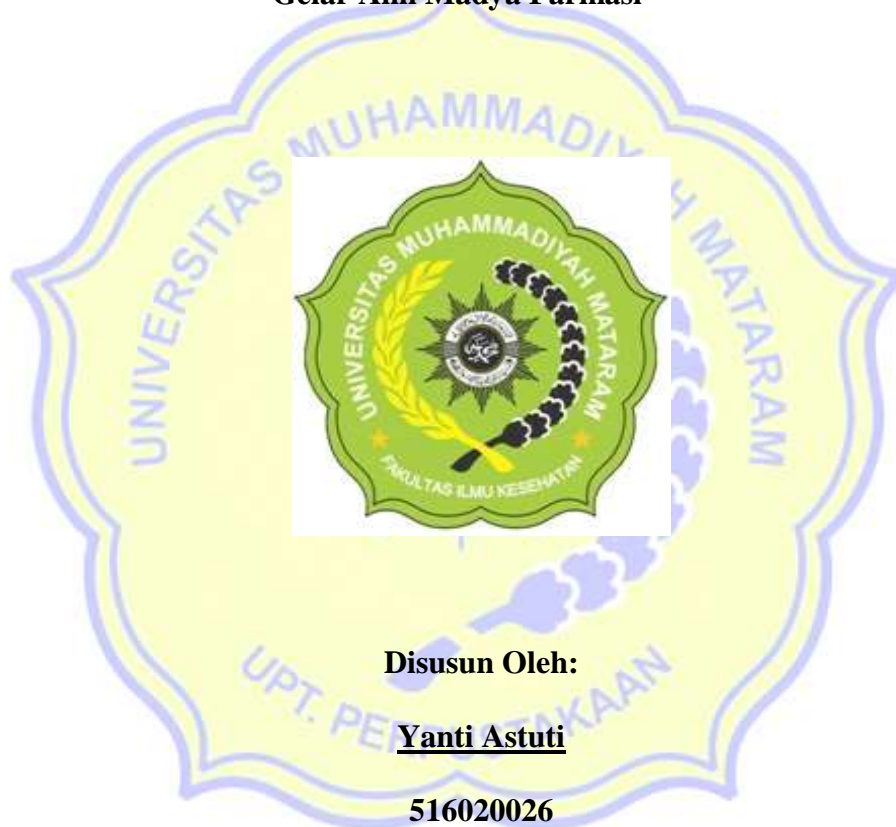


KARYA TULIS ILMIAH

**UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA *In vitro* DARI EKSTRAK ETANOL
BATANG TANAMAN ASHITABA (*Angelica keiskei*)**

**Diajukan Kepada Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Mataram Sebagai Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Ahli Madya Farmasi**



**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM**

2019

HALAMAN PERSETUJUAN

KARYA TULIS ILMIAH

UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA *In vitro* DARI EKSTRAK ETANOL
BATANG TANAMAN ASHITABA (*Angelica keiskei*)

Disusun Oleh:

Yanti Astuti

516020026


Telah Memenuhi Persyaratan dan Disetujui Untuk Mengikuti Ujian Karya
Tulis Ilmiah pada Program Studi DIII Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Mataram

Hari/Tanggal: Senin, 29 Juli 2019

Menyetujui,

Pembimbing Utama

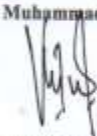
Pembimbing Pendamping


(Abdul Rahman W. M. Farm., Apt)
NIDN. 0817038601


(Alvi Kusuma W. M. Farm., Apt)
NIDN. 0326089001

Mengetahui

Ketua Program Studi DIII Farmasi
Universitas Muhammadiyah Mataram


Baiq Leny Nopitasari, M. Farm., Apt
NIDN. 0807119001

HALAMAN PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA *In vitro* DARI EKSTRAK ETANOL BATANG
TANAMAN ASHITABA (*Angelica keiskei*)

Disusun Oleh:

Yanti Astuti

516020026

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji dan Diterima Sebagai Syarat Untuk
Mendapatkan Gelar Ahli Madya Farmasi pada Program Studi DIII Farmasi
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram

Dewan Penguji:

Tanda Tangan

1. Ketua Tim Penguji : Abdul Rahman Wahid, M.Farm., Apt

(.....)

2. Penguji I : Irmatika Hendriyani, S.Si., M. Sc

(.....)

3. Penguji II : Alvi Kusuma Wardani, M.Farm., Apt

(.....)

Mengesahkan

Universitas Muhammadiyah Mataram

Fakultas Ilmu Kesehatan



(Nurul Qiyasah), M.Farm. Klin., Apt

NIDN.0827108402

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yanti Astuti
NIM : 516020026
Program Studi : DIII Farmasi
Fakultas : Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya sendiri dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan tercantum dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Tulis Ilmiah ini.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Karya Tulis Ilmiah ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Mataram, 21 Agustus 2019
Yang membuat pernyataan,



Yanti Astuti
516020026

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

Dan orang-orang yang beriman dan mengerjakan amalan-amalan sholeh, kelak akan Kami masukkan mereka ke dalam surga yang di dalamnya mengalir sungai-sungai; kekal mereka di dalamnya; mereka di dalamnya mempunyai istri-istri yang suci, dan Kami masukkan mereka ke tempat yang teduh lagi nyaman (**Q.S An Nisa': 57**)

Dan andaikan tidak ada karunia Allah dan rahmat-Nya atas dirimu dan (andaikan) Allah bukan Penerima Taubat lagi Maha Bijaksana, (niscaya kamu akan mengalami kesulitan-kesulitan) (**Q.S An Nur: 10**)

PERSEMBAHAN

Rasa syukur atas rahmat dan karunia terhadap Allah SWT. Sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.. Karya ini kupersembahkan kepada.

1. Orang tua tercinta Ayah dan Ibu, sebagai baktiku atas limpahan kasih sayang, motivasi dan doa selama ini.
2. Dosen pembimbing dan semua dosen yang mendidik selama berada di kampus Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. Teman-teman tercinta yang tiada henti memberikan bantuan dan motivasi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Uji Aktivitas Antimalaria *In vitro* Dari Ekstrak Etanol Batang Tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*)”**. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar Ahli Madya Farmasi.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang banyak berperan dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah penelitian ini, sehingga penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

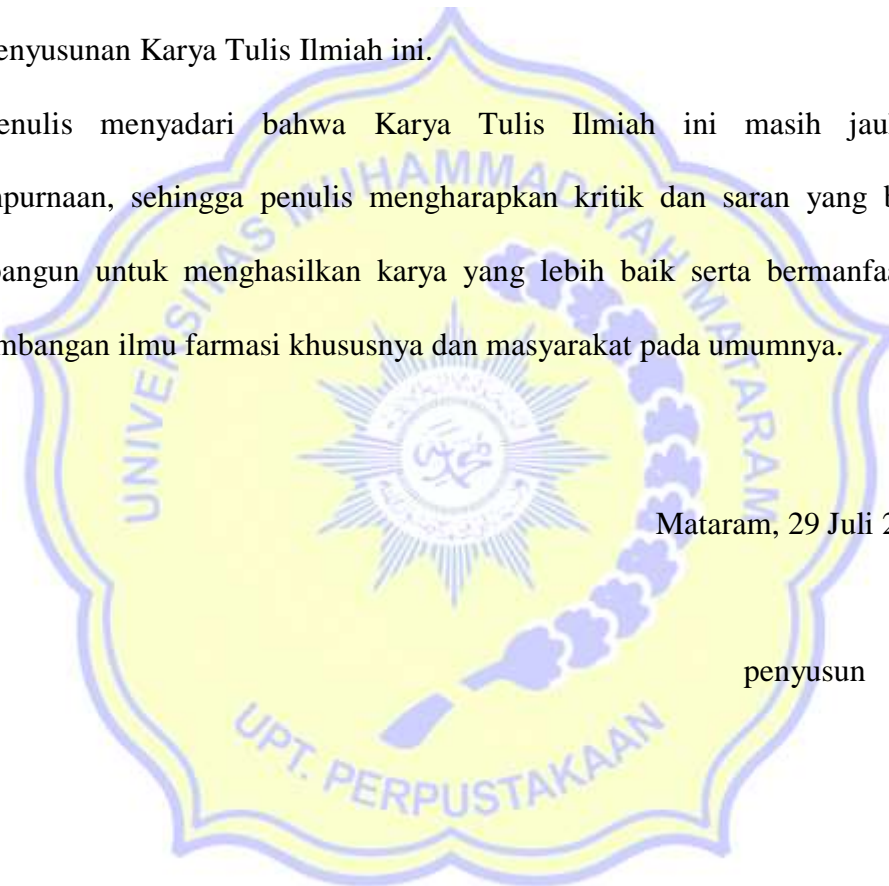
1. **Nurul Qiyaam, M.Farm, Klin., Apt** selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. **Dzun Aryadi Ittiqo, M.Sc., Apt** selaku Wakil Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. **Baiq Leny Nopitasari, M.Farm., Apt** selaku ketua Program Studi DIII Farmasi Universitas Muhammadiyah Mataram.
4. **Abdul Rahman Wahid, M.Farm., Apt** selaku penguji sekaligus pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan dan masukan untuk kesempurnaan naskah Karya Tulis Ilmiah ini.

5. **Alvi Kusuma Wardani, M.Farm., Apt** selaku penguji sekaligus pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, arahan dan masukan untuk kesempurnaan naskah Karya Tulis Ilmiah ini.
6. **Irmatika Hendriyani, S.Si.,M. Sc** selaku penguji yang telah memberikan arahan dan masukan untuk kesempurnaan naskah Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Teman-teman farmasi yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk menghasilkan karya yang lebih baik serta bermanfaat bagi perkembangan ilmu farmasi khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Mataram, 29 Juli 2019

penyusun



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
LEMBAR MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
E. Keaslian Penelitian	5
BAB II TINJAUAN TEORI	6
A. Tinjauan Teori	6
1. Ashitaba	6
2. Senyawa Flavonoid.....	10
3. Ekstraksi	12
4. Malaria.....	14
5. Plasmodium	16
6. Klorokuin.....	19
B. Kerangka Konsep	22
C. Hipotesis.....	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
A. Desain Penelitian.....	23

B. Waktu dan Tempat Penelitian	23
C. Variabel Penelitian	23
1. Variabel Bebas.....	23
2. Variabel Terikat.....	23
D. Populasi dan Sampel	23
1. Populasi Penelitian	23
2. Sampel Penelitian	24
E. Instrumen Penelitian.....	24
1. Alat	24
2. Bahan	24
F. Prosedur Penelitian.....	25
1. Pembuatan simplisia batang Ashitaba	25
2. Pembuatan ekstrak batang Ashitaba	25
3. Uji senyawa flavonoid dan kalkon	25
4. Uji antimalaria	26
G. Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
A. Preparasi Sampel	28
B. Ekstraksi dengan Metode Maserasi	29
C. Hasil Uji Senyawa Flavonoid dan Kalkon	31
D. Hasil Uji Aktivitas Antimalaria.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
A. Kesimpulan	40
B. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil uji aktivitas antimalaria <i>in vitro</i> ekstrak batang Ashitaba.....	36
Tabel 4.2 Hasil uji aktivitas antimalaria <i>in vitro</i> klorokuin.....	39

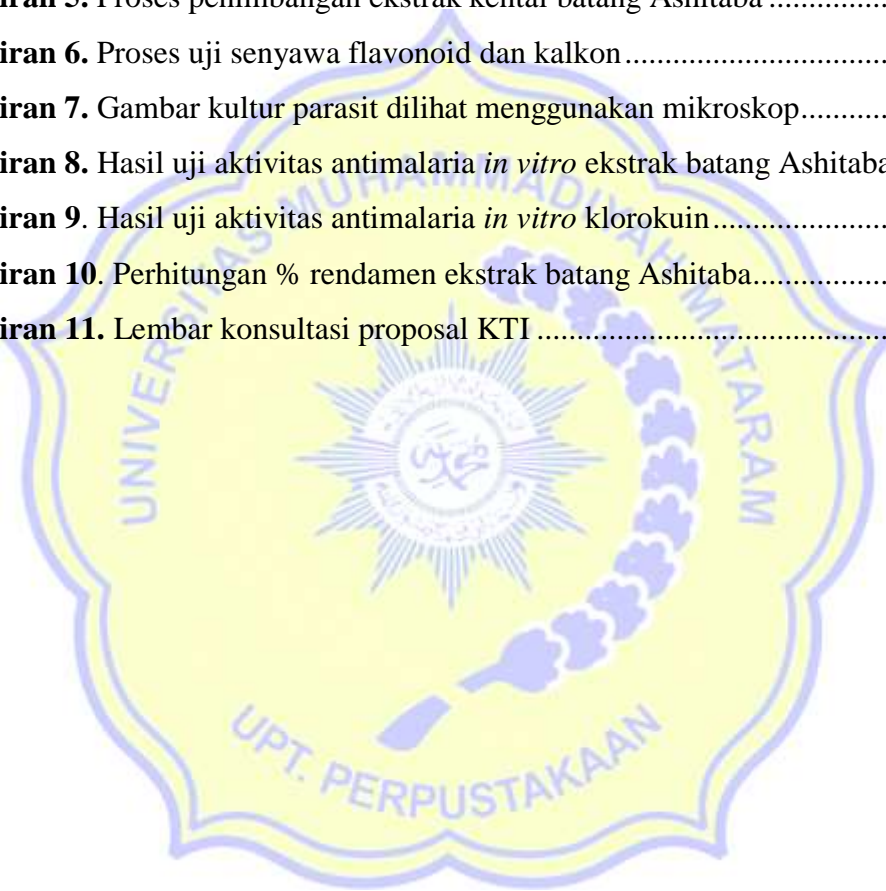


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Ashitaba	6
Gambar 2.2	Struktur kerangka dasar senyawa flavonoid.....	10
Gambar 2.3	Struktur Kalkon	11
Gambar 2.4	Siklus Hidup <i>Plasmodium</i> Sp	18
Gambar 2.5	Struktur Klorokuin.....	19
Gambar 2.6	Kerangka Konsep Uji Aktivitas Antimalaria <i>In Vitro</i> dari Ekstrak Etanol Batang Tanaman Ashitaba.....	22
Gambar 4.1	Batang Tanaman Ashitaba.....	28
Gambar 4.2	Ekstrak Pekat Batang Tanaman Ashitaba.....	31
Gambar 4.3	Hasil Uji <i>Wilstater</i> Ekstrak Batang Ashitaba, (A) Sebelum diberi perlakuan (B) Setelah diberi perlakuan	32
Gambar 4.4	Hasil Uji <i>Bate Smite-Metcalf</i> e Ekstrak Batang Ashitaba, (A) Sebelum diberi perlakuan (B) Setelah diberi perlakuan.....	33
Gambar 4.5	Kultur parasit, (A) eritrosit tidak terinfeksi (B) eritrosit terinfeksi	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat permohonan melakukan pengujian di Laboratorium <i>Institute of Tropical Disease Center</i> , Universitas Airlangga	47
Lampiran 2. Gambar sampel tanaman batang Ashitaba.....	48
Lampiran 3. Proses perajangan atau pengecilan ukuran batang Ashitaba	49
Lampiran 4. Gambar tanaman batang Ashitaba yang telah dikeringkan	50
Lampiran 5. Proses penimbangan ekstrak kental batang Ashitaba	51
Lampiran 6. Proses uji senyawa flavonoid dan kalkon.....	52
Lampiran 7. Gambar kultur parasit dilihat menggunakan mikroskop.....	53
Lampiran 8. Hasil uji aktivitas antimalaria <i>in vitro</i> ekstrak batang Ashitaba	54
Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antimalaria <i>in vitro</i> klorokuin.....	55
Lampiran 10. Perhitungan % rendamen ekstrak batang Ashitaba.....	56
Lampiran 11. Lembar konsultasi proposal KTI	57



UJI AKTIVITAS ANTIMALARIA *In vitro* DARI EKSTRAK ETANOL BATANG TANAMAN ASHITABA (*Angelica keiskei*)

Yanti Astuti¹, Abdul Rahman Wahid², Alvi Kusuma Wardani³
Diploma DIII Farmasi
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram
¹yantiastuti2409@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi malaria sampai saat ini menjadi masalah kesehatan yang serius dan kompleks di dunia. Kesulitan pengobatan malaria disebabkan karena terjadinya resistensi parasit malaria terhadap obat sintesis. Salah satu alternatif untuk mencegah terjadinya resistensi adalah dengan memakai obat herbal seperti tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol batang Ashitaba sebagai antimalaria pada parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Ekstrak batang Ashitaba di uji kandungan senyawa kimia dan aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 dengan konsentrasi 100, 10, 1, 0,1 dan 0,01 µg/ml. Hasil uji kandungan senyawa kimia dari ekstrak batang Ashitaba positif mengandung senyawa flavonoid dan kalkon. Ekstrak batang Ashitaba dengan konsentrasi 100, 10, 1, 0,1 dan 0,01 µg/ml memiliki nilai hambatan rata-rata sebesar 67,75%, 46,61%, 32,56%, 19,60%, dan 7,56%. Hasil uji aktivitas antimalaria ekstrak etanol batang Ashitaba mempunyai nilai IC₅₀ 11,07 µg/ml. Aktivitas antimalaria ekstrak etanol batang Ashitaba masuk dalam kategori aktivitas antimalaria yang baik karena nilai IC₅₀ masuk dalam rentan 10-50 µg/ml.

Kata kunci: Batang, Ashitaba (*Angelica keiskei*), antimalaria, *Plasmodium falciparum*

ANTIMALARIAL *In vitro* ACTIVITY TEST of ETHANOL EXTRACT of ASHITABA STEM (*Angelica keiskei*)

Yanti Astuti¹, Abdul Rahman Wahid², Alvi Kusuma Wardani³
Diploma DIII Pharmacy
Faculty of Health Science University Muhammadiyah Mataram
¹yantiastuti2409@gmail.com

ABSTRACT

The infection of malaria still remains a serious and complex problem for human's health in the world. The difficulty of healing malaria was caused by malaria parasite resistance on synthetic drug. One of the alternatives to prevent the resistance was the use of herbal drugs such as Ashitaba plant (*Angelica keiskei*). The purpose of this research was to know the activity of ethanol extract of Ashitaba stem as an antimalarial at the *Plasmodium falciparum* strain 3D7 parasites. Extraction method is maceration. Result of extraction maceration 70% ethanol. Extract of the Ashitaba stem chemical compounds test and antimalarial activity at the *Plasmodium falciparum* strain 3D7 parasites with concentrations 100, 10, 1, 0,1 and 0,01 µg/ml. The results of the test chemical compounds from the extract of the Ashitaba stem contains positive flavonoids and kalkon. Extract of the Ashitaba stem with concentrations 100, 10, 1, 0,1 and 0,01 µg/ml has an average resistance value 67,75%, 46,61%, 32,56%, 19,60%, and 7,56%. The test result of antimalarial activity of ethanol extract of Ashitaba stem had IC₅₀ value was 11,07 µg/ml. Antimalarial activity of ethanol extract of Ashitaba stem fall into the category of good antimalarial activity because the value entered in the IC₅₀ vulnerable 10-50 µg/ml.

Keywords: Stem, Ashitaba (*Angelica keiskei*), Antimalarial, *Plasmodium falciparum*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Malaria merupakan salah satu penyakit parasit yang masih menjadi persoalan kesehatan yang utama di dunia terutama di Negara tropis dan sub tropis. Menurut Badan Kesehatan Dunia (*World Health Organization*) diperkirakan 207 juta kasus malaria terjadi pada tahun 2012. Malaria menyebabkan 1300 anak usia di bawah 5 tahun meninggal setiap harinya. Sedangkan pada tahun 2013, ada 97 negara yang sedang mengalami endemis malaria (WHO, 2013).

Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan RI, hingga akhir tahun 2017 terdapat 261.671 kasus malaria di Indonesia yang 100 diantaranya meninggal dunia. Salah satu provinsi di Indonesia yang terdapat banyak kasus malaria adalah di Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB). Berdasarkan laporan profil kesehatan Provinsi NTB tahun 2017 ditemukan positif malaria sebanyak 1.190 kasus, tiga Kabupaten di Provinsi NTB mempunyai kasus malaria positif terbanyak adalah Kabupaten Lombok Barat sebesar 268 kasus, Kabupaten Sumbawa Barat sebesar 263 kasus dan Kabupaten Bima sebesar 244 kasus (Kemenkes, 2017).

Salah satu faktor utama penyebab peningkatan infeksi tersebut adalah timbulnya resisten terhadap obat antimalaria yang tersedia. Permasalahan resistensi terhadap obat antimalaria semakin lama semakin bertambah. Di wilayah Amazon dan Asia Tenggara telah ditemukan bahwa *Plasmodium*

falciparum telah resisten terhadap klorokuin. *Plasmodium vivax* juga ditemukan telah resisten klorokuin di wilayah Papua Nugini, Papua Barat dan Sumatera (Widoyono, 2010).

Resistensi terhadap obat antimalaria dapat diatasi salah satunya yaitu dengan cara memanfaatkan tumbuhan yang berpotensi sebagai antimalaria untuk dijadikan sebagai obat malaria baru yang efektif dan aman karena berasal dari tumbuhan. Beberapa senyawa yang berasal dari tumbuhan yang terbukti memiliki aktivitas antiplasmodium dan berpotensi dikembangkan sebagai antimalaria diantaranya golongan senyawa triterpenoid (Ramalhete *et al.*, 2014), golongan flavonoid (Kaur *et al.*, 2009), serta golongan alkaloid (Julianti *et al.*, 2014).

Tumbuhan yang diduga mempunyai potensi sebagai obat malaria adalah tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*). Tanaman Ashitaba adalah tanaman yang berasal dari Jepang dan dimanfaatkan oleh bangsa Tiongkok sebagai obat herbal tradisional untuk meningkatkan energi dalam tubuh dengan menyuplai nutrisi penting dalam darah dan memperbaiki sirkulasi aliran darah (Nagata *et al.*, 2007).

Penelitian mengenai efek farmakologis dari tanaman ini sudah banyak dilakukan. Daun Ashitaba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Suhartati dan Virgianti, 2015). Zat aktif yang terdapat dalam batang Ashitaba yaitu kalkon bermanfaat meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan

penyakit infeksi, juga berfungsi sebagai antitumor (Suhartati & Nurasiah, 2016).

Tanaman Ashitaba mempunyai getah berwarna kuning disebut kalkon (Okuyama *et al.*, 1991), yang merupakan senyawa flavonoid xanthoangelol dan 4-hydroxyderricin (Baba *et al.*, 2009). Turunan kalkon dari bahan alam atau hasil sintesisnya terbukti memiliki berbagai aktivitas farmakologi, diantaranya sebagai antioksidan (Guzy *et al.*, 2010), antiperadangan, antiproliferasi (Jin *et al.*, 2013), antiobesitas (Aly *et al.*, 2014), dan antimikroba (Shivakumar, 2012). Kalkon juga telah dilaporkan sebagai agen potensial antimalaria (Hans *et al.*, 2010).

Tanaman Ashitaba sendiri sudah banyak dibudidayakan di Indonesia salah satunya di wilayah Lombok Nusa Tenggara Barat (NTB). Ashitaba banyak dibudidayakan di daerah pegunungan atau perbukitan yang berada di Desa Sembalun Lombok yang memiliki ketinggian 1200 Mdpl yang berada dikaki Gunung Rinjani. Tingkat kesuburan, suhu dan kealamian tanah di Desa Sembalun menyebabkan tanaman Ashitaba tumbuh dengan baik dan khasiatnya tetap terjaga. Hal inilah yang melatarbelakangi penulis untuk menggunakan tanaman Ashitaba sebagai sampel dalam penelitian ini. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi di bidang pengobatan herbal dan digunakan sebagai alternatif pengobatan malaria yang mudah, murah, aman dan efektif.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Apakah ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba beraktivitas sebagai antimalaria?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba sebagai antimalaria?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui aktivitas ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba sebagai antimalaria.
2. Mengetahui berapakah dosis efektif ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba sebagai antimalaria.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagi pengembangan pendidikan dalam ilmu kesehatan terutama dalam bidang pengobatan, penelitian ini mampu memberikan informasi mengenai batang tanaman ashitaba yang dapat digunakan sebagai obat tradisional antimalaria.
2. Bagi peneliti sebagai seorang farmasis, manfaat dari penelitian ini yaitu membantu mengetahui cara melakukan uji aktivitas antimalaria secara *in vitro* dari ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba.

3. Bagi masyarakat, penelitian ini bermanfaat untuk meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai obat tradisional untuk mengobati malaria.

E. Keaslian Penelitian

1. Berdasarkan penelitian dengan judul “Mekanisme dan aktivitas antimalaria dari senyawa flavonoid yang diisolasi dari Cempedak (*Aricarpus champeden*)” didapatkan hasil bahwa senyawa flavonoid pada kulit batang cempedak memiliki aktivitas antimalaria paten dengan mekanisme melalui hambatan jalur permease baru (Widyawaruyanti, Zaini & Syafruddin, 2011).
2. Berdasarkan penelitian dengan judul “Uji aktivitas ekstrak kasar etanol dan fraksi N-heksan tanaman rumput bambu (*Lophaterum graile B.*) sebagai antimalaria pada parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7” didapatkan hasil nilai IC₅₀ ekstrak kasar etanol tanaman rumput bambu sebesar 12,46 µg/ml dan fraksi N-heksan sebesar 61,49 µg/ml (Ella Wulandari, 2017).
3. Berdasarkan penelitian dengan judul “Uji aktivitas fraksi etil asetat daun bunga matahari (*Helianthus annus L.*) sebagai antimalaria pada parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7” didapatkan hasil nilai IC₅₀ ekstrak metanol daun bunga matahari sebesar 22,18 µg/ml dan fraksi etil asetat sebesar 16,68 µg/ml (Riadul Badi’ah, 2017).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Ashitaba (*Angelica keiskei*)

a. Deskripsi Ashitaba

Ashitaba adalah tanaman asli dari Jepang yang dikenal sebagai harta karun dan sayur-sayuran. Menurut sejarah Bangsa Jepang, ashitaba merupakan tanaman yang dapat memperpanjang umur, yang dulu dicari-cari oleh kaisar pertama Cina dari Dinasti Chin. Pada jaman kekaisaran Edo, Hachi Jo Island, ashitaba juga dikenal sebagai jamu umur panjang. Ashitaba mempunyai daya hidup yang sangat kuat, maka jika daunnya dipetik keesokan harinya tunas daun baru muncul (Harmanto, 2004).



Gambar 2.1 Tanaman Ashitaba (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2019)

Sistem perakaran Ashitaba adalah serabut, yaitu bila akar lembaga dalam perkembangannya akan mati kemudian akan tumbuh sejumlah akar yang kurang lebih sama besar. Akar tersebut dalam perkembangannya akan mengalami modifikasi menjadi akar yang membesar sebagaimana akar umbi-umbian yang menyebabkan akar tersebut tampak mempunyai sistem perakaran tunggang.

Ashitaba mempunyai batang herba atau setengah perdu sebagaimana tanaman dari famili Apiaceae lainnya (Dasuki, 1991). Ashitaba mempunyai batang lunak serta menghasilkan banyak cairan seperti tanaman jenis herba lainnya. Batang Ashitaba termasuk dalam jenis batang lunak dan basah. Batang Ashitaba berbentuk silinder dengan serat vertikal pada sepanjang batangnya, disebut juga batang beralur. Batang Ashitaba tumbuh tegak lurus menuju arah sinar matahari. Tanaman ini tidak mempunyai cabang.

Menurut Dasuki (1991) daun dari family Apiaceae mempunyai susunan daunnya tersebar dan jarang berhadapan, mempunyai pelepah. Daun Ashitaba terdiri dari helaian, tangkai, dan pelepah. Tangkai daun berbentuk silinder. Pelepah daun mengalami pelebaran ke samping membentuk upih dan melekat pada batang utama. Daun Ashitaba merupakan daun majemuk campuran. Menurut Tjitrosoepomo (2002) daun majemuk campuran adalah daun yang mempunyai cabang-cabang.

b. Klasifikasi Tanaman

klasifikasi Ashitaba (*Angelica keiskei*) adalah sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 2002):

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Apiales
Familia : Apiaceae
Genus : *Angelica*
Spesies : *Angelica keiskei*

c. Kandungan Senyawa Tanaman Ashitaba

Ashitaba mengandung senyawa alkaloid, saponin dan glikosida dengan kategori kuat pada semua bagian tanaman. Kandungan flavonoid, triterpenoid dan tanin tertinggi terdapat pada daun (Sembiring & Manoi, 2011). Menurut Wiralaga (2015) batang Ashitaba mengandung getah yang berwarna kuning, disebut sebagai kalkon termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yang mengandung xantoangelol dan 4-hydroxyderricin. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang ditemukan sebagai metabolit sekunder pada tanaman. Berbagai macam aktivitas farmakologi telah diketahui dimiliki oleh flavonoid, seperti antioksidan, antiinflamasi, antikanker (Mahapatra *et al.*, 2015) dan antimalaria (kaur *et al.*, 2009).

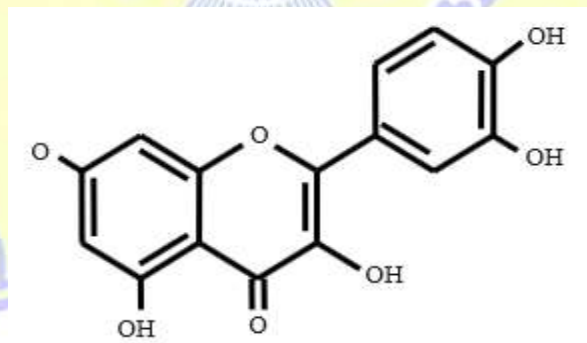
d. Manfaat Tanaman Ashitaba

Ashitaba yang kaya akan vitamin dan mineral, menurut Sembiring dan Manoi (2011) dapat meningkatkan produksi sel darah merah, meningkatkan konsentrasi, produksi hormon pertumbuhan serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit maupun infeksi. Ekstrak daunnya mempunyai aktivitas sebagai antitumor, kanker (paru-paru dan kulit), juga mempunyai potensi sebagai antioksidan. Efek antioksidan ashitaba juga berfungsi untuk menjaga organ tubuh dan kerusakan sel akibat radikal bebas serta memperlambat proses penuaan. Ashitaba juga berpotensi untuk menginduksi sekresi susu pada ibu menyusui. Kemudian juga berpotensi menyembuhkan diabetes, asam lambung, hipertensi, jantung coroner, asma, liver, menurunkan kolesterol, osteoporosis, ginjal, maag dan menambah vitalitas, menghambat poliferasi HIV.

Suhartati dan Virgianti (2015) melaporkan, bahwa ekstrak etanol 70% daun Ashitaba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Suhartati dan Nurasih (2016) juga melaporkan, bahwa ekstrak air daun Ashitaba mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Zat aktif yang terdapat dalam kalkon bermanfaat meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi, juga berfungsi sebagai antitumor (Suhartati & Nurasih, 2016).

2. Senyawa Flavonoid

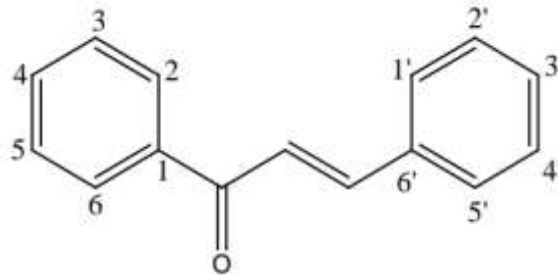
Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon kalkan (Robinson, 1995). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang memiliki gugus-OH dengan adanya perbedaan, keelektronegatifan yang tinggi, sehingga sifatnya polar. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C₃ sesuai struktur kimianya seperti flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur kerangka dasar senyawa flavonoid (Markham, 1988)

Batang Ashitaba mengandung golongan senyawa flavonoid jenis kalkon (Wiragala, 2015). Kalkon (Gambar 2.3) merupakan ‘antoklor’ yaitu pigmen kuning yang dapat dideteksi bila daun bunga yang berwarna kuning diasapi dengan asap basa dari sebatang cerutu, atau diuapi dengan

uap amonia, warnanya berubah menjadi jingga atau merah. Salah satu contoh kalkon adalah lutein, yang terdapat di alam sebagai glikosida.



Gambar 2.3 Struktur Kalkon (Robinson, 1995)

Dari berbagai literatur, ada beberapa kemungkinan mekanisme flavonoid terhadap parasit malaria. Kemungkinan-kemungkinan mekanisme kerja ini ada yang memiliki target di vakuola makanan, yang lainnya diluar vakuola makanan. Kalkon suatu senyawa flavonoid minor telah diketahui memiliki aktivitas penghambat pertumbuhan parasit melalui mekanisme penghambatan enzim sistein protease ini dapat menyebabkan terhambatnya proses hidrolisis hemoglobin menjadi asam amino yang dibutuhkan parasit. Dengan demikian sintesis protein parasit juga akan terhambat (Biagini *et al.*, 2003).

Bimakra *et al* (2010) melakukan isolasi flavonoid dengan pelarut metanol, etanol p.a dan etanol 70%. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pelarut dengan kepolaran yang lebih rendah dapat mengekstraksi flavonoid dalam konsentrasi tinggi. Etanol p.a dan etanol 70% merupakan pelarut yang aman dan dengan toksisitas rendah daripada metanol. Setiawan (2008) mengisolasi senyawa flavonoid daun jati belanda

menggunakan pelarut etanol 70% dan didapatkan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya

3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut. cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Diketuainya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (DepKes RI, 2000). Menurut Departemen Kesehatan RI (2000), beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan dalam berbagai penelitian antara lain yaitu:

a. Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Maserasi kinetik dilakukan dengan pengadukan yang kontinu. Remaserasi dilakukan dengan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat pertama dan seterusnya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna yang umumnya

dilakukan pada suhu kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) yang terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

b. Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Digesti

Digesti adalah proses penyarian simplisia dengan pengadukan secara terus-menerus pada temperatur yang lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

3. Sokletasi

Sokletasi adalah proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan dengan alat khusus (menggunakan alat Sokhlet) sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

4. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama waktu 15 menit.

5. Dekoktasi

Dekoktasi adalah proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit.

4. Malaria

a. Pengertian Malaria

Menurut Prabowo (2004), malaria adalah penyakit menular yang disebabkan oleh parasit (protozoa) dari genus *Plasmodium* Sp, yang dapat ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* Sp. Istilah malaria diambil dari dua kata bahasa Italia, yaitu mal (buruk) dan area (udara) atau udara buruk karena dahulu banyak terdapat di daerah rawa-rawa yang mengeluarkan bau busuk.

b. Etiologi Malaria

Menurut Prabowo (2004) penyakit malaria disebabkan oleh parasit malaria (yaitu suatu protozoa darah yang termasuk genus *Plasmodium* Sp) yang dibawa oleh nyamuk *Anopheles*. *Plasmodium* Sp ini pada manusia menginfeksi eritrosit (sel darah merah) dan mengalami pembiakan aseksual di jaringan hati dan di eritrosit. Pemiakan seksual terjadi pada tubuh nyamuk yaitu nyamuk *Anopheles* Sp betina (Sudoyo, 2009).

Ada empat spesies *Plasmodium* Sp penyebab malaria pada manusia, yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falcifarum*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium ovale*. Masing-masing spesies *Plasmodium* Sp menyebabkan infeksi malaria yang berbeda-beda. *Plasmodium vivax* menyebabkan malaria *vivax/tertiana*, *Plasmodium falcifarum* menyebabkan malaria *falcifarum/tropika*, *Plasmodium malariae* menyebabkan malaria *malariae/quartana*, dan *Plasmodium ovale* menyebabkan malaria *ovale* (Prabowo, 2004).

c. Patologi Malaria

Studi Patologi malaria hanya dapat dilakukan pada malaria falsiparum karena kematian biasanya disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. Selain perubahan jaringan dalam patologi malaria yang penting ialah keadaan mikro-vaskular dimana parasit malaria berada. Beberapa organ yang terlibat antara lain otak, jantung, paru, hati, limpa, ginjal, usus, dan sumsum tulang.

Pada jantung dan paru selain sekuestrasi, jantung relatif normal, bila anemia tampak pucat dan dilatasi. Pada paru dijumpai gambaran edema paru, pembentukan membran hialin, adanya agregasi leukosit. Pada ginjal tampak bengkak, tubulus mengalami iskhemia, sekuestrasi pada kapiler glomerulus, proliferasi sel mesangial dan endotel. Pada pemeriksaan imunifluoresen dijumpai deposisi imunoglobulin pada membran basal kapiler glomerulus. Pada saluran cerna bagian atas dapat terjadi perdarahan karena erosi, selain sekuestrasi juga

dijumpai iskemia yang menyebabkan nyeri perut. Pada sumsum tulang dijumpai dyserythropises, makrofag mengandung banyak pigmen dan *erythrophagocytosis* (Sudoyo, 2009).

5. Plasmodium

a. Klasifikasi plasmodium

Subordo haemosporina terdiri dari tiga famili, yaitu *Plamodiidae*, *Haemoproteidae* dan *Leucocytozoonidae*. *Macrogametocyt* dan *microgametocyst* berkembang secara terpisah. Bentuk zygot adalah motil disebut ookinet, sedangkan sporozoit berada dalam dinding spora. Protozoa ini adalah *heteroxegenous*, dimana merozoit diproduksi di dalam hospes vetebrata dan sporozoit berkembang dalam hospes invertebrata, dan merupakan suatu protozoa darah yang klasifikasinya:

Filum : Apicomplexa
 Kelas : Sporozoa
 Sub kelas : Coccidiidae
 Ordo : Eucoccidiidae
 Sub ordo : Haemosporidiidae
 Famili : Plasmodiidae
 Genus : Plasmodium
 Spesies : *Plasmodium falciparum*

Plasmodium vivax

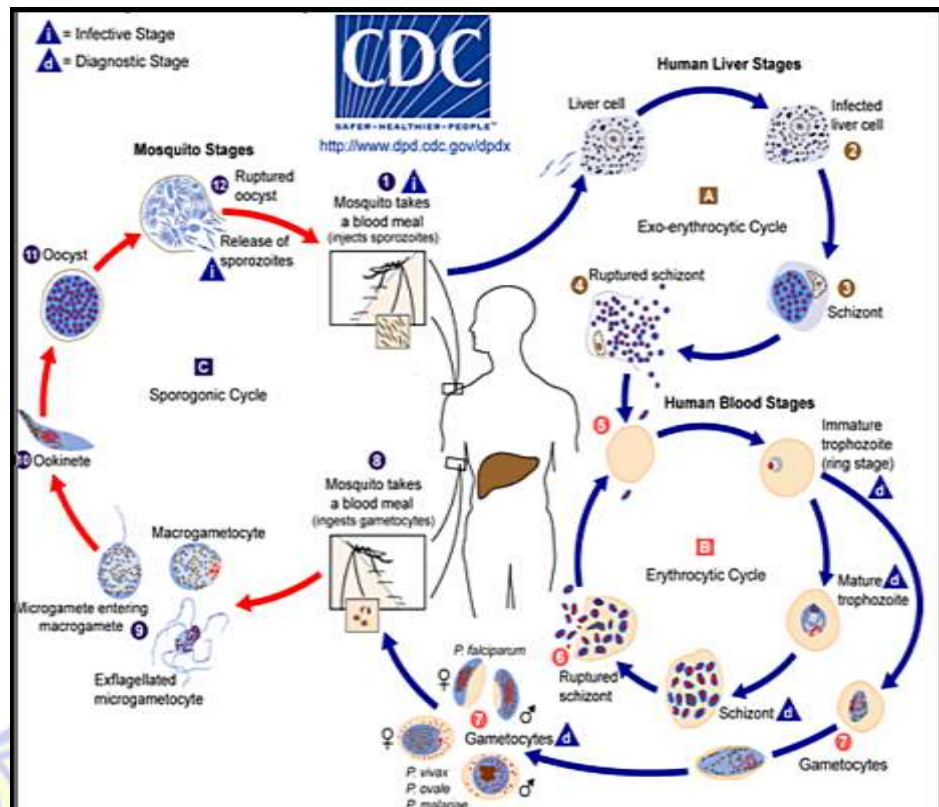
Plasmodium malariae

Plasmodium ovale

b. Siklus Hidup *Plasmodium* Sp

Parasit darah dari genus *plasmodium* pada dasarnya ada sekitar 156 nama spesies yang dapat menginfeksi spesies vertebrata. Namun hanya ada empat yang dianggap parasit sejati manusia karena mereka memanfaatkan secara eksklusif hospes perantara, yakni *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*. Namun, ditemukan parasit baru yang dapat menginfeksi manusia yang berasal dari parasit malaria monyet yaitu *Plasmodium knowlesi* (CDC, 2016).

Siklus *plasmodium* melibatkan dua host yakni manusia dan nyamuk *Anopheles* betina. Pada awalnya nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi sporozoit *inoculates* menggigit manusia dan akan melepaskan sporozoit ke dalam pembuluh darah dimana dalam waktu 45 menit akan menuju ke hati dan menginfeksi sel hati serta tumbuh menjadi skizon hati yang bila pecah akan melepaskan 10.000 – 30.000 merozoit ke sirkulasi darah (Harjianto, 2014).



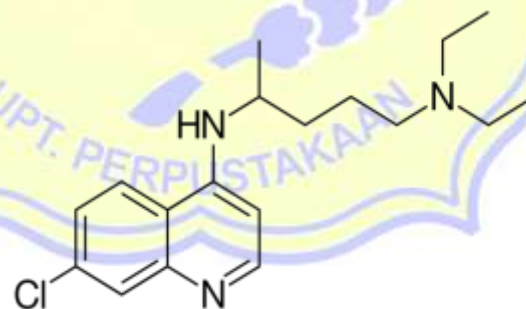
Gambar 2.4 Siklus Hidup *Plasmodium* Sp (CDC, 2016)

Plasmodium vivax dan *Plasmodium ovale* terdapat tahap hipnozoit yang dapat bertahan dalam hati selama berminggu-minggu bahkan bertahun-tahun dan menyebabkan kambuh dengan menginvasi aliran darah. Setelah replikasi awal ini dalam hati (*skizogoni exo-erythrocytic*), plasmodium akan menyerang eritrosit dan mengalami perkawinan aseksual dalam eritrosit (*erythrocytic schizogony*). Merozoit yang menginfeksi sel darah merah akan berubah menjadi trofozoit tahap cincin dan tumbuh menjadi skizon, yang mana bila pecah melepaskan merozoit dan dapat menginfeksi sel darah merah lain. Beberapa parasit berdiferensiasi menjadi tahapan *erythrocytic* seksual/gametosit (CDC, 2016).

Pada tahap Gametosit yakni jantan (*microgametocytes*) dan betina (*macrogametocytes*) didalam darah tertelan oleh nyamuk *Anopheles* selama menghisap darah, perkawinan parasit di nyamuk dikenal sebagai siklus sporogoni. Sementara di perut nyamuk, mikrogamet yang menembus makrogamet menghasilkan zigot. Zigot tersebut nantinya akan menjadi motil dan memanjang (ookinet) yang menyerang dinding midgut nyamuk, di mana mereka berkembang menjadi ookista. Ookista yang masak/matang akan mengeluarkan sporozoit yang akan bermigrasi ke kelenjar ludah nyamuk dan siap menginfeksi manusia (CDC, 2016).

6. Klorokuin

Klorokuin merupakan obat pilihan dalam pengobatan dan kemoprofilaksis malaria yang disebabkan *P.vivax*, *P.malariae*, *P.ovale*, *P.falciparum*, yang bekerja pada fase eritrosit aseksual (Emiliana, 2008).



Gambar 2.5 Struktur Klorokuin (Ganiswara, 1995)

Mekanisme kerja klorokuin terhadap *Plasmodium* belum begitu jelas, diduga aktivitas klorokuin terjadi di vakuola makanan. Berdasarkan

beberapa penelitian ada 3 hipotesis yang berkembang dan dianut sampai sekarang, yaitu :

1. Hipotesis basa lemah

Vakuola makanan parasit bersifat asam. Dengan masuknya klorokuin yang bersifat basa akan meningkatkan pH organel tersebut dan nantinya mengganggu metabolisme parasit, sehingga parasit mati (Krogstad & Schlesinger, 1987).

2. Hipotesis berikatan dengan DNA parasit

Pada hipotesis ini klorokuin diduga berinterkalasi ke dalam *double stranded* DNA dan menghambat sintesis protein. Teori ini menyatakan bahwa klorokuin mempunyai afinitas tinggi pada bagian tertentu dari genom (poli G dan C). Akumulasi secara selektif pada gen spesifik menyebabkan klorokuin toksik terhadap parasit. Disamping itu interkalasi menyebabkan struktur tiga dimensi dari DNA akan berubah (Meshnick, 1990).

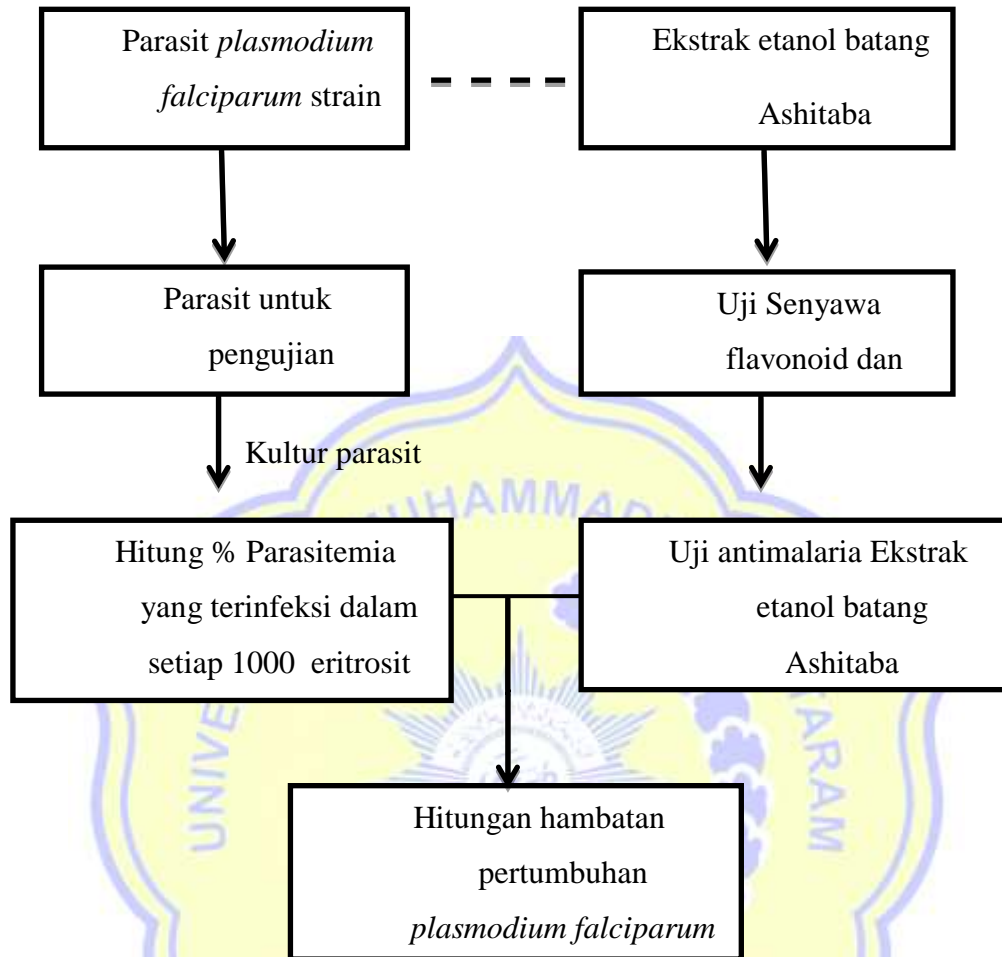
3. Hipotesis feriprotoporfirin IX

Sumber energi parasit berasal dari hemoglobin sel darah merah yang dihancurkan di vakuola makanan. Hemoglobin di dalam vakuola makanan mengalami degradasi menjadi heme yang mengandung feriprotoporfirin IX yang bersifat toksik. Heme mengalami polimerasi oleh menjadi hemozoin yang bersifat non toksik. Klorokuin dalam vakuola makanan akan menghambat polimerasi heme sehingga tidak mengalami detoksifikasi. Gabungan Feriprotoporfirin IX dengan

klorokuin membentuk suatu kompleks yang bersifat toksik terhadap sel, sehingga pada konsentrasi tertentu melisis parasit. Selain itu klorokuin sendiri atau bersama-sama feriprotoporfirin IX meningkatkan pH dalam vakuola makanan, yang mengganggu metabolisme parasit (WHO, 1984).

Hingga saat ini, klorokuin masih merupakan obat pilihan (*drug of choice*) dalam penanganan infeksi malaria, namun untuk pengobatan akibat *Plasmodium falciparum* peranannya mulai tergantikan akibat timbulnya resistensi secara luas terhadap klorokuin, salah satu sebab resistensi ini adalah mutasi pada gen Pfcrt dan Pfmdr1, yaitu gen yang mengkode protein transmembran dalam vakuola makanan sehingga adanya mutasi ini menyebabkan konsentrasi klorokuin dalam vakuola makanan menjadi berkurang (Djimde *et al.*, 2001). Di wilayah Amazon dan Asia Tenggara telah ditemukan bahwa *Plasmodium falciparum* telah resisten terhadap klorokuin. *Plasmodium vivax* juga ditemukan telah resisten terhadap klorokuin di wilayah Papua Nugini, Papua Barat dan Sumatera (Widoyono, 2010)

B. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep Uji Aktivitas Antimalaria *In Vitro* dari Ekstrak Etanol Batang Tanaman Ashitaba

C. Hipotesis

Hipotesa adalah jawaban yang bersifat sementara dari suatu penelitian (Notoadmodjo, 2005). Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah adanya aktivitas antimalaria dari ekstrak etanol batang ashitaba terhadap pertumbuhan parasit *Plasmodium falciparum*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Universitas Muhammadiyah Mataram dan Laboratorium Malaria, *Institute of Tropical Disease Center (ITDC)*, Universitas Airlangga, Surabaya pada bulan Maret hingga Juni 2019.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol batang tanaman Ashitaba.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu nilai IC_{50} dari ekstrak batang tanaman Ashitaba.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanaman Ashitaba yang diperoleh dari Desa Sembalun, Lombok Timur Provinsi NTB.

2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah batang tanaman Ashitaba yang diperoleh dari Desa Sembalun, Lombok Timur Provinsi NTB yang dibuat dalam bentuk ekstrak menggunakan metode maserasi.

E. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu mikropipet, erlenmeyer, gelas ukur, vial, botol gelap, kertas saring, kain kasa, neraca analitik, *laminar air flow* (LAF), *water bath*, inkubator, autoklaf, lemari pendingin, eksikator (Candle-jar), membran filter 0,22 μm , pipet, *petri-dish*, lempeng sumur mikro (*microplate*), botol medium steril, sentrifuse, tabung reaksi.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu etanol 70%, batang tanaman Ashitaba (*Angelica keiskei*) yang diperoleh dari Desa Sembalun, obat klorokuin, dimetilsulfoksida (DMSO), Asam Hidroklorida (HCl) pekat, serbuk Magnesium, larutan giemsa 10%, parasit yang digunakana dalah *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang diperoleh dari Laboratorium Malaria, ITDC Universitas Airlangga, Surabaya.

F. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan simplisia batang Ashitaba

Tumbuhan yang digunakan adalah batang tanaman Ashitaba yang didapatkan dari Desa Sembalun, Lombok Timur, NTB. Batang tumbuhan Ashitaba yang masih segar dirajang dan dicuci bersih. Batang Ashitaba yang telah bersih, kemudian di keringkan dalam oven. Hasil pengeringan disortasi kering lalu dihaluskan dengan blender. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup.

2. Pembuatan ekstrak batang Ashitaba

Serbuk simplisia batang Ashitaba ditimbang sebanyak 100 gr untuk dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut yang digunakan diganti setiap 24 jam sekali (Silva *et al.*, 1998). Kemudian ekstrak etanol diuapkan dengan menggunakan *water bath* sampai diperoleh ekstrak kental.

3. Uji senyawa flavonoid dan kalkon

a. Pereaksi *Wilstater*

2 ml larutan ekstrak batang Ashitaba ditambahkan 10 tetes HCl pekat ditambahkan sedikit serbuk Magnesium. Warna kuning-jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron, mengikuti penelitian Sofa Fajriah & Megawati (2015).

b. Pereaksi *Bate Smite-Metcalf*

2 ml larutan ekstrak batang Ashitaba ditambahkan 10 tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

4. Uji antimalaria

a. Preparasi sampel uji

Sebanyak 1 mg sampel batang *Ashitaba* dilarutkan dalam 100 μl DMSO (larutan stok, konsentrasi 10.000 $\mu\text{g/ml}$). Selanjutnya dari larutan stok dibuat serial pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi akhir sebesar 1000 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$.

b. Preparasi parasit uji

Parasit yang digunakan pada uji ini adalah parasit yang sudah sinkron (stadium ring) dengan parasitemia $\pm 1\%$.

c. Prosedur uji antimalaria

Sebanyak 2 μl larutan uji dengan berbagai konsentrasi di ambil dan dimasukkan dalam tiap well (well 96), lalu ditambahkan 198 μl parasit sehingga diperoleh konsentrasi akhir dari sampel uji sebesar 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 1 $\mu\text{g/ml}$, 0.1 $\mu\text{g/ml}$, 0.01 $\mu\text{g/ml}$. Well uji selanjutnya dimasukkan dalam chamber dan diberikan mix gass (O_2 5%, CO_2 5% dan N_2 90%). Chamber yang berisi well uji diinkubasi 48 jam, suhu 37°C. Kultur kemudian dipanen dan dibuat hapusan darah tipis dengan pewarnaan giemsa 10%. Pada penelitian ini menggunakan kontrol negatif larutan DMSO dan kontrol positif menggunakan obat klorokuin.

G. Analisis Data

Hapusan darah yang sudah dibuat, dihitung dengan cara menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi setiap 1000 eritrosit normal di bawah mikroskop. Data tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan Persen pertumbuhan dan Persen penghambatan.

Persen pertumbuhan didapatkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Pertumbuhan} = \% \text{ Parasitemia} - D0$$

Keterangan:

D0 = % pertumbuhan pada jam ke-0

Rumus untuk perhitungan % Penghambatan adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

X_u = % pertumbuhan pada larutan uji

X_k = % pertumbuhan pada kontrol negatif

Berdasarkan data persen penghambatan dilakukan analisis antara konsentrasi uji terhadap persen penghambatan dengan menggunakan analisis probit log untuk mengetahui nilai IC₅₀ atau konsentrasi bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan parasit sebanyak 50%.