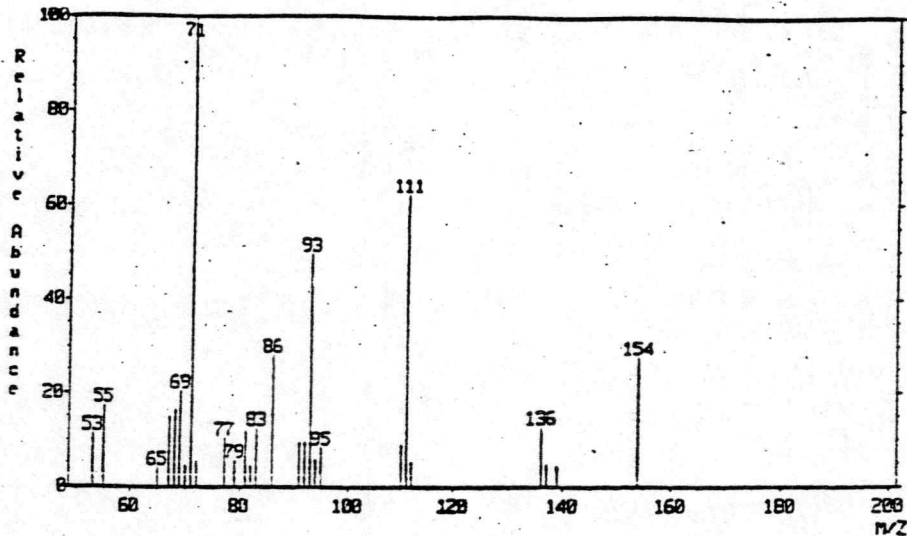


Gambar IV.D.13. Spektra IR Fraksi terpinen-4-ol

Pada Gambar IV.D.13. terlihat rentangan -OH yang luas pada pita serapan $3350-2500\text{ cm}^{-1}$, yang menunjukkan terdapat gugus -OH. Rentangan -OH yang kuat pada pita serapan $3100-2800\text{ cm}^{-1}$, menunjukkan gugusan -OH aromatik. Pada pita serapan $1460-1450\text{ cm}^{-1}$ terlihat tekukan CH asimetri menandakan terdapat gugus $-\text{OCH}_3$ atau $>\text{CH}_2$.

Analisis KG-MS Fraksi terpinen-4-ol, setelah dilakukan penapisan komponen pada Lampiran 23, menghasilkan spektra komponen-komponen antara lain spektra komponen pada Gambar IV.D.14.

Sample: TARUNO
 RT 1.22 EI (Pos.) GC 99.3c EP: m/z 71.0000 Int. 59.9085 Lv 4.00
 Scan# (83)



Gambar IV.D.14. Spektra massa komponen dengan Me 154 dan puncak dasar pada m/e 71

Pembandingan spektra diatas, dengan puncak m/e 154(M^+) dan puncak dasar pada m/e 71($M-83$) dan spektra terpinen-4-ol (Groningen) yang terdapat dalam Lampiran 23, memperlihatkan kesesuaian baik pada puncak dasar dan fragmenta sinya.

Dari hasil analisis spektrometri IR dan MS terhadap Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol terdapat kecenderungan bahwa dalam Fraksi sabinen tidak terdapat senyawa teroksigenasi; terdapat sabinen diantara beberapa komponen, diantaranya sangat cenderung terdapat p-simen. Sedang dalam Fraksi terpinen-4-ol terdapat beberapa komponen berupa senyawa teroksigenasi, satu diantaranya diidentifikasi dengan pembandingan sebagai terpinen-4-ol. Belum dapat dipastikan tidak mengandung senyawa hidrokarbon.

E. Hasil Tahap Uji Antelmintik Fraksi Minyak Atsiri

1. Hasil uji daya antelmintik in vitro Fraksi

sabinen dan terpinen-4-ol.

a. Hasil perhitungan LD50 Fraksi sabinen dan terpinen-4-

ol. Hasil perhitungan LD50 Fraksi sabinen, terpinen-4-ol

dan piperasin sitrat disajikan dalam Tabel IV.E.1.

Tabel IV.E.1. Pengamatan dalam 20 jam terhadap jumlah kematian cacing dalam rendaman berbagai kadar emuls Fraksi sabinen (FSAB), Fraksi terpinen-4-ol (FTPOL), piperasin sitrat (PS), perhitungan pi dan LD50

Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar emuls FSAB (mg%)					pi	LD50 (mg%)
	1600	400	100	25	6,25		
I	10	8	4	1	0	2,3	131,8682
II	10	7	4	1	0	2,2	151,4956
III	10	8	3	2	0	2,3	131,8682
IV	10	8	3	1	0	2,2	151,4956
V	10	8	5	1	0	2,4	114,7889
Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar emulsi FTPOL (mg%)					pi	LD50 (mg%)
	400	100	25	6,25	1,56		
I	10	6	2	1	0	1,9	57,4116
II	10	5	2	1	0	1,8	65,9336
III	10	4	3	2	0	1,8	65,9326
IV	10	6	2	1	0	1,9	57,4116
V	10	4	3	2	0	1,9	57,4116
Perlakuan	Jumlah cacing mati dalam berbagai kadar larutan PS (mg%)					pi	LD50 (mg%)
	6400	1600	400	100	25		
I	10	8	5	5	0	2,8	263,6331
II	10	9	4	6	0	2,9	229,5092

Lanjutan Tabel IV.E.1

III	10	6	7	4	0		
IV	10	8	6	6	0	3,0	199,8021
V	10	8	6	6	0	3,0	199,8021

b. Hasil perhitungan potensi relatif Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol. Hasil perhitungan potensi relatif emuls Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol terhadap piperasin sitrat tertera dalam Tabel IV.E.2. Sedang perhitungan terdapat dalam Lampiran 24.

Tabel IV.E.2. Potensi relatif Fraksi terpinen-4-ol (FTPOL) dan Fraksi sabinen (FSAB) terhadap piperasin sitrat

Potensi relatif	
FTP4OL (%)	FSAB (%)
459,1983	199,9216
348,0966	151,4956
348,0966	174,0443
348,0169	131,8864
348,0169	174,0604
370,2861	166,2816
±49,7040	±25,7589

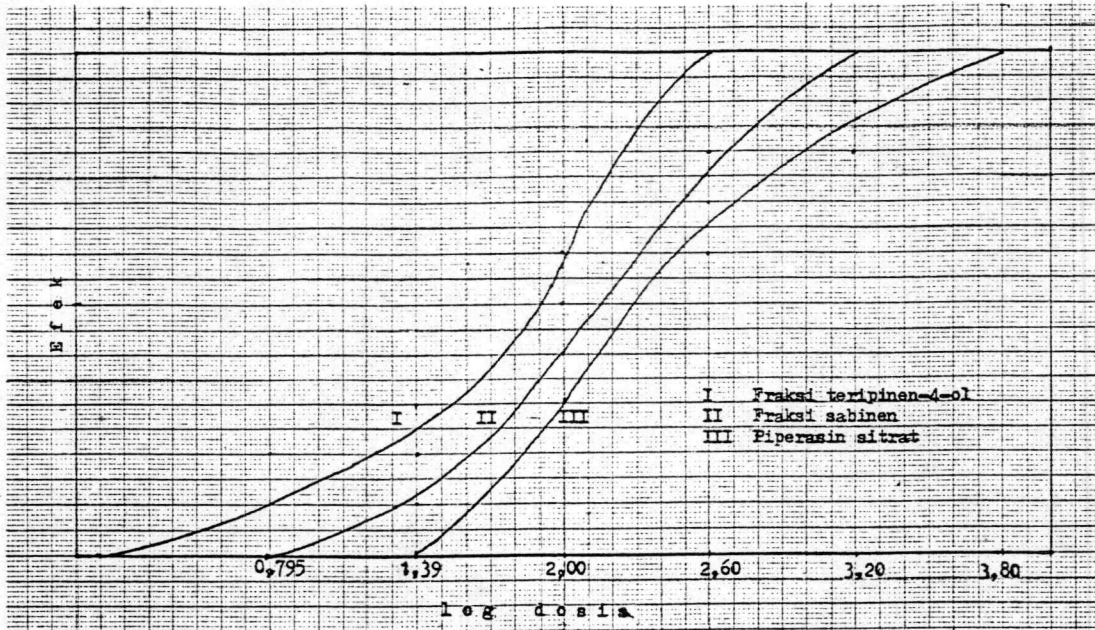
Hasil analisis statistik beda rerata potensi relatif emuls Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol disajikan dalam Tabel IV.E.3. dengan perhitungan di Lampiran 24.

Tabel IV.E.3. Analisis statistik beda rerata potensi relatif (PR) fraksi terpinen-4-ol (FTPOL) dan fraksi sabinen (FSAB) secara uji T

PR yang dibandingkan	Beda rerata	T hitung	db	T tabel 0,05	T tabel 0,01
FTPOL - FSAB	204,0034	8,1484*	8	1,860	2,896

*:berbeda bermakna ($P < 0,05$). Perhitungan lihat Lampiran 24

Kurva log dosis - kematian (%) cacing dalam rendaman emuls Fraksi terpinen-4-ol dan fraksi sabinen disajikan pada Gambar IV.E.1.



Gambar IV.E.1. Kurva log dosis - kematian (%) cacing dalam rendaman emuls Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol

Dari tabel IV.E.1, IV.E.2, IV.E.3 dan Gambar IV.E.1 dapat dilihat bahwa potensi relatif Fraksi terpinen-4-ol lebih besar dan lebih kuat mematikan cacing dibanding Fraksi sabinen secara *in vitro*. Terhadap Fraksi terpinen 4-ol, Fraksi sabinen dan minyak atsiri dilakukan uji antelmintik *in vivo* lebih lanjut.

2. Hasil uji antelmintik *in vivo*. Uji antelmintik *in vivo* baik metoda Penurunan Jumlah Telur maupun metoda Uji Terkontrol (CT) dilakukan dengan infestasi buatan;

Penginfeksi dengan \pm 250 telur infektif per ekor anak ayam, setelah dilakukan orientasi jumlah telur per tetes susupensi telur infektif (Lampiran 25). Perhitungan konversi EPK menjadi EPG ditentukan setelah diketahui hasil orientasi bobot tinja per satuan Kato \pm 33 mg (Lampiran 26).

a. Hasil uji metoda Penurunan Jumlah Telur. Dari hasil penghitungan jumlah telur per gram tinja pada uji daya antelmintik *in vivo* metoda Penurunan Jumlah Telur, pada hari ke-1 pra, hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan dengan menggunakan minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol masing-masing dengan dosis 100 dan 300 mg per ekor ayam, piperasin sitrat dengan dosis 100 mg per ekor ayam dan larutan glukosa salin 5 ml per ekor ayam (lihat Lampiran 30) dapat disajikan rerata jumlah telur per gram tinja pada masing-masing pengamatan perlakuan, seperti yang tertera pada Tabel IV.E.4.

Tabel IV.E.4. Rerata EPG pada perlakuan dengan dosis 100mg dan 300mg per ekor minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol, 100mg per ekor piperasin sitrat dan 5ml glukosa salin 5% per ekor diamati pada hari ke-1 pra, hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan

Perlakuan dengan	Kadar (mg)	Rerata jumlah telur per gram tinja		
		Hari ke-1 pra perlakuan	Hari ke-1 pasca perlakuan	Hari ke-3 pasca perlakuan
Minyak atsiri	100	1465,00	848,20	1554,30
	300	2555,09	2340,00	1210,54
Fraksi sabinen	100	1385,40	1055,40	1078,80
	300	2004,36	1704,00	1326,36

lanjutan Tabel IV.E.4.

Fraksi terpinen-4-ol	100 300	1044,50 4028,00	730,40 2142,00	678,70 556,27
Piperasin sitrat	100	1.195,00	83,00	0,00
Glukosa salin 5%		1461,90	1438,10	1631,10

Hasil analisis kovarian data EPG hari ke-1 pra dan hari ke-3 pasca perlakuan dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol 100 mg dan 300 mg per ekor dengan menggunakan kontrol, menurut Lampiran 30 dapat disajikan dibawah ini:

1. Tidak ada efek pemberian obat terhadap EPG ($P > 0,05$).
2. Ada kegunaan analisis kovarian pada penelitian ini ($P < 0,05$).

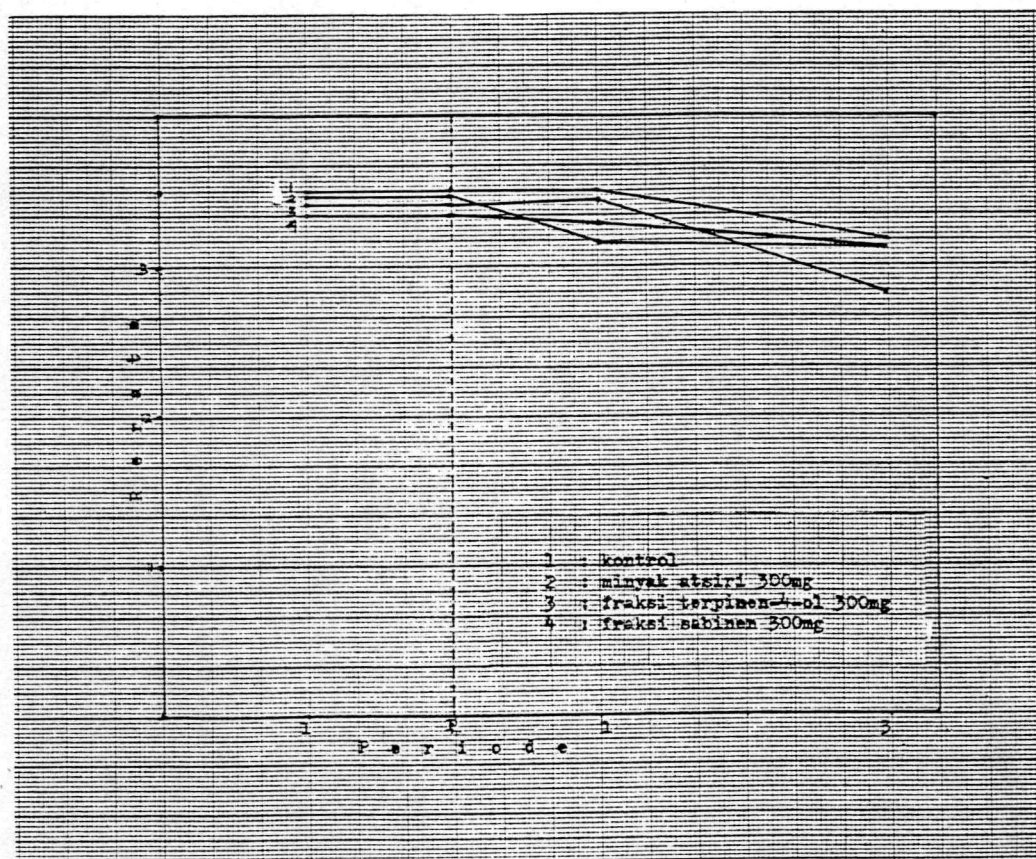
Hasil analisis *split plot* dan uji statistik pada data EPG pada hari ke-1 pra, hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol 100 mg per ekor dengan menggunakan kontrol menurut Lampiran 30 dapat disajikan dibawah ini:

1. Tidak terlihat efek pada perlakuan ($P > 0,05$).
2. Tidak terlihat efek pada perioda ($P > 0,05$).
3. Tidak terlihat efek pada interaksi ($P > 0,05$).

Pada perlakuan sama dengan pemberian dosis 300 mg per ekor, hasil analisis *split plot* dan uji statistik data EPG menurut Lampiran 30, dapat disusun sebagai berikut:

1. Tidak terlihat efek pada perlakuan ($P > 0,05$).
2. Terlihat ada efek pada perioda ($P < 0,05$).
3. Terlihat efek pada interaksi ($P < 0,05$).

Dapat dilanjutkan dengan mencari persamaan kurva garis respon dan perbandingan antar rerata. Dari perbandingan antar rerata maka EPG pada hari ke-3 pasca perlakuan berbeda bermakna ($P < 0,05$) dengan EPG hari ke-1 pra dan hari ke-1 pasca perlakuan; tidak ada beda bermakna antara EPG hari ke-1 pra dan hari ke-1 pasca perlakuan ($P > 0,05$). Perhitungan pada Lampiran 30.



Gambar IV.E.2. Kurva garis respon (hari ke-1 pra, hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan) dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen dan Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis masing-masing 300mg per ekor ayam

b. Hasil metoda Uji Terkontrol (CT) Jumlah rerata cacing dalam usus ayam pasca mati, setelah perlakuan dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol masing-masing dengan dosis 300 dan 500 mg per ekor ayam, piperasin sitrat 100 mg per ekor ayam dan larutan glukosa salin 5% 5ml per ekor ayam dapat dilihat dalam Tabel IV.E.5. Sedang data jumlah cacing yang bersangkutan dan konversi jumlah ke $\log (X+1)$ terdapat dalam Lampiran 31.

Tabel IV.E.5. Rerata jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati setelah perlakuan dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen, Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis masing-masing 300 dan 500 mg, piperasin sitrat 100 mg per ekor ayam dan larutan glukosa salin 5% sebagai kontrol

Perlakuan	Rerata jumlah cacing pasca mati
Larutan glukosa salin 5%	22,1
Minyak atsiri 300 mg	16,7
Minyak atsiri 500 mg	4,4
Fraksi sabinen 300 mg	19,0
Fraksi sabinen 500 mg	8,4
Fraksi terpinen-4-ol 300 mg	10,2
Fraksi terpinen-4-ol 500 mg	2,8
Piperasin sitrat 100 mg	0,0

Hasil analisis statistik varian terhadap penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati antar perlakuan dengan kontrol, dan hasil beda rerata penurunan jumlah cacing antar perlakuan dapat dilihat di Tabel IV.E.6 dan IV.E.7., sedang perhitungan terdapat dalam Lampiran 32 dan 33.

Tabel IV.E.6. Analisis statistik varian data penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati antar ayam perlakuan dan kontrol

Sumber variasi	db	Jk	Mk	Fo
Perlakuan	6	11.1650	1.8610	13.686*
Dalam	63	8.5660	0.1360	

F 0,05 : 6 : 63 : 2,24 * Bermakna ($P < 0,05$)

F 0,01 : 6 : 63 : 2,91

Hasil perbedaan rerata penurunan jumlah cacing pasca perlakuan dilakukan dengan uji Tukey tertera di Tabel IV.E.7. Perhitungan pada Lampiran 34.

Tabel IV.E.7. Analisis beda rerata penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati antar ayam perlakuan dengan uji Tukey

Kelompok yang dibandingkan	Beda rerata penurunan jumlah cacing	T hitung	T tabel 0,05 0,01
I VS II	0,5590	4,91*	4.40 5,10
I VS VI	0,7050	6,20*	
I VS VII	1,1340	9,97*	
II VS III	0,6560	5,78*	
II VS VII	0,5250	4,61*	
III VS VI	0,8020	7,05*	
III VS VII	1,2310	10,82*	
IV VS VII	0,9640	8,49*	
IV VS VI	0,5350	4,70*	
V VS VII	0,8900	7,82*	

* : berbeda bermakna ($P < 0,05$)

Keterangan

- I : Penurunan karena m.atsiri 300 mg.
- II : Penurunan karena m.atsiri 500 mg.
- III : Penurunan karena Fraksi sabinen 300 mg.
- IV : Penurunan karena Fraksi sabinen 500 mg.
- V : Penurunan karena Fraksi terpinen-4-ol 300 mg.
- VI : Penurunan karena Fraksi terpinen-4-ol 500 mg.
- VII : Penurunan karena piperasin sitrat 100 mg.

Sedang beda rerata penurunan perlakuan selain diatas tidak menunjukkan beda bermakna ($P > 0,05$).

Ini berarti bahwa terjadi penurunan jumlah cacing yang kurang lebih sama antara pemberian minyak atsiri 300mg, Fraksi sabinen 300mg dan 500mg dan Fraksi terpinen-4-ol 300mg. Juga karena penurunan jumlah cacing yang disebabkan pemberian minyak atsiri 500mg, Fraksi sabinen 500mg dan Fraksi terpinen-4-ol 300 mg dan 500mg. Sedang penurunan karena piperasin sitrat 100mg kurang lebih sama dengan Fraksi terpinen-4-ol 500mg. Jika dilakukan penghitungan prosen jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati terhadap jumlah cacing pada kontrol diperoleh hasil yang dapat disajikan dalam tabel IV.E.8.

Tabel IV.E.8. Prosentase jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati setelah perlakuan dan kontrol

Perlakuan	Cacing hidup (%)	Cacing mati (%)
Minyak atsiri <i>Z.purpureum</i> 300 mg	75.56	24.44
Minyak atsiri <i>Z.purpureum</i> 500 mg	19.90	80.10
Fraksi Sabinen 300 mg	85.97	14.03
Fraksi Sabinen 500 mg	38.00	62.00
Fraksi Terpinen 4-ol 300 mg	46.15	53.85
Fraksi Terpinen 4-ol 500 mg	12.6	87.40
Piperasin sitrat 100 mg	0,0	100

BAB.V. PEMBAHASAN.

Pada uji daya antelmintik digunakan cacing *Ascaridia galli* Schrank, karena selain lazim digunakan, mudah diperoleh, juga dianjurkan digunakan pada penelitian uji obat untuk askariasis dengan ayam sebagai binatang laboratorium (Duwel, 1975) karena mudah pengerjaannya. Uji *in vitro* digunakan metoda rendam (Lamson, 1935) dimodifikasi pada media dan cara penentuan kematian cacing. Berbeda dengan Lamson (1935) daya antelmintik diukur dengan potensi relatif terhadap piperasin sitrat, suatu ukuran yang lebih tajam dari pada ukuran berdasar jam kematian cacing. Media digunakan glukosa salin 5%, dan telah dibuktikan dalam penelitian ini, lebih baik dari pada air suling dan larutan NaCl 0,9% dalam hal ketahanan hidup cacing didalamnya. Glukosa salin 5% sesuai sebagai media penyimpan dan uji, selain isotonik juga mengandung glukosa. Tonisitas media yang sesuai dengan tonisitas hemolymph cacing perlu diperhatikan dalam menentukan media (Lamson, 1935). Sedangkan glukosa akan meningkatkan daya tahan cacing (Fairbairn, 1957) karena glukosa merupakan bahan baku biosintesa glikogen, disamping fruktosa, maltosa dan sukrosa. Dalam uji *in vitro* ini, efektifitas antelmintik diukur secara fisik, dengan motilitas cacing sebagai dasar kriteria kematian.

Berbeda dengan cara Lamson (1935), kematian cacing dalam penelitian ini dideteksi dengan cara mekanik dengan sentuhan pada bagian kepala (bagian sensitif) sehingga cenderung tidak mempengaruhi kondisi cacing.

Hasil analisis fitokimia pendahuluan dan pemantapan ditemukan minyak atsiri dan senyawa berwarna kuning diantaranya kurkumin sebagai kandungan utama rimpang, sesuai dengan hasil penelitian Cassey *et al* (1972) dan Lawrence *et al* (1970). Sebagai tambahan dalam penelitian ini ditemukan senyawa golongan flavonoid, diantaranya cenderung ditemukan senyawa golongan isoflavon.

Pada identifikasi minyak atsiri hasil penelitian ini (diperoleh dengan cara destilasi air ekstrak kental PE) ternyata diperoleh beberapa hasil tetapan alami yang sesuai dengan hasil peneliti sebelumnya (Cassey, *et al*, 1972; Lawrence *et al.*, 1970); walaupun berbeda tempat tumbuh tanaman dan proses isolasinya. Perbandingan hasil analisis KGC minyak atsiri hasil penelitian dengan hasil analisis beberapa peneliti sebelumnya (Cassey *et al.*, 1972; Lawrence *et al.*, 1970) menunjukkan kesesuaian kandungan komponen utama yaitu sabinen dan terpinen-4-ol disamping perbedaan jumlah komponen hasil analisis. Pada penelitian ini ditemukan kurang lebih 42 komponen, dengan beberapa komponen dalam kadar cukup tinggi yaitu sabinen (21,26%), terpinen-4-ol (37,20%), seskuifelandren (6,70%), trans-1-(3,4-dimetoksifenil)-but-1-en (7,59%) dan trans-1-(3,4-dimetoksifenil)-but-1,3-dien (15,11%).

Komponen zingiberen, seskuifelandren, beta bisabolen dan 3,4-dimetoksi-benzaldehida yang belum ditemukan pada peneliti sebelumnya (Cassey *et al.*, 1972; Lawrence *et al.*, 1970). Perbedaan hasil analisis ini cenderung disebabkan perbedaan tempat tumbuh tanaman asal, macam, panjang kolom dan program operasi KGC.

Dari perbandingan kromatogram minyak atsiri dengan kolom kapiler FFAP 85m X 0,5mm dan dengan kolom OV-17 2% 3m, dikuatkan dengan perbandingan Rt senyawa baku beberapa komponen, cenderung dapat dikatakan bahwa puncak 3, 6, 7 9, 10, 14 dan 20 pada kromatogram hasil pemisahan kolom OV-17 adalah sabinen, limonen, gamma-terpinen, parasimen, terpinen-4-ol dan zingiberen (Gambar IV.B.1, IV.B.2 dan Lampiran 17).

Pada uji daya antelmintik *in vitro* ekstrak, residu minyak atsiri dan fraksi digunakan sediaan emulsi gom arab dalam larutan glukosa salin 5%. Ditentukan serbuk gom arab 200 mg% dalam sediaan emulsi setelah dilakukan uji serbuk gom arab, tragakan dan polisorbate terhadap ketahanan hidup cacing (Tabel IV.C.1. dan IV.C.2). Daya tahan hidup cacing lebih pendek dalam larutan polisorbate 80, cenderung disebabkan salah satu sifat larutan surfaktan yaitu menaikkan tekanan osmotik dari larutan, sebab pembentukan misel; jika tingkat tekanan osmotik larutan tidak sesuai dengan tekanan osmotik hemolymph cacing, akan mempengaruhi kondisi cacing tersebut. Hal ini tidak terdapat pada emuls serbuk gom arab yang merupakan

larutan benar dalam golongan liofil dispers yang hidrofil. Hanya kekentalan emuls serbuk gom arab cenderung mengganggu pelepasan fasa dispers.

Hasil uji antelmintik *in vitro* diketahui potensi relatif ekstrak PE > ekstrak MeOH, juga potensi relatif minyak atsiri > ekstrak PE, memperkuat perkiraan senyawa dengan daya antelmintik terutama terdapat dalam minyak atsiri, sehingga penelitian diarahkan kepada minyak atsiri dan komponennya.

Berdasar atas:

1. Kadar yang cukup tinggi dari sabinen dan terpinen-4-ol dalam minyak atsiri yang diteliti.
2. Telah ada metoda yang mantap untuk pemisahan golongan hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenasi (Ikan, 1969; Scheffer *et al.*, 1976a; Scheffer *et al.*, 1977).
3. Kualitas bioaktifitas yang berbeda antara golongan hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenasi (Janssen *et al.*, 1984).
4. Radas yang tersedia.
5. Kebutuhan jumlah cukup besar akan fraksi untuk uji antelmintik *in vitro* dan *in vivo*.

maka penelitian diarahkan untuk pemisahan fraksi sabinen dan terpinen-4-ol dari minyak atsiri. Dalam usaha ini akan dilakukan pemisahan secara destilasi fraksi dengan pengurangan tekanan, dilanjutkan dengan pemisahan secara KK preparatif untuk memisahkan fraksi hidrokarbon dan hidrokarbon teroksigenasi.

Walaupun destilasi merupakan cara yang kurang disarankan pada fraksinasi komponen minyak atsiri, tetapi dengan usaha pengurangan tekanan akan dapat dihindari dampak yang kurang baik yang dapat terjadi.

Dengan menggunakan hasil analisis komponen minyak atsiri dengan cara KGC (Tabel IV.B.7.) sebagai dasar pembahasan, maka dapat diperkirakan sebagai berikut:

Jika sabinen terdapat dalam kadar 21,26% pada hasil destilasi air ekstrak PE, maka diperkirakan sabinen (t.d. 161° - 165° C) akan merupakan komponen utama dalam fraksi destilasi dengan tekanan 35mm Hg pada suhu 40° - 60° C (fraksi permulaan); sedang terpinen-4-ol (t.d. 209° - 212° C dan t.d. 10.86° - 87° C) baru mulai terdapat pada fraksi 70° C keatas. Jika terjadi pencemaran terpinen-4-ol, trans-menth-2-ene-1-ol, cis-menth-2-ene-1-ol pada fraksi sabinen mudah dipisahkan dengan metoda KK pada kolom silikagel dan eluen heksan, heksan:dietil-eter(1:1) dan dietil-eter, atau eluen/campuran eluen lain dengan polaritas yang menaik seperti etil-asetat atau diklormetan; dapat pula dilakukan prafraksinasi ulang pada fraksi sabinen dengan tekanan yang lebih rendah yaitu 10 mm Hg pada suhu 35° - 45° C.

Diperkirakan sulit untuk memisahkan sabinen dari pinen, mirsen, alfa-terpinen, b-felandren, gamma-terpinen dan para-simen dengan metoda KK, sehingga fraksinasi secara KK untuk memperoleh kadar sabinen yang lebih tinggi dalam jumlah besar masih diragukan akan berhasil.

da cara pemeriksaan jumlah EPG dalam tinja yang dikumpulkan dalam 1 hari dan yang dikumpulkan pada periode berlainan dalam 1 hari; hal ini cenderung disebabkan variasi jumlah dan jenis kelamin cacing, siklus bertelur dan *sexual maturity* yang berlainan, sebagai akibat variasi waktu menetas yang disebabkan perbedaan tingkat infektivitas dari telur yang diinfeksi.

Kenyataan-kenyataan diatas dipakai sebagai dasar dalam usaha untuk mengendalikan variabel -variabel dalam uji antelmintik *in vivo* secara Penurunan Jumlah Telur.

Walaupun telah dicoba untuk mengendalikan beberapa variabel, hasil EPG masih tetap sangat bervariasi (Lampiran 29), sehingga dicoba diatasi dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap kovariat tunggal dan Rancangan *split plot* pada hasil pemeriksaan EPG pada periode tertentu, untuk memperoleh informasi yang lebih banyak dan masih berkaitan data yang ada.

Dengan hasil analisis kovarian dan varian dapat ditunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian Fraksi terpinen-4-ol 300 mg merupakan memberikan respon yang diharapkan. Dengan kenaikan pemberian dosis akan lebih dapat jelas diketahui respon obat yang bersangkutan (Lampiran 30 dan Gambar IV.E.2.). Dengan dasar ini maka pada uji antelmintik *in vivo* metoda Uji Terkontrol, pemberian dosis ditingkatkan menjadi masing-masing 300 dan 500 mg per ayam. Analisis varian jumlah penurunan cacing dalam usus ayam pasca mati pada ayam perlakuan terhadap kontrol di-

lanjutkan uji beda rerata beda rerata penurunan jumlah cacing pada ayam perlakuan, dengan pemberian minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol masing-masing 300 mg dan 500 mg per ayam, piperasin sitrat 100 mg per ayam dan larutan glukosa salin 5%, 5 ml per ayam, menunjukkan daya mematikan cacing terkuat pada Fraksi terpinen-4-ol, diikuti minyak atsiri dan Fraksi sabinen (Tabel IV.E.7. dan IV.E.8.). Jika diperhitungkan prosentase jumlah ca-cing mati dalam usus pasca perlakuan dengan masing-masing 500mg Fraksi terpinen-4-ol, minyak atsiri dan Fraksi sabinen diperoleh berturut-turut 87,40%, 80,10% dan 62,00%.

Dari beberapa metoda uji yang telah dilakukan terdapat kesesuaian antara hasil daya antelmintik Fraksi terpinen-4-ol, minyak atsiri dan sabinen, baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dengan Uji Penurunan Jumlah Telur dan Uji Terkontrol. Pada uji *in vivo* metoda Penurunan Jumlah Telur, terdapat banyak variabel yang sukar dikendalikan. Pada metoda Uji Terkontrol variabel tidak begitu banyak. Sehingga sesuai dengan tujuan penelitian daya antelmintik, maka lebih tepat digunakan metoda Uji Terkontrol.

Sangat sukar memisahkan terpinen-4-ol dari cis dan trans - menth-2-ene-1-ol yang merupakan senyawa isomer dengan metoda KK.

Pemisahan terpinen-4-ol dari trans-1-(3,4-dimetoksi-fenil) but-1-en dan trans-1-(3,4-dimetoksi-fenil)but-1,3-dien dapat dilakukan dengan eluen dengan polaritas sedang.

Prafraksinasi minyak rimpang *Zingiber purpureum* pada suhu $65^{\circ}\text{--}75^{\circ}\text{C}$ (35 mm Hg) menghasilkan 34,64 g fraksi sabinen, dengan kadar sabinen $\pm 65\text{--}75\%$ dan 52,74 g residu. Sedang prafraksinasi ulang 34 g fraksi sabinen pada suhu $35^{\circ}\text{--}45^{\circ}\text{C}$ (10 mm Hg) menghasilkan 17,85g fraksi sabinen dengan kadar 84,11%.

Prafraksinasi 50 g residu pada $62,5^{\circ}\text{--}70,0^{\circ}\text{C}$ (10 mm Hg) menghasilkan 33,22 g fraksi terpinen-4-ol dengan kadar 65-80%. Destilat yang keluar pada suhu diatas $70,0^{\circ}$ yang tentunya berisi sebagian besar komponen minyak atsiri dengan titik didih yang lebih tinggi, ditinggalkan karena terjadi perubahan warna ketuaan, yang mungkin disebabkan terjadinya proses polimerisasi atau lainnya.

Sedang fraksinasi kolom selanjutnya dari 30 g fraksi II, diperoleh 620 ml fraksi ke-40 sampai dengan 50, dan setelah dipekatkan diperoleh fraksi terpinen-4-ol dengan bobot 16,87 g dengan kadar 92,23%. (Tabel IV.D.4.). Dengan prafraksinasi secara destilasi fraksi dengan pengurangan tekanan, prafraksinasi ulang dan dilanjutkan

BAB.VI.KESIMPULAN

- 1a. Hasil uji daya antelmintik *in vitro* perasan rimpang *Zingiber purpureum*, ekstrak PE (40-60°C), ekstrak MeOH, minyak dan residu, menggunakan cacing *Ascaridia galli*, menunjukkan rimpang *Zingiber purpureum* mengandung senyawa antelmintik aktif yang cukup efektif.
- 1b. Potensi relatif perasan rimpang, ekstrak PE, dan ekstrak MeOH 6,40% ± 0,53, 176,84% ± 38,24 dan 75,93% ± 19,20. Cenderung disimpulkan senyawa dengan daya antelmintik dalam rimpang yang diteliti mudah larut dalam PE.
- 2a. Minyak atsiri diperoleh dari ekstrak PE, dengan cara destilasi ekstrak PE. Potensi relatif minyak atsiri dan residu adalah 201,14% ± 51,23 dan 64,48% ± 7,61. Cenderung disimpulkan, terutama minyak atsiri merupakan kandungan aktif antelmintik dalam rimpang.
- 2b. Dengan KGC, kolom FFAP, kapiler, 85m x 0,5mm, berhasil dipisah dan diidentifikasi kurang lebih 42 komponen, diantaranya sabinen(21.26%) dan terpinen-4-ol(37,70%) merupakan komponen dengan kadar cukup tinggi.
- 2c. Zingiberen, beta-bisabolen, seskuifelandren dan 3-4-dimetoksibenzaldehida merupakan komponen yang tidak ditemukan oleh Cassey *et al* (1972) dan Lawrence,*et al* (1970), pada penelitian minyak rimpang yang sama.

- 3a. Prafraksinasi, prafraksinasi ulang terhadap minyak atsiri dan fraksinasi kolom fraksi hasil, diperoleh Fraksi sabinen (84,11% sabinen) dan Fraksi terpinen-4-ol (92,23% terpinen-4-ol).
- 3b. Pada uji daya antelmintik *in vitro* terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol, daya antelmintik terkuat diperlihatkan Fraksi terpinen-4-ol disusul minyak atsiri dan Fraksi sabinen. Potensi relatif berturut-turut $370,28\% \pm 49,70$, $201,14\% \pm 51,23$ dan $166,28\% \pm 25,75$.
- 3c. Pada uji daya antelmintik *in vivo* metoda Penurunan Jumlah Telur, perlakuan dengan pemberian Fraksi terpinen-4-ol 300 mg per ayam, memperlihatkan respon yang diharap.
- 3d. Pada uji antelmintik *in vivo* metoda Uji Terkontrol, efek mematikan cacing cukup besar pada perlakuan dengan pemberian Fraksi terpinen-4-ol, minyak atsiri dan Fraksi sabinen masing-masing 500 mg per ayam, yaitu 87,40%, 80,10% dan 62,00%.

SARAN

1. Usaha memperoleh Fraksi sabinen dan Fraksi terpinen-4-ol dengan kadar yang tinggi dan volume yang besar, sebaiknya dilakukan dengan proses sintesis.
2. Perlu diusahakan untuk memisahkan golongan senyawa fenil-butanoid, dan dilakukan uji antelmintik terhadapnya

CONCLUSION

1. The result of the in vitro anthelmintic activity test on the juice, the PE extract and volatile oil of the rhizome of *Zingiber purpureum*, according to the dipping method using *Ascaridia galli* as test animal, showed that the rhizome possessed a quite effective anthelmintic activity. The relative potency of the juice, PE (40^o-60^o) and MeOH extract were respectively 6,40% ± 0,53, 176,84% ± 38,24 and 75,93% ± 19,20.
2. Separation of the oil, by means of GLC, on FFAP capillary column, 85 m in length and 0,5 mm in diameter, showed at least 42 components, amongst them were sabinene 21.26 % , terpinene-4-ol 37.70 % , sesquiphellandrene 6.7%, trans-1(3-4-dimethoxyphenyl) but-1-ene 7.59% and trans-1(3-4-dimethoxyphenyl) but-1-3-diene 15,1%.
Zingiberene, beta-bisabolene, sesquiphellandrene and 3,4-dimethoxy-benzaldehyde were not been detected yet by Cassey et al.,(1972) and Lawrence et al.,(1970) in their analysis on the same oil.
3. Re-prefractionation at ± 35^o-45^oC (10 mm Hg) on the sabinene fraction obtained from the distillation of the volatile oil at ± 65^o-75^oC(35 mm Hg), yielded sabinene fraction containing 84.11 % sabinene.

Column fractionation of the fraction obtained by re-
prefractionation of the residue at $\pm 62.5^{\circ}$ - 70.0° C
(10 mm Hg) yielded terpinene-4-ol fraction containing
92.23 % terpinene-4-ol.

The relative potency of the terpinene-4-ol fraction,
volatile oil and sabinene fraction were respectively
 $370,28\% \pm 49,40$, $210,14\% \pm 51,23$ and $166,28\% \pm 25,75$.

4. The analysis of covariance and variance on the EPG da-
ta acquired from the decreasing egg count test tended
to show that terpinene-4-ol fraction at a dose of 300
mg per chicken gave the expected response.

Treatment with volatile oil, sabinene and terpinene-4-
ol fraction at a dose of 500 mg per chicken, gave a
quite strong killing effect on *Ascaridia galli* in vi-
vo, respectively 80.10, 62.00 and 87.40 %.

5. It would be concluded that the decreasing egg count
test result as well as the controlled test result by
the in vivo test with treatment using volatile oil,
sabinene and terpinene-4-ol fraction were in accord
with the result of the same treatment by the in vitro
dipping test.

6. The results showed that the anthelmintic activity of
the *Zingiber purpureum* Roxb on *Ascaridia galli* was
mainly due to the volatile oil bearing in. Terpinene-
4-ol fraction of the oil tends to possess a quite high
anthelmintic activity.

3. Uji daya antelmintik *in vivo*, sesuai dengan tujuannya disarankan lebih tepat dilakukan menurut metoda Uji Terkontrol, disamping lebih pendek waktu penelitiannya juga karena lebih sedikit variabel yang perlu dikendalikan sehingga hasilnya dapat lebih dipercaya.

Lampiran 4. lanjutan

11. <i>Clitorea ternatea.</i>	Akar.
12. <i>Dolichos biflorus.</i>	Biji.
13. <i>Artemisia absinthium.</i>	Tumbuhan segar.
14. <i>Artemisia nilagirika.</i>	Tumbuhan segar.
15. <i>Calendula officinalis.</i>	Tumbuhan segar.
16. <i>Sphaeranthus indicus.</i>	Akar.
17. <i>Vernonia anthelmintica.</i>	Biji.
18. <i>Vernonia cineria.</i>	Biji.
19. <i>Acalypha indica.</i>	Daun.
20. <i>Croton tiglium.</i>	Biji.
21. <i>Embelica officinalis.</i>	Buah.
22. <i>Ricinus communis.</i>	Daun.
23. <i>Alstonia scholaris.</i>	Kulit batang.
24. <i>Ervatamia coronaria.</i>	Tumbuhan segar.
25. <i>Holarrhena antidysentrica.</i>	Biji.
26. <i>Ferula narthex.</i>	Damar.
27. <i>Foeniculum vulgare.</i>	Biji.
28. <i>Withania somnifera.</i>	Daun.
29. <i>Solanum xanthocarpus.</i>	Tumbuhan segar.
30. <i>Vitex negundo.</i>	Daun.
31. <i>Clerodendron infortunatum.</i>	Tumbuhan segar.
32. <i>Acorus calamus.</i>	Akar rimpang.
33. <i>Alstonia indica.</i>	Akar.
34. <i>Cardiosperma halicacabum.</i>	Tumbuhan segar.
35. <i>Semicarpus anacardium.</i>	Buah.
36. <i>Sapindus trifoliatus.</i>	Buah.
37. <i>Mangifera indica.</i>	Biji.
38. <i>Allium sativum.</i>	Bulbus.
39. <i>Aloe barbadensis.</i>	Daun.
40. <i>Gloriosa superba.</i>	Akar rimpang.
41. <i>Calotropis gigantea.</i>	Tumbuhan segar.
42. <i>Adathoda vasica.</i>	Akar.
43. <i>Andrographis paniculata.</i>	Kulit batang.
44. <i>Calotropis procera.</i>	Tumbuhan segar.
45. <i>Abutilon indicum.</i>	Biji.
46. <i>Aristolochia bracteata.</i>	Daun.
47. <i>Anona squamosa.</i>	Tumbuhan segar.
48. <i>Areca catechu.</i>	Biji.
49. <i>Azadirachta indica.</i>	Daun.
50. <i>Bambusa bambos.</i>	Daun.
51. <i>Carica papaya.</i>	Daun.
52. <i>Cleome isosandra.</i>	Biji.
53. <i>Curcuma longa.</i>	Akar rimpang.
54. <i>Cuscuta reflexa.</i>	Tumbuhan segar.
55. <i>Cyperus rotundus.</i>	Bulbus.
56. <i>Embelia ribes.</i>	Buah.
57. <i>Punica granatum.</i>	Kulit batang.

Sumber variasi	JK	DF	MK	Fo
Perlakuan	1784,667	2	892,33	308,885*
Dalam	17,333	6	2,889	
Total	1802,000	8		

F : 5,75 DF 2:8 P:0,05. * : Berbeda bermakna (P<0,05)

Uji Tukey

Q : 0,05, 3, 6 : 4,34

q : $\sqrt{V \text{ MSE}/r} = \sqrt{2,889/3} = 0,981$

Lar NaCl 0,9%

Air suling

Rerata 77,330

52,667

SD 0,90

0,90

N 3

3

B 24,663

$24,663/0,981 = 25,140*$. *:Berbeda bermakna (P<0,05)

Lar glukosa salin 5%

Air suling

Rerata 86,660

52,667

SD 0,90

0,90

N 3

3

B 33,993

$33,993/0,981 = 34,65*$. *:Berbeda bermakna (P<0,05)

Lar glukosa salin 5%

Lar NaCl 0,9%

Rerata 86,660

77,330

SD 0,90

0,90

N 3

3

B 9,33

$9,33/0,981 = 9,510*$. *:Berbeda bermakna (P<0,05)

ampiran 7.

abel volume, bobot jenis, berat dan % b/b perasan rimpang

Rimpang	Bobot rimpang (g)	Vol perasan (ml)	BJ	Bobot perasan (g)	% b/b perasan (g)	% b/b rata-rata
<i>Curcuma</i>	300	189.5	1.0170	192.7201	64.2400	
<i>aeruginosa</i>	300	193.0	1.0175	196.3772	65.4590	
	300	190.5	1.0173	193.7956	64.5985	64.5666
	300	191.0	1.0172	194.2852	64.7616	$\pm 0,46$
	300	192.5	1.0170	195.7725	65.2571	
	300	189.5	1.0172	192.2508	64.0836	

Lampiran 5 lanjutan

60	8	-	-	-	-	-	-	-
62	10	8	7	-	-	-	-	-
64	-	10	9	-	-	-	-	-
66	-	-	10	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	-	-	-
69	-	-	-	-	1	-	-	-
70	-	-	-	1	1	1	-	-
72	-	-	-	-	3	2	-	-
74	-	-	-	2	4	-	-	-
76	-	-	-	-	6	4	-	-
78	-	-	-	5	7	5	-	-
79	-	-	-	-	-	-	1	-
80	-	-	-	6	-	-	2	2
82	-	-	-	-	-	7	-	3
84	-	-	-	8	8	-	5	-
86	-	-	-	9	-	8	6	4
88	-	-	-	-	9	10	-	-
90	-	-	-	10	10	-	-	5
92	-	-	-	-	-	-	7	6
94	-	-	-	-	-	-	8	7
96	-	-	-	-	-	-	9	8
98	-	-	-	-	-	-	-	9
100	-	-	-	-	-	-	10	10

Lampiran 6.

Tabel waktu mulai terjadi 50% kematian cacing dalam rendaman air suling, larutan NaCl 0,9% dan larutan glukosa salin 5%

Waktu mulai terjadi 50% kematian cacing		
Air suling	Larutan NaCl 0,9%	Larutan glukosa salin 5%
52	78	84
52	76	90
54	78	86
52,66±0,9	77,33±0,9	86,66±0,99

Analisis varian satu jalan

Kelompok	Rerata	N
Air suling	52,667	3
Lar NaCl 0,9%	77,330	3
Lar glukosa salin 5%	86,660	3
RERATA	72,667	9

Lampiran 7 lanjutan

<i>Zingiber officinale</i>	300	179.5	1.0189	182.8925	60.9641	
	300	178.5	1.0192	181.9272	60.6424	
	300	178.0	1.0194	181.3998	60.4666	60.6845
	300	178.6	1.0191	182.0126	60.6708	$\pm 0,25$
	300	179.7	1.0190	183.1143	61.0381	
	300	177.6	1.0191	180.9921	60.3307	
<i>Zingiber purpureum</i>	300	174.5	1.0309	179.8920	59.9640	
	300	175.5	1.0309	180.9229	60.3076	
	300	174.0	1.0310	179.3940	59.9743	60.04227
	300	174.6	1.0308	180.0126	60.0042	± 0.26
	300	173.4	1.0310	178.7754	59.5918	
	300	175.8	1.0309	181.2322	60.4107	

Lampiran 8.

Tabel Potensi relatif (PR) perasan rimpang *C.aeruginosa* (PRCA), *Z.officinale* (PRZO) dan *Z.purpureum* (PRZP) terhadap piperasin sitrat

LD50 PS (mg%)	LD50 PRCA (mg%)	PR PRCA (%)	LD50 PRZO (mg%)	PR PRZO (%)	LD50 PRZP (mg%)	PR PRZP (%)
177,5006	8616,8	2,0599	6092,8	2,9132	2474,5	7,1731
154,5254	8616,8	1,7933	6092,8	2,5361	2474,5	6,2447
177,5006	10608,4	1,6732	7501,0	2,3663	3088,0	5,7480
177,5006	9898,0	1,7932	7501,0	2,3663	2652,1	6,6028
154,5254	10608,4	1,4566	6092,8	2,5361	2474,5	6,1447
		1,7372		2,5436		6,4207
		$\pm 0,2187$		$\pm 0,2234$		$\pm 0,5373$

Analisis varian satu jalan

Kelompok	Rerata	N
PRPRCA	1,737	5
PRPRZO	2,544	5
PRPRZP	6,421	5
RERATA	3,567	15

Sumber variansi	JK	DF	MK	Fo
Perlakuan	62,694	2	31,347	243,395*
Dalam	1,545	12	0,129	
Total	64,239	14		

F tabel :3,88. DF:2:12. P:0,05.

ran 9.

hasil penelitian pendahuluan serbuk rimpang *Zingiber purpureum*

Analisis	H a s i l	Indikasi
Bekas+air dipanas- selama 1/2 jam ring. H 0,5 N.	Filtrat berwarna ku- ning muda.Reaksi ne- tral. Warna sedikit beru- bah.	Ada senyawa dengan kro- mofor bersifat liofil. (flavonoid, kinoid, an- tranoid?).
Bekas+EtOH dipa- nan 10 menit, ring. H 0,5 N.	Filtrat berwarna ku- ning coklat. Warna berubah coklat kemerahan.	Ada senyawa dengan kro- mofor bersifat lipofil (karotenoid?).
Bekas diekstrak di- dengan air ne- , disaring.	Filtrat berwarna ku- ning muda.Reaksi ne- tral.	Tidak terdapat asam,ga- ram asam.
Bekas air netral si(III) klori- , disaring.	Warna larutan beru- bah agak tua.	Tanin dan polifenol ka- lau ada sedikit.
Bekas air netral utan Pb-asetat.	Ada endapan, putih seperti gel.	Ada tanin / lendir / protein.
Bekas air netral rutan Fehling naskan.	Ada endapan merah bata dalam larutan warna kehijauan.	Ada senyawa mereduksi.
Bekas air diasam- + larutan I2	Ada kekeruhan,ber- warna coklat muda.	Alkaloid meragukan.
Bekas air diasam- + larutan Ma-	Ada kekeruhan.	Alkaloid meragukan.
Bekas air diasam- + larutan Wag-	Ada kekeruhan.	Alkaloid meragukan.
Bekas dicampur a- dalam tabung si,dikocok.	Tidak terjadi buih yang stabil.	Saponin meragukan.

2. Uapkan ekstrak metanol. Larutkan dalam air + NaCl, saring.
a. Tambah larutan FeCl₃.
b. Tambah larutan gelatin 1%
c. Tambah larutan garam gelatin.

Cenderung tidak ada/ sedikit mengandung tanin Polifenol ada.

- a. Tidak ada endapan hanya terdapat perubahan warna menjadi agak tua.
- b. Tidak ada endapan, tidak ada perubahan warna.
- c. Tidak ada endapan, tidak ada perubahan warna.

3. Uapkan ekstrak metanol larutkan dalam air. Saring, filtrat dikocok dengan benzena. Ekstrak benzena + NH₄OH dan kocok.

Antrakinoid diragukan Perlu dibandingkan dengan contoh yang mengandung antrakinoid.

Filtrat berwarna kuning muda. Dikocok benzen, ekstrak benzen berwarna kuning muda + NH₄OH dikocok warna berubah menjadi kuning coklat muda.

Penegasan:
Dibandingkan dengan serbuk *Rheum sp*.

Warna berubah merah coklat.

4. Uapkan ekstrak metanol. Sari dengan petroleum eter hingga tuntas. Sari sisa dengan kloroform. Ekstrak kloroform + Natrium sulfat anhidrat, kocok, saring, tampung filtrat.
a. Tambah asam asetat-anhidrid.
b. Tambah asam sulfat pekat.

Cenderung terdapat triterpen, sterol.

- a. Tidak terjadi perubahan warna intensif.
- b. Terjadi perubahan warna dari kuning coklat menjadi merah violet.

Lampiran 10. Lanjutan

5. Uapkan ekstrak metanol. Sari dengan petroleum eter hingga tuntas. Sari sisa dengan metanol. Ekstrak metanol ditambah HCl pekat + logam Mg.	Terjadi perubahan warna dari kuning menjadi kuning kemerahan.	Cenderung terdapat flavonoid.
6. 2 -5 g serbuk dimasukkan dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan dengan setetes kloroform Tempatkan kertas Na-pikrat tergantung diatasnya. Hangatkan labu Erlenmeyer tertutup pada suhu 35 ^o selama 3 jam.	Tidak terjadi perubahan warna dari kertas Na-pikrat.	Glikosida sianogenik diragukan adanya.
7. 100 mg serbuk dalam tabung ditambah air suling 10 ml, dikocok kuat selama 30 detik.	Tidak terjadi buih setinggi 3 cm setelah 30 menit.	Saponin diragukan adanya.

Lampiran 10.
Tabel hasil uji fitokimia penegasan terhadap golongan senyawa yang diperkirakan ada menurut uji pendahuluan rimpang *Zingiber purpureum*

Analisis	H a s i l	Indikasi
<p>1. Uapkan ekstr metanol, larutkan dalam asam klorida + NaCl, saring.</p> <p>a. Tambah larutan Mayer.</p> <p>b. Tambah larutan Wagner.</p> <p>Penegasan: Uapkan ekstr metanol, larutkan dalam asam klorida + NaCl, saring. Larutan dibasakan dengan amonia pekat, disari dengan kloroform. Kumpulkan ekstr kloroform, uapkan. Sisa dilarutkan HCl 2N, aduk, uji dengan: a. Larutan Mayer. b. Larutan Wagner.</p> <p>Larutan basa yang disari dengan kloroform diasamkan, disaring, diuji dengan: a. Larutan Mayer. b. Larutan Wagner.</p>	<p>Terjadi kekeruhan</p> <p>Terjadi kekeruhan</p> <p>Tidak terjadi kekeruhan</p> <p>Tidak terjadi kekeruhan</p> <p>Tidak terjadi kekeruhan</p> <p>Tidak terjadi kekeruhan</p>	<p>Alkaloid meragukan.</p> <p>Alkaloid meragukan.</p> <p>Tidak ada alkaloid</p> <p>Tidak ada alkaloid</p> <p>Tidak ada alkaloid golongan kuarternar amonium basa/amonium oksida basa.</p>

Lampiran 11.

Tabel hRf minyak atsiri hasil destilasi ekstrak PE Fasa gerak heksan:etilasetat (7:3). Fasa diam Silikagel 60 dan Silikagel 60 F 254. Pendeteksi sinar UV 366 nm dan 254 nm

Silikagel 60				Silikagel 60 F 254			
366 nm		254 nm		366 nm		254 nm	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
1.14	kelabu	88.20	ungu			91.14	pemadaman
2.32	biru muda	82.32	kelabu ungu	79.38	biru ungu	79.38	pemadaman
0.56	kelabu	70.56	kelabu ungu	73.50	kuning muda	67.62	pemadaman
4.68	kelabu	64.68	kelabu ungu			61.74	pemadaman
2.92	kelabu	55.86	kelabu ungu	55.86	kuning muda	52.92	pemadaman
		47.04	kelabu ungu	49.98	ungu	49.98	pemadaman
1.16	ungu	41.16	kelabu	38.22	kuning muda	38.22	pemadaman
		32.34	kelabu			35.28	pemadaman
		26.46	kelabu			26.46	pemadaman
				20.58	kuning muda	23.52	pemadaman

Lampiran 12.

Tabel hRf minyak atsiri hasil destilasi ekstrak PE. Fasa gerak heksan : etilasetat (7:3). Fasa diam silikagel 60. Pendeteksi H₂SO₄ pekat, uap iodium, 2-4 DNPH

H ₂ SO ₄ pekat		Uap Iodium		2-4 DNPH	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
88.20	-	88.20	-	88.20	-
82.32	merah jambu	82.32	coklat	82.32	kuning
70.56	merah	70.56	-	70.56	kuning

Lampiran 12. lanjutan

64.68	-	64.68	-	64.68	-
55.86	kuning	55.86	coklat	55.86	-
52.92	kuning muda	52.92	-	52.92	-
47.04	kuning	47.04	coklat	47.04	-
41.16	-	41.16	-	41.16	-
32.34	-	32.34	-	32.34	-
26.46	-	26.46	coklat	26.46	kuning

Lampiran 13.

Tabel hRf ekstrak bensen dari serbuk yang telah diawetkan. Fasa diam digunakan Poliamid 11 F 254. Fasa gerak digunakan metanol:asam asetat:air(90:5:5). Pendeteksi visual U.V. 366 nm dan U.V. 254 nm

Visual		U.V. 366 nm		U.V. 254 nm	
hRf	Warna	hRf	Warna	hRf	Warna
		76.94	kuning	76.94	pemadaman
		67.62	kuning	67.62	pemadaman
		52.92	kuning	52.92	pemadaman
		41.16	kuning	41.16	pemadaman
		29.40	kuning	29.40	pemadaman
17.64	kuning	17.64	kuning fluoresc	17.64	kuning

Lampiran 14.

Tabel KLT bidimensi, fasa diam selulosa, fasa gerak TBA dan HOAc. Ekstrak etanol, jumlah bercak, hRf dan warna setelah pemberian pereagen diagnostik

hRf		Deteksi/warna				Kemungkinan golongan flavonoid.
TBA	HOAc	UV	basa	basa UV	AlCl ₃	
83,4	63,7	Bu	-	Bu	-	Bukan gol flavonoid. Flavanon tanpa 5-OH bebas.
80,2	15,9	Kl	K	K	-	

Lampiran 14. lanjutan

87,0	3.8	Kh	K	K	-	Auron aglikon tanpa 4-OH bebas atau aglikon flavonol dengan 3-OH bebas dan dengan atau tanpa 5-OH bebas
------	-----	----	---	---	---	---

Fraksi eter dari ekstrak etanol. Jumlah bercak, hRf dan warna setelah pemberian pereagen diagnostik

hRf		Deteksi				Kemungkinan golongan flavonoid.
TBA	HOAc	UV	basa	basa UV	AlCl ₃	
82,4	62,7	Bu	-	Bu	-	bukan golongan flavonoid.
80,0	16,4	Kl	K	K	-	Flavanon tanpa 5-OH bebas.
85.9	4,0	Kh	K	K	-	Auron aglikon tanpa 4-OH bebas atau flavonol aglikon dengan 3-OH bebas dan dengan atau tanpa 5-OH bebas

Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol setelah difraksi dengan eter. Jumlah bercak, hRf dan warna setelah pemberian pereagen diagnostik

hRf		Deteksi				Kemungkinan golongan flavonoid
TBA	HOAc	UV	basa	basa UV	AlCl ₃	
83,8	63,5	Bu	-	Bu	-	Bukan golongan flavonoid.

Keterangan:

- Bu : Biru ungu.
- Kl : Kuning lemah.
- K : Kuning.
- Kh : Kuning hijau.

Lampiran 15.

Tabel hasil analisis komponen minyak atsiri *Zingiber purpureum* oleh Brian.M.Lawrence et al. (1970). Kolom kapiler FFAP 100 feet, dari rimpang berasal dari Thailand

Senyawa	%
alfa-pinen	2.5
kampen	0.1
beta-pinen	2.1
sabinen	33.4
mirsen	1.6
alfa-terpinen	4.8
limonen	0.7
1,8-sineol	1.1
gamma terpinen	9.0
para-simen	2.1
trans-sabinen hidrat	0.6
terpinolen	2.1
cis-sabinen hidrat	0.5
cis-para-ment-2-en-1-ol	0.7
terpinen-4-ol	33.3
trans-para-ment-2-en-1-ol dan terpinen-4-il asetat	0.5
alfa terpineol dan alfa terpinil asetat	0.4
cis-piperitol	0.2
tidak diketahui	4.3

Tetapan alami minyak pada 20°C : n = 1,489
 BJ = 0,894
 [α] = -33,36°

Lampiran 16.

Tabel hasil analisis GLC komponen minyak atsiri *Zingiber purpureum* oleh T.E. Cassey et al. (1971). Kolom SE30, 6 feet; asal rimpang Thailand.

Dari 26 komponen yang ditemukan dapat diidentifikasi 10 komponen

Senyawa	%
alfa-pinen	
beta-pinen	
sabinen	
mirsen	
alfa terpinen	

Lampiran 16.lanjutan

limonen	
terpinen	
para simen	
terpinolen	
terpinen-4-ol	35%

Tetapan alami minyak menurut British Standard 2073.1962.

$$n = 1,489$$

$$BJ = 0,895$$

$$[\alpha] = -33,2^{\circ}$$

Lampiran 17.

Tabel Rt dan kadar komponen, hasil analisis kromatogram KGC minyak atsiri *Z.purpureum*, kolom OV-17,3m,FID,Hitachi

Nomor puncak	Waktu retensi Rt(menit)	Luas puncak	Kadar (%)
1.	2,24	23067	0,564
2.	2,75	657502	16,067*
3.	3,50	403676	9,685
4.	3,72	38532	0,948
5.	4,10	31491	0,769
6.	4,68	22397	0,547
7.	4,97	10399	0,254
8.	5,38	7905	0,193
9.	6,35	12663317	30,945**
10.	6,49	44548	1,089
11.	6,66	25959	0,634
12.	7,67	4799	0,117
13.	8,81	39002	0,953
14.	10,92	140857	3,443
15.	11,45	202196	4,941
16.	11,75	7958	0,194
17.	12,27	26929	0,658
18.	12,58	8242	0,201
19.	13,18	52947	1,294
20.	13,92	16803	0,411
21.	14,72	396411	9,631
22.	15,88	625831	15,293
23.	16,71	11073	0,271
24.	17,54	8162	0,199
25.	18,52	9659	0,236
26.	18,77	9534	0,233
jumlah		4092196	99,770

* sabinen. ** terpinen-4-ol

Lampiran 18.

Tabel Potensi relatif (PR) Ekstrak PE dan Ekstrak MeOH terhadap piperasin sitrat

LD50 PS (mg%)	LD50 Ekstr. PE (mg%)	PR Ekstr. PE (%)	LD50 Ekstr. MeOH (mg%)	PR Ekstr. MeOH (%)
263,6331	131,8682	199,9216	263,6331	100,0000
199,8020	131,8682	151,5164	302,9005	65,9625
263,6938	114,7889	229,7206	302,9005	89,0562
173,9322	114,7889	151,5235	347,9365	49,9896
229,5620	114,7889	151,5304	302,9365	75,7879
		176,8425 ±36,24		75,7593 ±19,20

Uji t

	PR Ekstr. PE	PR Ekstr. MeOH
Rerata	176,8425	75,7593
SD	36,2350	19,2047
N	5	5
B	101,0832	
SEB	18,3401	
T : 5,5116*	DF : 8	

T tabel : 1,860 DF:8 P:0.05

Lampiran 19.

Tabel Potensi relatif (PR) minyak atsiri dan residu terhadap piperasin sitrat (PS)

LD50 PS (mg%)	LD50 Residu (mg%)	PR Residu (%)	LD50 M.atsiri (mg%)	PR M.atsiri (%)
173,7801	263,6331	65,9174	114,7889	151,3910
199,8021	302,9005	65,9629	99,9309	199,9402
199,8021	347,9365	57,4248	99,9309	199,9402
263,6331	347,9365	75,7704	86,9961	303,0401
173,7801	302,9005	57,3720	114,7889	151,3910
		64,4895 ±7,6164		201,1405 ±51,2350

Uji t.

	PR M.atsiri	PR Residu
Rerata	201,1405	64,4895
SD	61,9202	7,6164
B		136,6510
SEB		27,9002
T : 4,8978*		DF:8

T tabel : 1,860 DF:8 P:0,05

Lampiran 20.

Orientasi eluen untuk KK dengan cara KLT untuk fraksinasi fraksi II

KLT dilakukan terhadap fraksi II hasil prafraksinasi ulang residu, pada suhu 60^o-70^oC. Pemisahan cukup baik di peroleh dengan pengembangan berturut-turut pada fasa diam silika gel GF254 dengan heksana, campuran heksana : e ter(1:1).

Tabel hRf dan warna bercak pemisahan Fraksi II hasil pre fraksinasi ulang residu pada suhu 60-70^oC

UV 254 nm	Anisaldehyd-H ₂ SO ₄ 110 ^o C, 10 ⁷	hR _f
-	oranye, lemah	21,2
-	oranye, lemah	32,9
+/-	merah - ungu, sangat kuat	50,6
-	ungu - hitam, lemah	75,3
	Dasar : putih	

Analisis hasil hRf:

Bercak 2 dan 3 :

$$r = hRf_3 : (hRf_2 + 0,1 \times hRf_3) = 50,6 : (32,9 + 5,6)$$

$$= 1,33 \text{ ---- } r > 1, \text{ berarti dapat dipisahkan dengan kromatografi kolom.}$$

Bercak 3 dan 4 :

$$r = hRf_4 : (hRf_3 + 0,1 \times hRf_4) = 75,3 : (50,6 + 7,53)$$

$$= 1,30 \text{ ---- } r > 1, \text{ berarti dapat dipisahkan dengan kromatografi kolom.}$$

Lampiran 21.

Tabel waktu retensi dan kadar* komponen, hasil analisis KGC, dengan kolom OV-17, 3m, FID, Hitachi, dari fraksi sabinen dan fraksi terpinen-4-ol

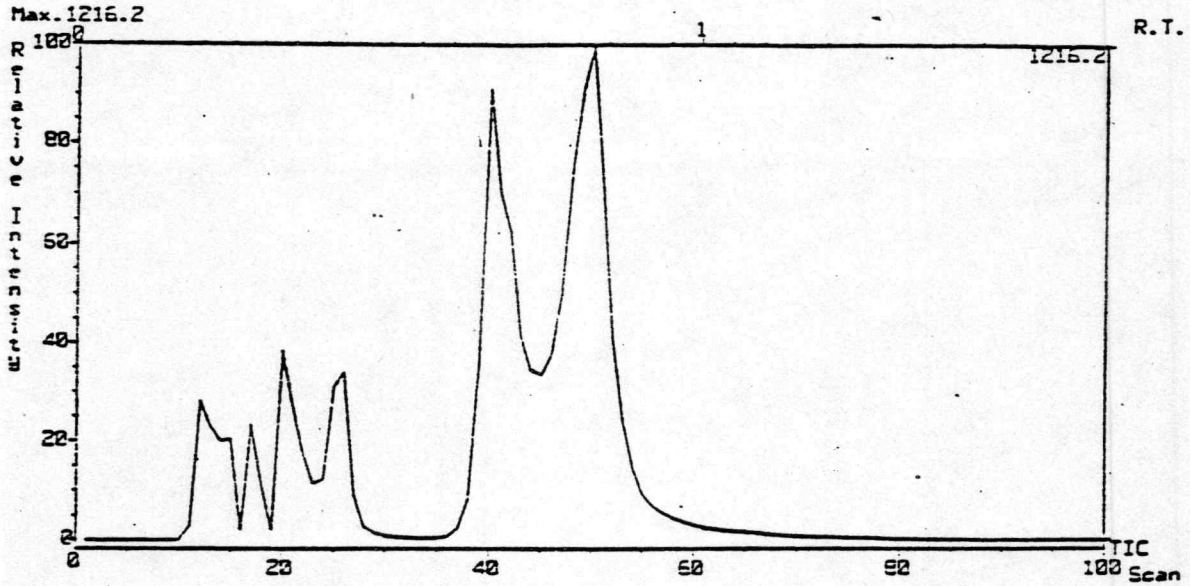
Fraksi	Komponen	Rt (menit)	Luas puncak	Kadar (%)
Fraksi sabinen	1	22,10	301546	6,044
	2**	2,88	4196158	84,111
	3	3,08	182412	3,656
	4	3,26	144421	2,895
	5	3,56	79664	1,597
	(5 komponen)		4627	1,695
Jumlah	10		4988828	99,998
Fraksi terpinen- 4-ol	1	4,32	255773	3,057
	2	4,53	173082	2,069
	3	5,06	121822	1,456
	4***	6,94	7759562	92,739
	(3 komponen lain)		56813	0,678
Jumlah	7		8367052	99,514

* Tidak diperhitungkan kadar komponen < 0,050%

** sabinen ; *** terpinen-4-ol

Lampiran 22.

Kromatogram gas, penapisan dan spektra massa Fraksi sabinen



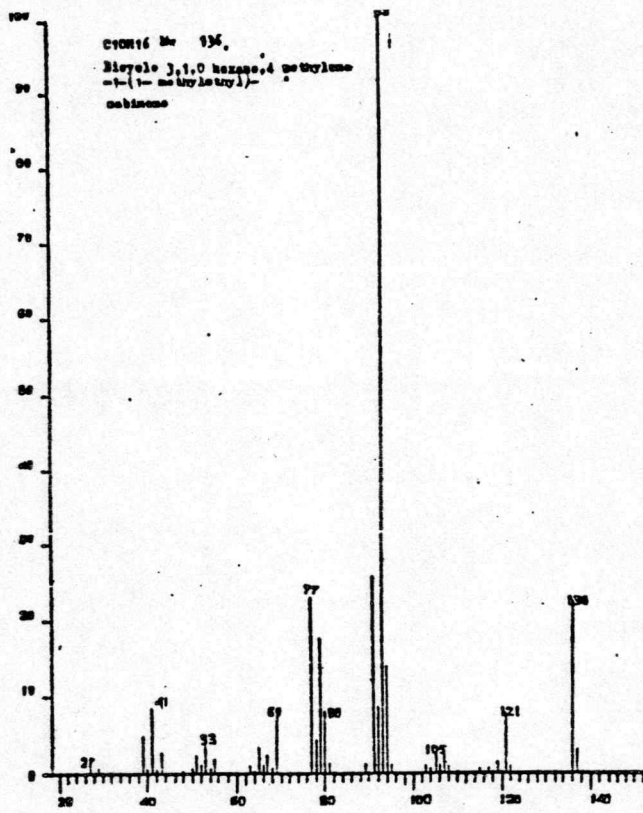
Gambar kromatogram gas Fraksi sabinen, kolom OV-1

Penapisan fraksi sabinen (sampel 2).

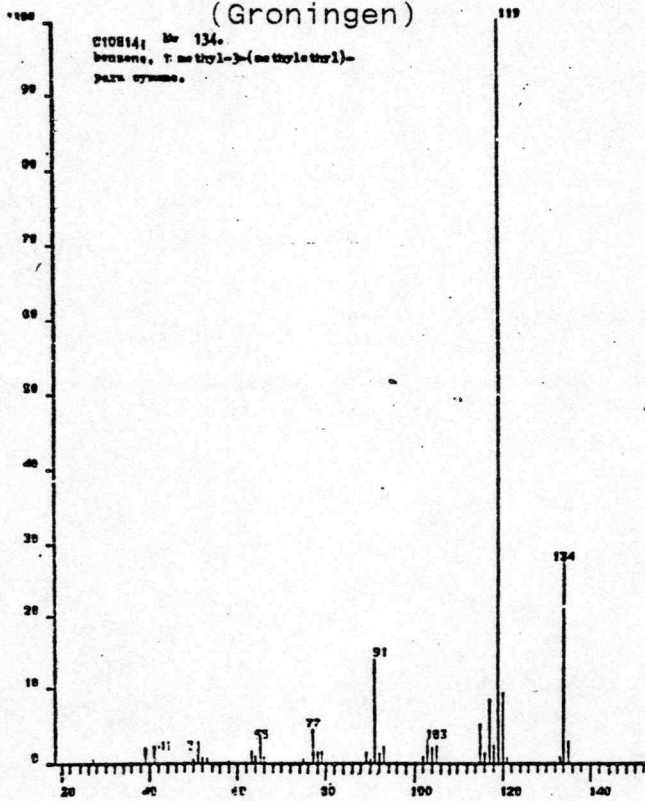
Kondisi : Kolom OV-1. Suhu kolom 100-150°C
 Kenaikan suhu 8°C/menit
 Kecepatan gas 20 ml/menit
 Arus ionisasi 300 VA. Ionisasi 25 Volt

Scan	Td	Bm(Me)
12	58	59
15	83	83
57	70	165
20	70	134
40	94	136
50	94	136

Lampiran 22 lanjutan



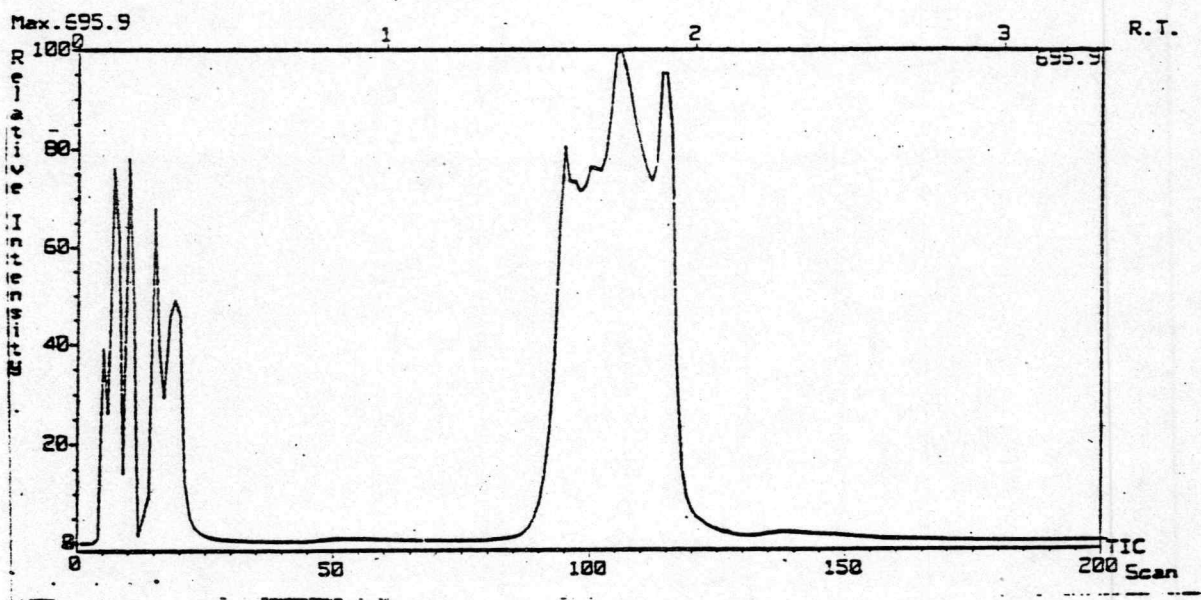
Spektra massa sabinen
(Groningen)



Spektra massa p-simen
(Groningen)

Lampiran 23.

Kromatogram gas, penapisan dan spektra massa Fraksi ter-
pinen-4-ol.



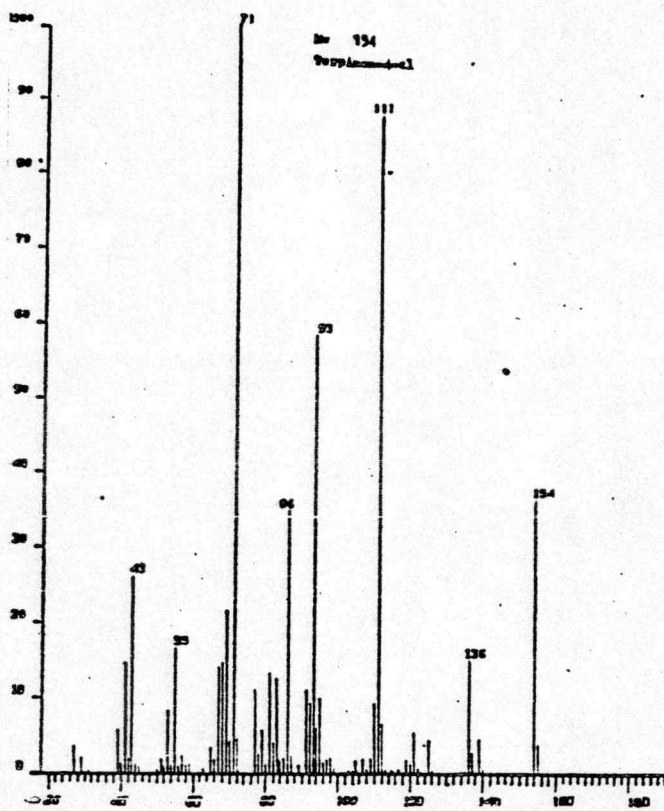
Gambar kromatogram gas Fraksi terpinen-4-ol, kolom OV-1

Penapisan fraksi terpinen-4-ol (sampel 3).

Kondisi : Suhu kolom 100-150°C.
Kenaikan suhu 8°C/menit
Kecepatan gas 20 ml/ menit.
Arus ionisasi 300VA. Ionisasi 25 Volt.

Scan	Td	Bm/Me
5	86	86
7	60	120
10	85	86
15	84	96
20	86	86
95	111	154
106	111	154
114	111	154

Lampiran 23 lanjutan



Spektra massa dari terpinen-4-ol
(Groningen)

Lampiran 24.

Tabel Potensi relatif (PR) Fraksi terpinen-4-ol (FTPOL)
dan Fraksi sabinen (FSAB) terhadap piperasin sitrat (PS)

LD50 PS (mg%)	LD50 FTPOL (mg%)	PR FTPOL (%)	LD50 FSAB (mg%)	PR FSAB (%)
263,6331	57,4116	459,1983	131,8682	199,9216
229,5092	65,9326	348,0966	151,4956	151,4956
229,5092	65,9326	348,0966	131,8682	174,0443
199,8021	57,4116	348,0169	151,4956	131,8864
199,8021	57,4116	348,0169	114,7889	174,0604

370,2861
+49,7040

166,2816
+25,7589

Lampiran 24 lanjutan

Uji t

Fraksi terpinen-4-ol Fraksi sabinen

Rerata	370,2851	166,2817
SD	49,7040	25,0360
B	204,0034	
SEB	25,0360	
T : 8,1484*	DF : 8	

T tabel : 1,860 DF : 8 P: 0,05

Lampiran 25.

Orientasi jumlah rata-rata telur infeksi per-satu tetes suspensi telur

Jumlah tetesan	Jumlah telur
3	209
3	182
3	224
3	176
3	190
3	169
18	1150

1 tetes suspensi berisi +64 butir telur infeksi. Setiap anak ayam diinfeksi dengan 4 tetes suspensi telur

Lampiran 26.

Hasil orientasi bobot tinja per satuan Kato

Tabel hasil tara bobot tinja per satuan Kato

Bobot gelas obyek (g)	Bobot gelas obyek+tinja (g)	Bobot tinja (g)
4,2605	4,2915	0,0310
4,3124	4,3432	0,0308
4,1768	4,2049	0,0281
4,0456	4,0771	0,0315
3,9893	4,0183	0,0290
4,2355	4,2656	0,0301

0.1805

Bobot rata-rata tinja per satuan Kato 0,1805:6 =
0.0301 g. Jadi EPG = $1 / 0,0301 = 33,2 \times$ EPK.

Lampiran 27.

Orientasi waktu dan cara pemantauan EPG.

Tabel EPK dan EPG tinja/ hari dikumpulkan pada jam 09.00 12.00 dan 15.00, selama 3 hari, minggu ke-6 pasca penginfeksi. Infeksi dengan ± 250 telur

No. Ayam	Hari ke	Jam 09.00		Jam 12.00		Jam 15.00	
		EPK	EPG	EPK	EPG	EPK	EPG
1.	I	9	297	88	2904	30	990
2.		1	33	3	99	32	1056
3.		205	6787	121	3993	43	1419
4.		0	0	0	0	0	0
5.		135	4455	52	1716	389	12837
1.	II	29	957	82	2706	43	1518
2.		9	297	33	1089	12	396
3.		4	132	23	759	41	1353
4.		0	0	0	0	0	0
5.		78	2574	89	2937	51	1683
1.	III	85	2805	12	396	63	2079
2		37	1221	96	3168	25	825
3.		66	2178	32	1058	30	990
4.		0	0	0	0	0	0
5.		86	2838	25	825	67	2211

Tabel EPG tinja, dikumpulkan 1 hari, selama 7 hari, minggu ke-6 pasca penginfeksi. Infeksi dengan ± 250 telur

No. ayam	EPG pada minggu ke-6 pasca penginfeksi, hari ke-						
	1	2	3	4	5	6	7
1	265	594	462	561	231	1929	231
2	594	957	891	815	858	495	891
3	66	33	0	33	0	0	33
4	1155	429	693	330	891	495	231
5	726	660	990	1221	264	2046	264
6	132	231	198	693	495	396	462
7	99	132	196	330	198	825	396
8	759	528	924	693	528	1023	495
9	132	528	429	726	462	495	693
10	231	33	-	-	-	-	-

Ayam no. 10 mati.

Lampiran 27 lanjutan.

Tabel orientasi pemantauan EPK dan EPG, dilakukan mulai minggu ke-4 pasca penginfeksian terhadap tinja yang dikumpulkan 1 hari. Infeksi dengan ± 250 telur

Pemantauan	No. Ayam	E P K	E P G	
Minggu ke-4	1	0	0	
	2	0	0	
	3	0	0	
	4	0	0	
	5	0	0	
Minggu ke-5	1	0	0	
	2	2	66	
	3	0	0	
	4	1	33	
	5	0	0	
Minggu ke-6	1	0	0	
	2	3	99	
	3	5	165	
	4	1	33	
	5	8	264	
Minggu ke-7	1	88	2904	
	Hari ke-1	2	3	99
		3	121	3993
		4	8	264
		5	52	1716
Hari ke-2		1	30	990
	2	32	1056	
	3	42	1419	
	4	10	330	
	5	385	12837	
Hari ke-3	1	44	1452	
	2	6	198	
	3	10	330	
	4	10	330	
	5	295	9735	

BAB.VII.RINGKASAN.

Telah dilakukan isolasi, identifikasi dan uji daya antelmintik terhadap fraksi aktif antelmintik dari rimpang *Zingiber purpureum* Roxb, baik secara *in vitro* dengan cara rendaman maupun *in vivo* dengan cara Penurunan Jumlah Telur dan Uji Terkontrol. Digunakan cacing *Ascaridia galli* Schrank sebagai parasit dan ayam jenis pedaging AS 101 sebagai binatang laboratorium.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui golongan senyawa aktif antelmintik dan daya antelmintik bersangkutan, sebagai dasar pengembangan antelmintika bahan alam nabati.

Dari hasil penapisan fitokimia rimpang, ditemukan antara lain minyak atsiri, kurkuminoid dan flavonoid.

Dari hasil uji daya antelmintik *in vitro* perasan rimpang, ekstrak PE dan MeOH, minyak atsiri dan residu menunjukkan bahwa minyak atsiri mempunyai daya mematikan yang kuat terhadap *Ascaridia galli* yang digunakan sebagai cacing percobaan.

Potensi relatif terhadap piperasin sitrat dari perasan rimpang, ekstrak PE, ekstrak MeOH, minyak atsiri dan residu berturut-turut adalah $6,40\% \pm 0,53$, $176,84\% \pm 38,24,75$, $93\% \pm 19,20$, $201,14\% \pm 51,23$ dan $64,48\% \pm 7,61$.

Minyak atsiri yang diperoleh dengan cara destilasi ekstrak PE, merupakan minyak jernih kekuningan. Warna, bau dan beberapa tetapan alami minyak hasil pemisahan sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya (Cassey, *et al*, 1972; Lawrence, *et al*, 1970).

Pemisahan komponen minyak atsiri dengan cara KGC, menggunakan kolom kapiler FFAP 85m x 0,5mm, menghasilkan lebih kurang 42 komponen, diantaranya sabinen 21,6%, terpinen-4-ol 37,7%, seskuifelandren 6,7%, trans-1(3,4-dimetoksifenil)but-1-en 7,59% dan trans-1(3,4-dimetoksifenil)but-1,3-dien 15,1%.

Analisis komponen minyak dengan cara KGC pada minyak hasil pemisahan ditemukan beberapa komponen yang belum ditemukan peneliti sebelumnya (Cassey, *et al*, 1972 dan Lawrence, *et al*, 1970), diantaranya zingiberen, beta-bisabolen, seskui-felandren dan 3, 4 -dimetoksi-benzal-dehida.

Prafraksinasi minyak atsiri cara destilasi fraksi pada suhu 65^o-75^oC (35 mm Hg) menghasilkan Fraksi sabinen dan residu. Prafraksinasi ulang Fraksi sabinen pada suhu 35^o-45^oC (10 mm Hg) menghasilkan Fraksi sabinen dengan kadar sabinen 84,11%.

Dari prafraksinasi residu pada suhu 62,5^o-70^oC (10 mm Hg) dihasilkan Fraksi terpinen- 4-ol, yang dengan fraksinasi kolom selanjutnya menghasilkan Fraksi terpinen-4-ol dengan kadar terpinen-4-ol 92,23%. Fraksinasi

kolom dilakukan dengan silikagel 60 netral (70-230 ASTM) panjang 1500 mm dan d.d. 20 mm sebagai fasa diam, dan heksana, heksana:dietil-eter (1:1) dan dietil-eter berturut-turut sebagai eluen.

Telah dilakukan uji daya antelmintik *in vitro* dan *in vivo* terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol.

Uji daya antelmintik *in vitro* terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol, menunjukkan bahwa Fraksi terpinen-4-ol mempunyai daya mematikan cacing terkuat.

Potensi relatif terhadap piperasin sitrat minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol berturut-turut $201,14\% \pm 51,23$, $166,28\% \pm 25,75$ dan $370,28\% \pm 49,70$.

Uji daya antelmintik *in vivo* cara Penurunan Jumlah Telur telah dilakukan terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol masing-masing dengan dosis 100 dan 300 mg per ayam. Analisis kovarian dan varian terhadap data EPG menunjukkan bahwa Fraksi terpinen-4-ol dengan dosis 300 mg per ayam cenderung memberikan respon yang diharap.

Uji daya antelmintik *in vivo* cara Uji Terkontrol terhadap minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol masing-masing dilakukan dengan pemberian dosis 300 dan 500 mg per ayam. Efek mematikan terhadap cacing *in vivo*

dari minyak atsiri, Fraksi terpinen-4-ol dan sabinen dengan dosis masing-masing 500 mg per ayam cukup tinggi yaitu 80,10, 87,40 dan 62,00%.

Terlihat bahwa hasil uji daya antelmintik minyak atsiri, Fraksi sabinen dan terpinen-4-ol *in vivo* baik dengan cara Penurunan Jumlah Telur maupun Uji Terkontrol, sesuai dengan hasil uji daya antelmintik *in vitro* dengan cara rendaman.

SUMMARY

Isolation, fractionation, identification and anthelmintic activity test had been done to investigate the anthelmintic active fraction of the *Zingiber purpureum* rhizome aimed to develop anthelmintics from natural products.

Phytochemical screening of the rhizome indicated that volatile oil, curcuminoid and flavonoid seems to be the main constituents.

The in vitro anthelmintic activity test on the rhizomes juice, petroleum etheric and methanolic extracts showed that the oil possessed high activity in killing *Ascaridia galli* used as laboratory test parasite. The relative potency of the juice, PE and MeOH extract were respectively $6,40\% \pm 0,53$, $176,84\% \pm 38,24$ and $75.93\% \pm 19,20$.

Separation of the volatile oil components by means of GLC on FFAP capillary column, indicated at least 42 components, amongst them were sabinene 21.6 %, terpinene-4-ol 37.7 %, sesqui-phellandrene 6.7 %, trans-1(3,4-dimethoxyphenyl)but-1-ene 7.59 % and trans-1(dimethoxyphenyl)but-1,3-diene 15.1 %.

Pre-fractionation of the oil by means of distillation under reduced pressure, further re-fractionation

and column fractionation of the obtained fraction, yielded sabinene and terpinene-4-ol fraction with a quite high percentage. Re-prefractionation at 35-45°C (10 mm Hg) of the sabinene fraction yielded sabinene fraction containing 84.11% sabinene; and column fractionation of the terpinene-4-ol fraction on neutralized silica gel 60 column (70-230 mesh ASTM), i.d. 20 mm and 1500 mm in length, using hexane, hexane : diethyl-ether(1:1) and diethyl-ether in succession as eluents, yielded terpinene-4-ol containing 92.23% terpinene-4-ol.

Anthelmintic activity test both in vitro and in vivo had been done on the oil, sabinene and terpinene-4-ol fractions. In vitro anthelmintic activity test on the oil, sabinene and terpinene-4-ol fractions showed that terpinene-4-ol fraction had the strongest activity, followed by the oil and sabinene fraction.

The relative potency of the volatile oil, sabinene and terpinene-4-ol fraction were 201,14% \pm 51,23, 166,28% \pm 25,75 and 370,28% \pm 49,70.

In vivo anthelmintic activity test, according to the decreasing egg count test method had been done on the oil, sabinene and terpinene-4-ol fractions with a dose of 100 and 300 mg per chicken. The analysis of covariance and split plot on the result data obtained by the test showed that terpinene-4-ol fraction with a dose of 300 mg per chicken tended to give the expected respons.

In vivo anthelmintic activity test according to the CT method had been done on the same substance with an increased dose, respectively 300 and 500 mg per chicken. The analysis of variance on the percentage of the amount of worms per treatment and the analysis on the difference of means of the decreasing amount of worms between treatments according to the Tukey test, showed that the treatment with the oil and terpinene-4-ol fraction at a dose of 500 mg showed a significant difference comparing with the other means of decreasing amount of worms obtained by the treatment with the oil at 300 mg, terpinene-4-ol fraction at 300 mg and sabinene fraction both at 300 and 500 mg.

The killing activity on worms in vivo of the volatile oil, terpinene-4-ol and sabinene fraction at a dose of 500 mg per chicken were respectively 80.10, 87.40 and 62.00%

DAFTAR PUSTAKA

- Farmakope Indonesia* (1979), Ed. III. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Materia Medika Indonesia* (1977), Jilid I. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Materia Medika Indonesia* (1979), Jilid III. Departemen Kesehatan RI. Jakarta, hal 135, 137, 138, 141, 142, 168 dan 189.
- Pemanfaatan tanaman obat* (1980), Jilid I. Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal 40, 49, 60, 64, 66 dan 77.
- Tanaman Obat Indonesia* (1985), Jilid I. Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal. 52.
- AMA Drugs Evaluations* (1980), 19th Ed. The American Medical Associations, AMA Department of Drugs, Chicago, USA.
- Martindale. The Extra Pharmacopoeia* (1977), 28th Ed. Edit. James E.T, Reynold.C. The Pharmaceutical Press, London.
- Handbook of Non-prescription drugs* (1986), 8th Ed., American Pharmaceutical Association, The National Professional Society of Pharmacist, Arcata Publishing Co., Washington, USA.
- Anonim, (1858), *Kawroeh Bab Jampi Jawi*, Sasono Pustoko, Su rakarta, 193.
- Anonim, (1986), News Report, *Chinese Pharmaceutiical Bulletin*, 21, 37.
- Anonim, (1978), Report of the Technical Consultation in Production of Drugs from Medicinal Plants in Developing Countries, *UNIDO*, Lucknow. India, 12-16.
- Abayomi Sofowora, (1980), The present studies of knowledge of the plants used in traditional medicine in Western Afrika. A medical approach and a chemical evaluation. *J. of Ethnopharmacology*, 2, 109-118.
- Agarwal, R., (1979), Antimicrobial and anthelmintic of the essential oil of *Nigella sativa* linn., *Indian J. Exp. Biol*, 17 (11), 1264-1265.

- Anwar, J. dan Sutarto (1975), *Priority Research on Traditional Drug in Indonesia*, Department of Pharmacology, University of North Sumatra, Medan.
- Backer, C.A. and Bakhuizen Van den Brink, R.C. (1963), *Flora of Java* (Spermatophyte only), III, Wolters Noordhoff, N.V. Groningen. The Netherlands, 42-44.
- Baerheim Svendsen, A. dan Scheffer, J.J.C. (1982), Natural products in therapy. *Pharmaceutisch Weekblad*, Scient. Ed. 4(4), 93-116.
- Birch, A.J., (1984), Some Scientific and Social Implication of Research and Natural Products. *Impact of Science on society Unesco*, no.136, 321-326.
- Byung Zun Ahn et al., (1982a), Anthelmintically active Natural Products on *Clonorchis sinensis*, *Asia Journal of Pharmacy*, 4, (6) 64.
- Byung Zun Ahn dan Sung Ho Ryu (1982b). Das anthelmintische Wirkprinzip von *Machillus thunbergii* gegen *Clonorchis sinensis*, *Arch. Pharm.* (Weinheim), 315 (10), 894-895.
- Casey, T.E., Dougan, J., Matthews, W.S., Nabney, J. (1972), Essential oil of "Phlai", *Zingiber cassumunar* Roxb. from Thailand. *Tropical Science*, vol XIII, number 3 199-203.
- Claus, E.P., (1970), *Pharmacognosy*, 6th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Cooper, W.J., (1980). *Spectroscopic Techniques for Organic Chemists*, John Wiley & Sons. New York, Brisbane, 249-300.
- Croteau, R. dan Ronald, R.C., (1983), Terpenoids dalam *Chromatography, Fundamental and Applications: Part B*. Elsevier, Amsterdam, 147-190.
- Dastur, (1970), *Medicinal Plants of India and Pakistan* 3rd Ed, Tarapolevala, Sons & Co, Private Ltd, Bombay.
- Dirdjosudjono, S. dan Taroeno, (1975), Efek perasan temu ireng terhadap askaris babi in vitro dan kontraksi jejunum kelinci terpisah, *Simposium Penelitian Tanaman Obat I*. Bogor
- Duwel, D. (1975), Laboratory Methods in The Screening of Anthelmintics. *Fortschritt Arzneimittelforschung*, 19, 49-63.

- Eckers, C., Games, D.E., Lewis, E., Rao, K.R.N., Rooster, M., Weerasinghe, N.C.A., (1980), Studies on Natural Products and Pesticides and their metabolites by LC/MS and other MS methods. In *Quale A Ed Advances in Mass spectrometry*, 8, London, Heiden, 1396-1381.
- Elmer, R., (1961), The Biology of Animal Parasites in *Parasitology*, Lea and Febiger, Philadelphia, 20-21.
- Fairbairn, D., (1957), The biochemistry of *Ascaris*, Parasitological review Section, *Experimental Parasitology*, 6, 419 - 554.
- Farnsworth, N.R., (1966), Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J. Pharm. Sci.* 55 (3) 242-260.
- Farnsworth, N.R., (1973), Importance of Secondary Plant Constituents as Drugs, in *Phytochemistry* (Miller, L.P.) Vol III. Von Nostrand, Reinhold Co. New York.
- Faddens, Mc.W.H., Bradford, D.C., Games, D.E., Gower, J.L., (1977), *Applications of Combined Liquid Chromatography Mass spectrometry*. American Laboratory, 55.
- Fong, H.S. and Farnsworth, N.R., (1966), *Phytochemical Screening*. Department of Pharmacognosy and Pharmacology, Illinois, Chicago, 45, 35-40.
- Frei, R.W., (1980), Einsatzmöglichkeiten der HPLC zur Analytik von Naturstoffen. *Journal Medicinal Plant Research Planta Medica*, 38 (1), 1-17.
- Games, D.E., (1981), Combined HPLC / MS. *Biomed Mass spectrum*, 8, 454.
- Games, D.E., (1984), Combined LC / MS and its utility of natural products. *Pharmaceutisch Weekblad*, 119, 30-32.
- Gaind, K.N. dan Budhiraja, R.D., (1967), Antibacterial and anthelmintic activity of *Withania coagulans*, *The Indian Journal of Pharmacy*, 29 (6), 185-186.
- Goran, S. and Ehrson, H., (1978), *Separation Methods for Drugs and Related Organic Compounds*, 2nd Ed, Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm.
- Gunawan, D., Sugihardjo, C.J., Muljani, Koensoemardiyah. *Empon-empon dan tanaman lain dalam Zingiberaceae*. (1983), Perhipba, Kom. Yogyakarta.
- Guenther, E., (1975), *The Essential Oil*, Vol.V. Robert.E. Krieger. Publish. Co. Huntington, New York, Melbourne, 86 - 129..

- Hansen, M.F., Olson, L.J., Ackert, J.E., (1954), Improved Techniques for Culturing and Administating Ascaris eggs to Experimental Chickens, *Experimental Parasitology*, 3, 464-473.
- Hardjono, S. dan Nagel, (1979), *Kromatografi Gas*, Fakultas Ilmu Pasti dan Alam. UGM Yogyakarta, 1-6.
- Hardjono, S., (1985), *Kromatografi*, Jilid I, Liberty, Yogyakarta, 24.
- Harborne, J.B., (1984), *Phytochemical methods* 2nd Ed. Chapman and Hall, London, 1-35.
- Hauschild, F. (1956), *Pharmakologie der Atherische Ole* dalam Die Atherische Ole, Gildemeister, E., Hoffmann, Berlin, Akademie Press, Band I ed IV, 587-588.
- Haus Schott, (1980), Colloidal dispersions, dalam *Remington Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co. Pennsylvania, 266-293.
- He, Y.S., Chen, K.J., Qian, Z.H., Ma, H.M., Lei, S.P., (1984), The effect of tetramethyl pyrazine on patients with coronary heart disease. *Chinese Journal of Integrated Medicine*, 4, 586.
- Hegnauer, R., (1963), *Chemotaxonomie der Pflanzen* II, Birkhausen Verlag, Basel und Stuttgart. 451.
- Heinz Engelhardt, (1979), *High Performance Liquid Chromatography*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 222-230.
- Heller, S.R. dan Milne, G.V.A., (1973), *Mass Spectral Data Base*, US Department of Commerce.
- Heyne, K., (1950a), *De Nuttige Planten van Indonesie*, Deel I, N.V. Uitgeverij W van Hoeve 's Gravenhage, Bandung, 479.
- Heyne, K., (1950b), *De Nuttige Planten van Indonesie*, Deel I, N.V. Uitgeverij W van Hoeve 's Gravenhage, Bandung, 473-504.
- Ikan, R., (1969), *Natural Products, a Laboratory Guide*, Academic Press, London, New York, 137-159.
- Ikawiani, H., Supatmiyati, Y., Soleh, M., Maolana, S.Y. (1987), *Penapisan Fitokimia tumbuh-tumbuhan di Jawa Barat, suatu usaha inventarisasi produk alami bioaktif*, Seminar Nasional Produk Alami Bioaktif, Bandung, 56 - 58.

- Jae Ku Rhee dan Byung Zun Ahn, (1983), The wormicidal substances of fresh water fishes, *The Korean Journal of Parasitology*, 21 (1), 21-26.
- Jae Ku Rhee, Kee Yeon Woo, Byung Kirl Baek, Byung Zun Ahn, (1982), Screening of the Wormicidal Chinese Drugs on *Clonorchis sinensis*, *American Journal of Chinese Medicine*, 9 (4), 277-284.
- Janssen, A.M., Scheffer, C.C.J. and Baerheim Svendsen, A., (1987), Antimicrobial activities of essential oils. A 1976-1986 literature review on possible application. *Pharmaceutisch Weekblad, Sci.Ed.*, 9.193-197.
- Janssen, A.M., Scheffer, C.C.J., Baerheim Svendsen, A. and Aynehchi, J. (1984), The Essential oil of *Ducroisia anethifolia* (DC) Bois. Chemical composition and antimicrobial activity. *Pharmaceutisch Weekblad, Sci.Ed.* 6, 157 - 159.
- Kaleyswaraj, K. dan Kurup, P.A., (1962), Investigation on the anthelmintic principle of *Butea frondosa* seeds, *The Indian Journal of Pharmacy*, 24, (3), 63-65.
- Karsten, G. und Weber, U. (1956). *Lehrbuch der Pharmakognosie für Hochschulen*, Gustav Fischer, Stuttgart.
- Kloppenburg-Versteegh, J., (1934), *Wenken en raadgeven betreffende het gebruik van Indische planten, vrucht en enz.* NV uitgeverij van Hoeve 's Gravenhage, Bandung.
- Koedam, W.A.P.A., (1980), *Comparative Study of Isolation Procedures for Essential Oils. Hydrodistillation versus Solvent Extraction*, Proefschrift. Rijks Universiteit. Leiden.
- Komiya, Y. dan Kobayashi, A., (1966), Evaluation of Kato's Thick-smear Technic with a cellophane cover for helminth eggs in faeces, *Japanese Journal of Parasitology* 19, 59-64.
- Koji Nakanishi, Toshio Goto, Sho Ito, Shinshatsu Natori, Shigeo Nozoe, (1974), *Natural Product Chemistry*, Vol I, Academic Press inc., New York. London, 4-10.
- Kubeczka, K.H., (1979), Possibilities of quality determination of essential oil which are used in medicine dalam *Vorkommen und Analytik Aetherischen Ole*, George Thieme Verlag, Stuttgart. 60-64.
- Lamson, P.D., (1935), Methods of Testing the Anthelmintic Properties of Ascaricides. *American Journal of Hygiene*, 23, 15-49.

- Lauw Ing Liat, (1967), *Mengenal dan mengobati berbagai penyakit*, Kinta, Jakarta.
- Lauwrence, B.M., Hogg, J.W., Terhune, S.J., (1970), *Das atherische Öl von Zingiber cassumunar Roxb., Reichstoffe Aromen Körperpflegemittel*, 20 (7), 261-162.
- Levin, N.D., (1968), *Nematoda Parasites of Domestic animal and man*, Burgers Publ. Co., 324-325, 359-365.
- Lily, M.P., (1980), *Medicinal plants of East and South East Asia. Attributed properties and uses*, The Mitt Press, Cambridge, Manchester and London, England. 443.
- Liu, Y.Z., Wang, R.J., Zhao, G.X., Liu, S.Y., Wang, X.Z., Ma, S.Q., Sin, Q.Y. (1984), *The effect of Qingxintong on exercise ECG mapping and cardiac function in patients with angina in effect*, *Chinese Journal of Integrated Medicine*, 4, 262.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., Thomas M, B. (1975), *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer Verlag, Berlin New York, 13-26.
- Maiti, P.C., (1968), *Phytochemical Screening*, *Bull. Bot. Survey, India* 10 (2), 111-122.
- Malone, M.H., (1981), *dalam Proc 7th symposium Pharmakognosie 1980* uitgeverij Vrije Universiteit. Brussel, 3.
- Mardisiswojo, S. dan Radjak, M.H. (1968), *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang*, cetakan ke 2, 109-115. PT Karya Wreda, Jakarta.
- Maria, A., (1980), *Rancangan percobaan dan Analisa Statistik*, Bagian I, *Bagian Penelitian Ternak Fakultas Peternakan UGM*, 5-50.
- Maria, A., (1981), *Statistik*, *Bagian Pemuliaan Ternak*, Fakultas Peternakan UGM, Yogyakarta, 67-73.
- Marini, B., Nicoletti, M., Patamia, M., Gullefi, C., Messana, G. (1981). *Plant screening by chemical and chromatographic procedures under field condition*, *Journal Chromatography*, Scientific Publishing Co, Amsterdam, 218, 113-127.
- Martin, L.K., and Beaver, P.C., (1968). *Evaluation of Kato's thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections*. *American Journal Tropical Med. Hyg.*, 17(3) 382-391.

- Morgan, B.B. dan Hawkings, P.A., (1953), *Veterinary Helminatology*, 3rd Ed, M. Burger & Publ Co, 283-285.
- Moskey, H.E. and Harwood, P.D., (1941), Methods of evaluating the efficacy of anthelmintics, *American Journal of Vet. Res.*, Jan, 55-59.
- Nakanishi, K., (1982), Recent Studies on Bioactive Compounds From Plants, *Journal of Natural Products*, 45,(1), 15.
- Noerhayati, S., (1978), *Beberapa segi infeksi cacing tambang di Yogyakarta, Indonesia*, Disertasi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Nugroho. (1983), Penyakit Ayam di Indonesia, II, Eka Offset, Semarang, 46-51.
- Olsen, O.W., (1962), *Animal Parasites, their biology and life cycles*, Burgees Publishing Company, Minneapolis, Minnesota, 278-281.
- Panjaitan, P. (1975), *Survai sikap penduduk di Sumatra Utara terhadap obat dan pengobatan tradisional*, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UNSU, Kongres SEAWP, Yogyakarta.
- Paris, R.R., H. Moyses. (1976), *Pracis de Matiere Medicale*, Tome I, 2^e. edition, C. Masson, Paris, 7-8.
- Pellecuer, J. (1983), *Plantes Aromatiques et Medicament*, Forum Antaraksi Ilmiah, Jurusan Farmasi, FMIPA, ITB, Bandung.
- Perry, S.G., Amos, R., Brewer, P.I., (1972), *Practical Liquid Chromatography*, Plenum Press, New York, London.
- Pryde, A. dan Gilbert, M.T., (1979), *Applications of High Performance Liquid Chromatography*, Chapman and Hall, London, New York, 3-4.
- Randerath, K., (1966), *Thin Layer Chromatography*, Verlag Chemie GmbH, Wein Heins, Bergster, Academic Press, New York, London.
- Rasyaf, M., (1987). *Beternak ayam pedaging Seri Pertanian XI/109*. Penebar Swadaya, Jakarta, 70 - 74.
- Rumyon dan Haber, (1970), *Fundamental of Behavioral Statistics*, 2nd Ed, A. Wesley Publ. & Co, Los Angeles, California, 312, 220-224.
- Sastroamidjojo, S., (1967), *Obat Asli Indonesia*, PT Dian Rakyat, Jakarta, 76.

- Setiati, S., Brotonagoro, S., Sunartono, A., Sampurna, K., Kuswata, K., Rifai, M.A., Susono, S., Didin, S., Suyatmi, S., (1977), *Sumber Daya Hayati Indonesia*, Lembaga Biologi Nasional, LIPI, Bogor, 8.
- Scheffer, J.C.C., Koedam, A., Svendsen, A.B. (1976a), Occurrence and prevention of polymerization of some monoterpenic hydrocarbons from essential oils during LSC on silicagel, *Chromatographia*, 9, (9), 425-432.
- Scheffer, J.C.C., Koedam, A., Svendsen, A.B., (1976b), Analysis of Essential Oils by combined Liquid-Solid and Gas-Liquid Chromatography, Part I, Monoterpenes in the essential oil of *Anethum graveolens* L. *Pharmaceutisch Weekblad*, 111, 1309.
- Scheffer, J.C.C., Koedam, A., Schluser, I.W., Svendsen, A.B. (1977), Improved gas chromatographic analysis of naturally occurring oxygen containing monoterpenes following the prefractionation by LSC, *Chromatographia*, 10, 11, November.
- Schilcher, V.H., (1984), Atherische Ole, Wirkungen und Nebenwirkungen, *Deutsche Apotheker Zeitung*, 124 (29), 1433-1442.
- Silverstein, R.M., Clayton Bassler, G., Morrill, T.C., (1974), *Spectrometric Identification of organic compounds*, John Willey & Sons, New York.
- Smith, I., (1969), *Chromatographic and Electrophoretic Technique*, Vol I. 3rd Ed., William Heineman, Medical Book.
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J. (1979), *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. 2nd Ed. John Willey & Sons, New York.
- Soulsby, E.J., (1976), *Helminth's, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, 6th Ed, Balliere Tindall 7 Cassel Ltd, 166-168.
- Soediarto, Abisono, Sofyan Rusli, Fauzi Chairani. (1985) *30 Tahun Penelitian Tanaman Obat*, Pusat Perpustakaan Pertanian dan Biologi. Bogor. 3-11.
- Stahl, E., (1968), *Thin Layer Chromatography*, 2nd Ed. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 690-693.
- Steel, R.G.D. dan Torrie, J.H., (1980), *Principles and Procedures of Statistics*, 2nd Ed, Mc Graw-Hill, International Book Company, New York.

- Steenis, van C.G.G.J. Bloembergen, S., Eyma P, Y., (1975), *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, PT Pradnya Paramita, Jakarta Pusat, 164.
- Sticher, O., (1977), Plant mono, di and sequiterpenoids with pharmacological or therapeutical activity dalam H. Wagner. (Ed), *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological or Therapeutical Activity* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Stoll, N.R. and Hausheer, W.C., (1926), Accuracy in the detection egg counting method, *American J. Hyg.* 6 (1), 80-145.
- Supardi, R. (1967), *Apotik hijau*, Cetakan II. PT Purnawarna. Surakarta. 23.
- Sutrisno, R.B., (1966), *Ichtisar Farmakognosi*, Quartz, Jakarta, 39.
- Tan, H.T. dan Tjoa, K.K., (1970), *Obat-obat penting dan penggunaanya*, Ed 3, Schiedam-Jakarta, 180-186.
- Taroeno, Sumardijah, K., Sumarno. (1980), Daya antelmintik perasan, infusa dan minyak atsiri dari *Curcuma aeruginosae* rhizoma terhadap askaris babi in vitro, *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*, Yogyakarta.
- Ten Noever, M.C. Baernon, J.A.T., La Vois, C.V., (1980), *Compilation of the mass spectra of volatile compounds in food*.
- Wagner, H., and Sprinkmeyer, L., (1973), Uber die Pharmakologische Wirkung von Melissengeist, *Deutsch. Apoth. Zeitung.* (113), 1233-1239.
- Wagner, H. and Wolf, P. (1977), *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity* Spinger Verlag, Berlin.
- Wichtl, M., (1971), *Die Pharmacognostisch Chemische Analyze* Band 12, Akademische Verlag Geseelschaft, Frankfurt am Main.
- Yung Sie Kwack, Zung Hoo Ryu, Byung Zun Ahn, (1985), The anthelmintic principle of "O Mae", the roasted fruits of *Prunus mume* against *Clonorchis sinensis*, *Yakhak Hoeji*, The Pharmaceutical Society of Korea, 29 (1), 32-37.

LAMPIRAN

Lampiran 1.

Tumbuhan yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional di Indonesia

Nama tumbuhan	Bagian tumbuhan
1. <i>Allium sativum</i> L.	Umbi.
2. <i>Punica granatum</i> L.	Kulit batang, akar.
3. <i>Jatropha curcas</i> L.	Daun.
4. <i>Cocos nucifera</i> L.	Minyak daging buah.
5. <i>Cucurbita moschata</i> D.	Biji.
6. <i>Momordica charantia</i> L.	Daun.
7. <i>Carica papaya</i> L.	Akar.
8. <i>Curcuma heyneyana</i> V & v.Z.	Rimpang.
9. <i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.	Rimpang.
10. <i>Zingiber purpureum</i> Roxb.	Rimpang.
11. <i>Quisqualis indica</i> L.	Buah atau biji.
12. <i>Globa pendula</i> Roxb.	Rimpang.
13. <i>Hedychium coronarium</i> .	Rimpang.

Lampiran 2.

Tumbuhan suku *Zingiberaceae* yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional yang tumbuh di Indonesia

Nama tumbuhan	Bagian tumbuhan
1. <i>Curcuma heyneana</i> V & v.Z.	Rimpang.
2. <i>Curcuma aeruginosa</i> Roxb.	Rimpang.
3. <i>Curcuma longa</i> Auct.	Rimpang.
4. <i>Zingiber purpureum</i> Roxb.	Rimpang.
5. <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	Rimpang.
6. <i>Hedichium coronarium</i> L.	Rimpang.
7. <i>Globa pendula</i> Roxb.	Rimpang.

Lampiran 3.

Tumbuhan yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional di Afrika, Asia dan Afrika Selatan

Nama tumbuhan.	Bagian tumbuhan yang digunakan
1. <i>Asiacusoi d.a.moris.</i>	Tumbuhan segar.
2. <i>Artocarpus lakoloba.</i>	Kulit batang.
3. <i>Averrhoa carambola.</i>	Bunga.
4. <i>Butea frondosa.</i>	Tumbuhan segar.
5. <i>Celosa argentea.</i>	Biji.
6. <i>Cnium cymium.</i>	Buah.
7. <i>Cleo mechlidonii.</i>	Akar.
8. <i>Cucurbita pepo.</i>	Biji.
9. <i>Embelia ribes.</i>	Damar.
10. <i>Gremmathophyllum speciosum.</i>	Bulbus.
11. <i>Ibosa riparia.</i>	Kulit batang.
12. <i>Lansium domesticum.</i>	Biji.
13. <i>Mallotus philipinensis.</i>	Biji,
14. <i>Melia asedarach.</i>	Daun.
15. <i>Murraya paniculata.</i>	Daun.
16. <i>Quiqualis indica.</i>	Biji.
17. <i>Tinospora cordifolia.</i>	Tumbuhan segar.
18. <i>Stemona species.</i>	Tumbuhan segar.
19. <i>Veronia anthelminticum.</i>	Daun.
20. <i>Zingiber officinale Roscoe.</i>	Rimpang.

Lampiran 4.

Tumbuhan yang pernah dan atau masih digunakan sebagai antelmintik tradisional di India, Pakistan dan Asia Tenggara

Nama tumbuhan.	Bagian tumbuhan yang digunakan.
1. <i>Abrus precatorius.</i>	Daun.
2. <i>Bauhinia variegata.</i>	Tumbuhan segar.
3. <i>Bulba monosperma.</i>	Daun.
4. <i>Caesalpinia crista.</i>	Daun.
5. <i>Cassia alba.</i>	Daun.
6. <i>Cassia sophora.</i>	Daun.
7. <i>Cassia tora.</i>	Daun.
8. <i>Tinospora pimpinea.</i>	Tumbuhan segar.
9. <i>Erythrina tuberosa.</i>	Daun.
10. <i>Mucuna prurita.</i>	Tumbuhan segar.

Lampiran 28.

Tabel ransum umum dan penelitian ayam pedaging

Komponen	Ransum umum * (%)	Ransum penelitian (%)
Jagung	25 - 63	60
Sorghum	25 - 63	-
Bungkil kedelai	10 - 30	30
Tepung ikan	0 - 7,5	10
Susu skim	5	-

* Menurut Oluyemi dan Robert dalam Beternak Ayam Pedaging (Rasyaf.M. 1987)

ampiran 29

abel EPG pada hari ke-1 pra(X), hari ke-1 pasca(Y) dan hari ke-3 pasca(Z) perlakuan. Perlakuan dengan pemberian dosis 100 mg dan 300 mg masing-masing untuk minyak atsiri, fraksi terpinen-4-ol dan sabinen, dan 100 mg piperasin sitrat. Sebagai kontrol diberikan larutan glukosa salin 5%. Penghitungan pada minggu ke-6 pasca penginfeksian

Larutan glukosa salin 5%	Minyak atsiri 100 mg		Fraksi terpinen-4-ol 100 mg		Fraksi sabinen 100 mg		Minyak atsiri 300 mg		Fraksi terpinen-4-ol 300 mg		Fraksi sabinen 300 mg		Piperasin sitrat 100 mg										
	Y1	Z1	X2	Y2	Z2	X3	Y3	Z3	X4	Y4	Z4	X5	Y5	Z5	X6	Y6	Z6	X7	Y7	Z7	X8	Y8	Z8
11650	1320	1584	1419	627	825	297	231	330	1815	1705	1056	9878	14058	4620	1595	1936	682	2699	4774	672	275	0	0
11485	891	1089	990	385	363	429	726	1287	231	286	426	1320	1496	462	26136	5489	1925	1298	121	209	264	0	0
11716	1815	2046	627	1244	4026	726	451	297	264	770	429	308	198	473	1507	2222	511	1309	330	968	22	143	0
11386	2178	1584	3828	1023	2178	2640	825	132	2575	1397	2079	7788	5676	336	363	539	220	6699	6006	4675	1144	77	0
825	1148	1551	495	1364	2079	1155	770	264	1419	2112	1221	165	517	462	2695	4719	671	1430	352	1925	319	66	0
11320	990	1595	3960	1254	1320	2064	1364	198	1789	847	1267	6990	2057	1980	33	0	0	2915	5665	847	451	0	0
11716	2046	1815	495	1122	2607	726	1023	1584	1749	1045	1351	264	506	627	99	231	363	3828	4125	4026	1584	33	0
11980	1353	1947	1353	517	627	990	363	1221	1716	825	1551	1320	319	990	3861	2255	561	1980	1122	132	627	0	0
11485	1089	1947	1287	627	990	1320	825	990	1320	521	1056	132	99	33	2310	3366	330	528	484	234	1056	0	0
11056	1551	1153	196	319	528	99	726	484	976	1046	362	462	495	165	2244	1232	132	660	429	1419	3828	0	0
												792	1254	1320	132	451	528	990	891	264	1716	33	0
												5676	1122	3828	3366	1122	196	627	110	66	2310	561	0

Lampiran 30.

Analisis kovarian dan *split-plot* terhadap $\log(\text{EPG}+1)$ pada hari ke-1 pra, hari ke-1 dan ke-3 pasca perlakuan dengan emulsi minyak atsiri, fraksi sabinen, fraksi terpinen-4-ol dengan dosis 100 mg dan 300mg per ekor dan 5ml larutan glukosa salin 5%

- I. Minyak atsiri *Z.purpureum* 100 mg
- II. Fraksi terpinen-4-ol 100 mg
- III. Fraksi sabinen 100 mg
- IV. Larutan glukosa salin 5%

No	I		II		III		IV	
	X	Z	X	Z	X	Z	X	Z
1.	3,15	2,92	2,47	2,52	3,26	3,02	3,21	3,12
2.	2,99	2,56	2,63	3,11	2,36	2,63	3,17	3,02
3.	2,8	3,6	2,86	2,47	2,42	2,63	3,23	3,31
4.	3,58	3,34	3,42	2,12	3,41	3,32	3,14	3,20
5.	2,7	3,32	3,06	2,42	3,15	3,09	3,0	3,19
6.	3,6	3,12	3,31	2,3	3,25	3,1	3,12	3,26
7.	2,7	3,42	2,86	3,2	3,24	3,13	3,3	3,29
8.	3,1	2,8	1,99	3,09	3,23	3,19	3,23	3,29
9.	3,11	2,99	3,12	2,99	3,12	3,02	3,17	3,06
10.	2,29	2,72	2,99	2,68	2,99	2,56	3,02	3,19
Jml	30,05	30,79	28,71	26,9	30,43	29,69	34,89	31,94
Rera	3,01	3,08	2,87	2,69	3,04	2,97	3,49	3,2
ta								

$$X1.+X2.+X3.+X4.= X..= 30,05+28,71+30,43+31,59 = 120,78$$

$$Y1.+Y2.+Y3.+Y5.= Y..= 30,79+26,9+29,69+28,65 = 116,03$$

Jk (sum of square) :

$$SSy = (2,92^2 + 2,56^2 + 3,6^2 + \dots + 3,19^2) - (116,03)^2/40$$

$$= 4,41$$

$$SSx = (3,15^2 + 2,99^2 + 2,8^2 + \dots + 3,02^2) - (120,78)^2/40$$

$$= 4,76$$

$$SPxy = [(3,15)(2,92) + (2,99)(2,56) + \dots + (3,02)(3,19)] - (119,03)(120,78/40 = 10,56$$

$$SST(y) = \frac{(30,79^2 + 26,9^2 + \dots + 31,94^2)}{10} - (116,03)^2/40$$

$$= 377,39 - 336,57 = 0,824$$

$$SST(x) = \frac{(30,05^2 + 28,71^2 + \dots + 34,89^2)}{10} - (120,78)^2/40$$

$$= 365,116 - 364,69 = 0,426$$

Lampiran 30 lanjutan

$$SPT = \frac{[(30,05)(30,79) + (28,71)(26,9) + \dots + (34,89)(31,94)]}{10} - (120,78)(116,03)/40 = 350,603 - 350,35 = 0,2539$$

$$SSE(y) = SSy - SST(y) \\ = 4,41 - 0,824 = 3,586$$

$$SSE(x) = SSx - XXT(x) \\ = 4,76 - 0,426 = 4,334$$

$$SPE = SPxy - SPT \\ = 10,56 - 0,2539 = 10,306$$

$$SSR = SPxy^2/SSx \\ = (10,5625)^2/4,76 = 23,42$$

$$SS'y = SSy - SSR \\ = 4,41 - 23,42 = 19,01$$

$$SSR(E) = SPE^2/SSE(x) \\ = (10,30)^2/4,334 = 24,47$$

$$SSE = SSE(y) - SSR(E) \\ = 3,586 - 24,47 = -20,884$$

$$SST = SS'y - SSE \\ = -19,01 - (-20,884) = 1,174$$

Tabel analisis varian

Sumber variasi	df	SSy	SPxy	SSx		
Perlakuan (un.-adj.)	3	0,824	0,254	0,426		
Error (un.adj.)	36	3,586	10,306	4,334		
Total	39	4,41	10,56	4,76		
Regressi (un.-adj.)	1	23,42				
Deviasi dari -regressi	38	19,01			MS	F.hit. F.tab.
Perlakuan (adj.)	3	1,87	0,624	1,10	tb	2,87
Error (adj.)	35	20,88	0,590			
Regressi (adj.)	1	24,47	24,470	40,78	*	4,12

* : berbeda bermakna ($P < 0,05$)

tb : tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$)

Lampiran 30 lanjutan

Uji statistik :

1. Efek perlakuan = $H : T_i = 0$

$$F = MST/MSE = 0,624/0,590 = 1,10$$

$$\text{Nilai kritis} = F_{t-1, n-t-1} = F_{0,05, 3,35} = 3,37$$

Kesimpulan : Tidak ada efek perlakuan ($P > 0,05$)

2. Kegunaan kovariansi = $H : = 0$

$$F = MSR/MSE = 24,47/0,590 = 40,78$$

$$\text{Nilai kritis} = F_{1, n-t-1} = F_{0,05, 1, 35} = 4,23$$

Kesimpulan : Ada kegunaan analisis kovariansi dalam penelitian.

Tidak dapat digunakan untuk analisis selanjutnya.

Analisis *Split-plot*.

Kelompok	Periode (B)				
	No.	X	Y	Z	Total
Minyak atsiri 100 mg (A)	j = 1	3,15	2,8	2,92	8,87
	2	2,99	2,59	2,56	8,14
	3	2,8	3,09	3,6	9,49
	4	3,58	3,01	3,34	9,93
	5	2,7	3,13	3,32	9,15
	6	3,6	3,1	3,12	9,82
	7	2,7	3,05	3,42	9,17
	8	3,13	2,71	2,8	8,64
	9	3,11	2,8	2,99	8,9
	10	2,29	2,5	2,72	7,51
Total		30,05	28,78	30,79	89,62
Fraksi Terpinen-4-ol 100 mg (B)	1	2,47	2,36	2,52	7,35
	2	2,63	2,88	3,11	8,62
	3	2,86	2,65	2,47	7,98
	4	3,42	2,92	2,12	8,46
	5	3,06	2,89	2,42	8,37
	6	3,31	3,13	2,3	8,74
	7	2,86	3,01	3,2	9,07
	8	1,99	2,56	3,09	7,64
	9	3,12	2,92	2,99	9,03
	10	2,99	2,86	2,68	8,53
Total		28,71	28,18	26,9	83,79

Lampiran 30 lanjutan

	1	3,26	3,23	3,02	9,51
	2	2,36	2,46	2,63	7,45
	3	2,42	2,89	2,63	7,94
Fraksi	4	3,41	3,15	3,32	9,88
Sabinen 100 mg	5	3,15	3,32	3,09	9,56
(C)	6	3,25	2,93	3,1	9,28
	7	3,24	3,02	3,13	9,39
	8	3,23	2,92	3,19	9,34
	9	3,12	2,72	3,02	8,86
	10	2,99	3,02	2,56	8,57
	Total	30,43	29,66	29,69	89,78

Jk (Sum of square) :

$$SSy = (3,15^2 + 2,99^2 + \dots + 8,57^2) - (3,15 + 2,99 + \dots + 8,57)^2 / 90$$

$$= 779,57 - 769,66 = 9,91$$

$$SSA = (89,62^2 + 83,79^2 + 89,78^2) / 30 - (3,15 + 2,99 + \dots + 8,57)^2 / 90$$

$$= 770,43 - 769,66 = 0,77$$

$$SSD/A = (8,87^2 + 8,14^2 + \dots + 8,57^2) / 3 - (89,62^2 + 83,79^2 + 89,78^2) / 30$$

$$= 774,84 - 770,43 = 4,41$$

$$SSB = (89,13^2 + 86,62^2 + 87,38^2) / 30 - 769,66$$

$$= 769,41 - 769,66 = -0,25$$

$$SSAB = (30,05^2 + 28,78^2 + \dots + 29,69^2) / 10 - (89,62^2 + 83,79^2 + 89,78^2) / 30 - 769,41 + 769,66$$

$$= 770,85 - 770,43 - 769,41 + 709,66 = 0,67$$

$$SSE = SSy - SSA - SSD/A - SSB - SSAB$$

$$= 9,91 - 0,77 - 4,41 - (-0,25) - 0,67 = 4,31$$

Analisis varian

Sumber variasi	df	SS	MS	F.hitung
Perlakuan (A)	2	0,77	0,385	2,09 tb
Subyek (D/A)	27	4,41	0,184	
Periode (B)	2	-0,25	-0,125	-1,56 tb
Interaksi (AB)	4	0,67	0,168	2,1 tb
Error (E)	54	4,31	0,08	

tb : tidak berbeda bermakna

Lampiran 30 lanjutan

Nilai kritis : F 0,05, 2, 27 = 3,35
 F 0,05, 2, 54 = 4,06
 F 0,05, 4, 54 = 2,59

Analisis kovarian.

I : Minyak atsiri *Z.purpureum* 300 mg
 II : Fraksi terpinen-4-ol 300 mg
 III : Fraksi sabinen 300 mg
 IV : Larutan glukosa saline 5%

No	I		II		III		IV	
	X	Z	X	Z	X	Z	X	Z
1.	3,99	3,66	3,2	2,83	3,43	2,83	3,21	3,12
2.	3,12	2,66	4,42	3,28	3,11	2,32	3,17	3,03
3.	2,49	2,67	3,18	2,71	3,12	2,99	3,23	3,31
4.	3,89	3,53	2,56	2,34	3,83	3,67	3,14	3,20
5.	2,22	2,66	3,43	2,83	3,16	3,28	3,0	3,19
6.	2,42	2,8	1,99	2,56	3,58	3,6	3,12	3,26
7.	3,12	2,99	3,59	2,75	3,3	3,05	3,13	3,29
8.	2,12	1,52	3,36	2,52	2,72	2,37	3,3	3,29
9.	2,66	2,22	3,35	2,12	2,82	3,15	3,17	3,06
10.	2,9	3,12	2,12	2,72	2,99	2,42	3,02	3,19
11.	3,75	3,58	3,53	2,29	2,8	1,82	3,3	3,29
Σ	32,68	31,41	34,73	28,95	34,86	31,59	34,89	31,94
rata	2,97	2,86	2,16	2,63	3,17	2,86	3,17	2,90

$$\begin{aligned} X_1 + X_2 + X_3 + X_4 &= X_{..} = 32,68 + 34,73 + 34,86 + 34,89 = 137,16 \\ Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4 &= Y_{..} = 31,41 + 28,95 + 31,5 + 31,94 = 123,8 \end{aligned}$$

Jk (Sum of square) :

$$\begin{aligned} SS_y &= n \cdot t_r = (3)(11) = 33 \\ &= (3,66^2 + 2,66^2 + 2,67^2 + \dots + 3,29^2) - (123,8)^2/44 \\ &= 377,16 - 348,32 = 28,832 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SS_x &= (3,99^2 + 3,12^2 + 2,49^2 + \dots + 3,3^2) - (137,16)^2/44 \\ &= 443,57 - 427,56 = 16,01 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SP_{xy} &= [(3,99)(3,66) + (3,12)(2,66) + \dots + (3,17)(2,90)] \\ &\quad - (137,16)(123,8)/44 \\ &= 403,5 - 385,91 = 17,59 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SST(y) &= \frac{(31,41^2 + 28,95^2 + 31,5^2 + 31,94^2)}{11} - 123,8^2/44 \\ &= 348,826 - 348,328 = 0,50 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SST(x) &= \frac{(32,68^2 + 34,73^2 + 34,86^2 + 34,89^2)}{11} - (137,16)^2/44 \\ &= 427,88 - 427,56 = 0,32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SPT &= \frac{[(32,68)(31,41) + (34,73)(28,95) + (34,86)(31,5) + \\ &\quad (34,89)(31,94)]}{11} - (137,16)(123,8)/44 \\ &= 385,85 - 385,91 = -0,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SSE(y) &= SSy - SST(y) \\ &= 28,832 - 0,50 = 28,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SSE(x) &= SSx - SST(x) \\ &= 16,01 - 0,32 = 15,69 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SPE &= SPxy - SPT \\ &= 17,59 - (-0,07) = 17,66 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SSR &= SPxy^2/SSx \\ &= (17,59)^2/16,01 = 19,32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SS'y &= SSy - SSR \\ &= 28,832 - 19,32 = 9,512 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SSR(E) &= SPE^2/SSE(x) \\ &= (17,66)^2/15,69 = 19,87 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SSE &= SSE(y) - SSR(E) \\ &= 28,33 - 19,87 = 8,46 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} SST &= SS'y - SSE \\ &= 9,512 - 8,46 = 1,052 \end{aligned}$$

Tabel analisis varian

Sumber variasi	df.	SSy	SPxy	SSx		
Perlakuan (un.-adj.)	3	0,50	-0,07	0,32		
Error (un.adj.)	40	28,54	17,66	15,69		
Total	43	28,83	17,59	16,01		
Regressi (un.-adj.)	1	19,052				
Deviasi dari - regresi	42	8,49			MS	F.hit. F.tab.
Perlakuan (adj.)	3	1,052	0,35	1,66	tb	2,63
Error (adj.)	39	8,46	0,216			
Regressi (adj.)	1	19,87	19,87	87,14*		4,09

* : berbeda bermakna ($P < 0,05$)

tb : tidak berbeda bermakna ($P > 0,05$)

Lampiran 30 lanjutan

Uji statistik :

1. Efek perlakuan = $H : T_i = 0$
 $F = MST/MSE = 0,35 / 0,216 = 1,66$
 Nilai kritis = $F_{\alpha, t-1, n-t-1} = F_{0,05, 3, 39} = 3,33$
 Kesimpulan = tidak ada efek perlakuan
2. Kegunaan kovariansi = $H : = 0$
 $F = MSR/MSE = 19,67/0,216 = 87,14$
 Nilai kritis = $F_{\alpha, 1, n-t-1} = F_{0,05, 1, 39} = 4,06$
 Kesimpulan = ada kegunaan analisa kovariansi dalam penelitian.

Tidak dapat digunakan untuk analisis selanjutnya.

Analisis *split-plot*.

Kelompok	Periode				
	No.	X	Y	Z	Total
Minyak atsiri 300 mg (A)	J= 1	3,99	4,15	3,66	11,8
	2	3,12	3,17	2,66	8,95
	3	2,49	2,3	2,67	7,46
	4	3,89	3,75	3,53	11,17
	5	2,22	2,71	2,66	7,59
	6	2,42	2,7	2,8	7,92
	7	3,12	2,5	2,99	8,61
	8	2,12	2,0	1,52	5,64
	9	2,66	2,7	2,22	7,58
	10	2,9	3,1	3,12	9,12
	11	3,75	3,05	3,58	10,38
Total		32,68	32,13	31,41	96,22
Fraksi Terpinen-4-ol 300 mg (B)	1	3,2	3,29	2,83	9,32
	2	4,42	3,74	3,28	11,44
	3	3,18	3,35	2,71	9,24
	4	2,56	2,73	2,34	7,63
	5	3,43	3,67	2,83	9,93
	6	1,99	2,36	2,56	6,91
	7	3,59	3,35	2,75	9,69
	8	3,36	3,53	2,52	9,41
	9	3,35	3,09	2,12	8,56
	10	2,12	2,65	2,72	7,49
	11	3,53	3,05	2,29	8,87
Total		34,73	34,81	28,95	98,49

Lampiran 30 lanjutan

	1	3,43	3,68	2,83	9,94
	2	3,11	2,08	2,32	7,51
	3	3,12	2,52	2,99	8,63
Fraksi	4	3,83	3,78	3,67	11,28
Sabinen 300 mg	5	3,16	2,55	3,28	8,99
(C)	6	3,58	3,62	3,6	10,88
	7	3,3	3,05	3,05	9,4
	8	2,72	2,68	2,37	7,77
	9	2,82	2,63	3,15	8,66
	10	2,99	2,95	2,42	8,36
	11	2,8	2,04	1,82	6,66
	Total	34,86	31,58	31,5	97,94

Jk (Sum of square) :

$$SSy = (3,99^2 + 3,12^2 + \dots + 1,82^2) - (3,99 + \dots + 1,82)^2/99$$

$$= 896,34 - 865,09 = 31,25$$

$$SSA = (96,22^2 + 98,49^2 + 97,94^2)/33 - (3,99 + 3,12 + \dots + 1,82)^2/99$$

$$= 865,18 - 865,09 = 0,09$$

$$SSD/A = (11,82^2 + 8,95^2 + \dots + 6,66^2)/3 - (96,22^2 + 98,49^2 + 97,94^2)/33$$

$$= 887,67 - 865,18 = 22,49$$

$$SSB = (102,27^2 + 98,52^2 + 91,86^2)/33 - (3,99 + 3,12 + \dots + 1,82)^2/99$$

$$= 866,78 - 865,09 = 1,69$$

$$SSAB = (32,68^2 + 32,13^2 + \dots + 31,5^2)/11 - 865,18 - 866,78 + 865,09$$

$$= 867,97 - 865,18 - 866,78 + 865,09 = 1,1$$

$$SSE = SSy - SSA - SSD/A - SSB - SSAB$$

$$= 31,25 - 0,09 - 22,49 - 1,69 - 1,1 = 5,88$$

Analisis varian

Sumber variasi	d.f	SS	MS	F.hitung
Perlakuan (A)	2	0,09	0,045	0,06 tb
Subyek (D/A)	30	22,49	0,75	
Periode (B)	2	1,69	0,85	8,7*
Interaksi (AB)	4	1,1	0,28	2,9*
Error (E)	60	5,88	0,098	

tb : berbeda tidak bermakna

* : berbeda bermakna

Lampiran 30 lanjutan

Nilai kritis : $F_{0,05, 2,30} = 3,32$
 $F_{0,05, 2,60} = 3,15$
 $F_{0,05, 4,60} = 2,53$

Orthogonal contrast : (Bon - ferronit) (Terpinen 300 mg)

Perlakuan	Mean	$r_i = 33$
1 X	3,16	MSE = 0,098
2 Y	3,16	
3 Z	2,63	

Koefisien kontras (cik)

K = kontras	C1k	C2k	C3k	
(a) 1 kontra 2	-1	+1	0	$ci^2_a = 2$
(b) 2 kontra 3	0	-1	+1	$ci^2_b = 2$
(c) 1 kontra 3	+1	0	-1	$ci^2_c = 2$

$$q_a = (-1)(3,16) + (+1)(3,16) + (0)(2,63) = 0$$

$$q_b = (0)(3,16) + (+1)(3,16) + (-1)(2,63) = 0,53$$

$$q_c = (+1)(3,16) + (0)(3,16) + (-1)(2,63) = 0,53$$

$$t_a = -0,53 / \sqrt{2/11 (0,098)} = 3,98$$

$$N.k = t_B, 0,05, 3,30 = 2,92$$

Lampiran 31.

Tabel jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati dan konversi (logX+1)

Tabel jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati dalam ayam kontrol(K), ayam perlakuan dengan pemberian minyak atsiri (MA), Fraksi sabinen (FSAB), Fraksi terpinen-4-ol (FTPOL) masing-masing 300 dan 500 mg per ekor dan piperasin sitrat(PS) 100 mg per ekor ; pada ayam kontrol diberi larutan glukosa salin 5% 5ml

Jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati																					
K	MA 300mg			MA 500mg			FSAB 300mg			FSAB 500mg			FTPOL 300mg			FTPOL 500mg			PS 100mg		
	j	jk	j	j	jk	j	j	jk	j	j	jk	j	j	jk	j	j	jk	j	j	jk	j
30	1,4913	42	1,6334	4	0,6989	25	1,4149	10	1,0413	12	1,1139	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
14	1,1760	36	1,5682	2	0,4771	5	0,7781	12	1,1139	0	0,0000	4	0,6989	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
20	1,3222	5	0,7781	0	0,0000	13	1,1461	9	1,0000	2	0,4771	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
16	1,2304	11	1,0791	0	0,0000	52	1,7242	8	0,9542	14	1,1760	8	0,9542	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
26	1,4313	17	1,2552	0	0,0000	17	1,2552	10	1,0413	18	1,2787	6	0,8450	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
12	1,1139	28	1,4623	10	1,0413	16	1,2304	8	0,0542	12	1,1139	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
30	1,4913	9	1,0000	8	0,9542	19	1,3070	6	0,8450	24	1,3979	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
10	1,0413	8	0,9542	10	1,0413	10	1,0413	8	0,9542	2	0,4771	8	0,9542	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
18	1,2787	5	0,7791	4	0,6989	11	1,0791	6	0,8450	4	0,6989	2	0,4771	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
45	1,6627	6	0,8450	6	0,8450	22	1,3617	7	0,9030	14	1,1760	6	0,8450	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000

j : jumlah cacing

jk: jumlah cacing setelah konversi log(X+1)

Lampiran 32

Tabel penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati
 Penurunan jumlah cacing dalam usus kelompok ayam perlakuan dibanding dengan jumlah cacing dalam usus kelompok ayam kontrol; perlakuan dengan pemberian minyak atsiri(MA) Fraksi sabinen(FSAB); Fraksi terpinen-4-ol(FTPOL) dan piperasin sitrat(PS)

Penurunan jumlah cacing disebabkan pemberian						
MA 300 mg	MA 500 mg	FSAB 300 mg	FSAB 300 mg	FTPOL 300 mg	FTPOL 500 mg	PS 100 mg
-0.1421	0.7924	0.0764	0.4500	0.3774	1.4913	1.4913
-0.3922	0.6989	0.3979	0.0621	1.1760	0.4711	1.1760
0.5441	1.3222	0.1761	0.3222	0.8451	1.3222	1.3222
0.1513	1.2304	-0.4938	0.2762	0.2762	0.0544	1.2304
0.1761	1.4313	0.1761	0.3900	0.1526	0.5863	1.4313
-0.3484	0.0726	-0.1165	0.1597	0.0000	1.1139	1.1139
0.4913	0.5371	0.1903	0.6463	0.0934	1.4913	1.4913
0.0871	0.0000	0.0000	0.0871	0.5642	0.0871	1.0413
0.2632	0.5798	0.1996	0.4337	0.5798	0.8016	1.2787
0.8177	0.8177	0.3010	0.7597	0.4867	0.8177	1.6627

X 0.1890 0.7480 0.0920 0,3590 0.4330 0.8940 1.3230

Lampiran 33

Analisis varian penurunan jumlah cacing

Analisis varian terhadap penurunan jumlah cacing dalam usus ayam pasca mati pada kelompok ayam kontrol dan perlakuan diperoleh hasil dibawah ini:

Kelompok	Rerata	N	SD	SE
I	0,1890	10	0,4020	0,1271
II	0,7480	10	0,4859	0,1536
III	0,0920	10	0,2510	0,0794
IV	0,3590	10	0,2283	0,0722
V	0,4330	10	0,3812	0,1205
VI	0,8940	10	0,4575	0,1447
VII	1,3230	10	0,1936	0,0612
RERATA	0.5670	70		

Sumber variansi	JK	DF	MK	Fo	Prob
Perlakuan	11.165	6	1,861	13.686	7.027E-10
Dalam	8,566	63	0,136		

Lampiran 34

Perhitungan beda rerata penurunan jumlah cacing dengan uji Tukey-HSD

Untuk $P=0,05$

Rerata penurunan cacing	Kelompok	Kelompok						
		III	I	IV	V	II	VI	VII
0,0920	III							
0,1890	I							
0,3590	IV							
0,4330	V							
0,7480	II	*	*					
0,8940	VI	*	*	*				
1,3230	VII	*	*	*	*	*		

* berbeda bermakna ($P > 0,05$) pada pasangan kelompok

RIWAYAT HIDUP

Data pribadi.

Nama : Taroeno.
NIP : 130188490.
Tanggal lahir : 2 Juni 1932.
Tempat lahir : Surakarta.
Jenis kelamin : Laki-laki.
Agama : Islam.
Nama Istri : Proborini Larasati.
Jumlah anak : Tiga orang.
Alamat rumah : Flat E/4. Sekip. Yogyakarta.

Riwayat pendidikan.

Pendidikan Dasar : SD Negeri. Solo. Tamat th 1944.
Pendidikan Menengah : SMP Negeri I. Solo. Tamat th 1947.
SMA Negeri B.I. Solo. Tamat th 1953.
Pendidikan Tinggi : Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
Lulus Apoteker th 1961.

Riwayat pekerjaan.

Th 1961 Asisten Akhli. Gol F1/F2.
Th 1962 Asisten Akhli Tugas Mengajar. Gol F1/F2.
Th 1962 Lektor Muda. Gol F/II.

Th 1966	Lektor. Gol F/IV.
Th 1968	Lektor/Pembina. Gol IV/a.
Th 1976	Lektor Kepala/ Pembina tingkat I. Gol IV/b.
Th 1980	Lektor Kepala/Pembina Utama Muda. Gol IV/c.

Riwayat jabatan.

Th 1964-1968	Kepala Seksi Farmakognosi.
Th 1964-1966	Pembantu Dekan II.
Th 1967-1978	Kepala Bagian Biologi Farmasi.
Th 1967-1978	Kepala Unit Pengembangan Fakultas.
Th 1978-1980	Kepala Unit Perpustakaan Fakultas.
Th 1980-1982	Pembantu Dekan II.
Th 1982-1984	Pembantu Dekan II.

Karya ilmiah.

1. Tanaman obat sebagai sumber bahan komoditi ekspor. Pekan Ekspor Tanaman Obat I. BPEN. 1978 Surakarta.
2. Tanaman familia *Zingiberaceae*, sumber obat tradisional. Seminar Tanaman Obat-obatan. Sekretariat Bina Desa/Indhrra. April 1980. Surakarta.
3. Perkembangan Obat Tradisional di Indonesia. Simposium Aspek Medis Obat Tradisionil Indonesia. Media Aesculapius. Fakultas Kedokteran UI. Mei 1980. Jakarta.
4. Penelitian dalam bidang biologi farmasi. Penataran Metodologi Penelitian Ilmu Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Nopember 1982.

5. Bahan Alam Nabati dalam Pengobatan. Kursus Analisa Instrumentasi khusus Industri Farmasi. Laboratorium Analisa Kimia/Fisika Pusat Universitas Gadjah Mada. Maret 1984.
6. *Curcuma* species in traditional medicine. Its prospects in the modern research. International Association for the Study of Traditional Asian Medicine. Surabaya. September 1984.

Penelitian.

1. Efek perasan temu ireng terhadap askaris babi *in vitro* dan kontraksi jejunum kelinci terpisah. Simposium Penelitian Tanaman Obat I. Bogor. 1975.
2. Efek perasan *Morinda citrifolia* L terhadap jejunum kelinci terisolasi. Simposium Penelitian Tanaman Obat I. Bogor 1975.
3. Studi farmakognosi klembak yang tumbuh di Jawa Tengah dan DIY. Pertemuan Ilmiah Nasional, Seminar V dan Kongres III Biologi Indonesia. Malang. Juli 1977.
4. Kadar eugenol minyak daun cengkeh di daerah Jawa Tengah. Pertemuan Ilmiah Nasional, Seminar VI dan Kongres IV Biologi Indonesia. Bandung. Juli 1979.
5. Daya antelmintik *in vitro* perasan, infusa dan minyak atsiri rimpang *Curcuma aeruginosa* Roxb. Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III. Yogyakarta. 1980.

6. Effect of pectin from *Pyrus malus*.L. and *Citrus species* on *Salmonella entericididis in vitro*. IXth Asean Congress of Pharmaceutical Sciences. Seoul. 1082.
7. Usaha Pemisahan dan Penentuan Struktur Komponen Minyak Atsiri dari Rimpang Temuireng secara KGC dan MS. Kongres Nasional V ISFI. Bandung. 1984.
8. Isolasi Fraksi Aktif Antelmintik dari Rimpang *Zingiber purpureum* Roxb. Kongres Ilmiah VI ISFI. Yogyakarta 1986.
9. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Utama dalam rimpang *Zingiber americans* BC. Kongres Ilmiah VI ISFI. Yogyakarta, 1986.
10. Anthelmintic Activities of Some Hydrocarbons and Oxygenated Compounds in the Essential Oil of *Zingiber purpureum*, 36th Annual Congress of Society for Medicinal Plant Research, Freiburg, 1988.
11. Anthelmintic Activities of Some Hydrocarbons and Oxygenated Hydrocarbon Fractions in The Essential Oil of *Zingiber purpureum* Roxb. The 12th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences. Denpasar. September. 1988.

Keanggautaan profesi.

1. Anggauta Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia.
2. Anggauta Peneliti Bahan Obat Alami Indonesia.
3. Anggauta Ikatan Akhli Farmakologi Indonesia.
4. Anggauta Himpunan Kimia Indonesia.