

**UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM FRAKSI n-HEKSAN DARI
EKSTRAK DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.)
TERHADAP *Plasmodium falcifarum* SECARA *in vitro***



Oleh :

**Nabella Anggra Yogita
18123544 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM FRAKSI n-HEKSAN DARI
EKSTRAK DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.)
TERHADAP *Plasmodium falcifarum* SECARA *in vitro***

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S,Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*



Oleh:

**Nabella Anggra Yogita
18123544 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM FRAKSI *n*-HEKSAN DARI
EKSTRAK DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.)
PADA *Plasmodium falcifarum* SECARA *in vitro***

Oleh:
Nabella Anggra Yogita
18123544A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 25 Oktober 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Dr. Drs. Supriyadi, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

Dr. Gunawan Pamudji W, S.Si., M.Si., Apt.

Penguji :

1. Drs. Mardiyono, M.Si.

1.....

2. Dr. Ana Indrayati, S.Si., M.Si.

2.....

3. Ganet Eko P, S.Farm., M.Si., Apt.

3.....

4. Anita Nilawati, S.Farm., M.Farm., Apt.

4.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dia memberikan hikmah (ilmu yang berguna) kepada siapa yang dikehendaki-Nya. Barang siapa mendapat hikmah itu, sesungguhnya ia telah mendapat kebajikan yang banyak; dan tiadalah yang menerima peringatan, melainkan orang-orang yang berakal. (QS Al-Baqarah : 269)

Kesuksesan hanya dapat diraih dengan segala upaya dan usaha yang disertai doa, karena sesungguhnya nasib seseorang manusia tidak akan berubah dengan sendirinya tanpa berusaha.

Kesuksesan tidak akan bertahan jika dilalui dengan jalan pintas. Kegagalan terjadi karena terlalu banyak berencana tapi sedikit berpikir.

Nilai prestasi adalah keseluruhan pribadi yang cerdas dan beretika. Kesuksesan itu bukan ditunggu, tetapi diwujudkan lewat usaha dan kegigihan.

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- *Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala nikmat yang diberikan untuk penulis. Sehingga tiada alasan bagi penulis untuk berhenti bersyukur. “Alhamdulillah Alhamdulillah Alhamdulillah”*
- *Nabi Muhammad SAW yang memberikan teladan kepada seluruh umatnya. Termasuk penulis, dimana mendorong penulis untuk selalu ingin menjadi orang yang lebih baik lagi.*
- *Kedua orang tuaku yang telah merawatku dengan kasih sayang tanpa batas, yang selalu mendoakanku tanpa henti, dan dukungan yang selalu ada.*
- *Adikku tercinta (Anggun) yang selalu memberi semangat dan dukungan selama ini dan yang selalu mendoakanku tanpa henti.*
- *Geti, Ira dan Debi sahabat terbaikku yang selalu memberi semangat dan dukungan untuk mengerjakan skripsi ini.*
- *Sahabat dan teman-temanku sekelas teori FKK 3*
- *Alamater, Agama, Bangsa dan Negara*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu tempat Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/ karya ilmiah/ skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 09 September 2016



Nabella Anggra Yogita

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, inayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul: **“UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM FRAKSI *n*-HEKSAN DARI EKSTRAK DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.) PADA *Plasmodium falcifarum* SECARA *in vitro*”**. Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penuli banyak mendapat bimbingan, petunjuk dan saran-saran yang berguna dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Drs. Supriyadi, M.Si selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian, ketulusan dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan dalam menyusun skripsi ini.
4. Dr. Gunawan Pamudji W, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing penulis dalam melakukan penelitian dan menyelesaikan skripsi ini.
5. Vivin Nopiyanti, S.Farm., M.Sc., Apt selaku pembimbing akademik di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

6. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan arahan dan saran untuk penyusunan skripsi ini.
7. Dosen, staf laboratorium, bapak ibu petugas perpustakaan dan bapak ibu pegawai Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
8. Dosen, staf laboratorium kultur farmakologi dan pegawai Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
9. Keluarga tercintaku Bapak, ibu, adikku dan keluarga besarku di Sukoharjo yang selalu mendoakanku, memberikanku semangat dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak sekali kekurangan dan kelemahan, karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman penulis, meskipun penulis telah berusaha semaksimal mungkin dalam menyajikan. Oleh karena itu penulis mengharapkan segala kritik dan saran yang membangun. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis, pembaca dan perkembangan dunia Farmasi.

Surakarta, Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Masalah	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Bayam Duri	5
1. Sistematika tanaman.....	5
2. Nama lain.....	6
3. Morfologi tanaman	6
4. Habitat tanaman.....	6
5. Kegunaan tanaman	6
6. Kandungan kimia.....	6
B. Malaria	10
1. Penyebab penyakit malaria	12
2. Gejala malaria	16
3. Siklus parasit malaria	17
4. Kekambuhan	19

5. Diagnosa malaria.....	20
C. Ekstraksi.....	21
1. Pengertian ekstraksi	21
2. Pelarut ekstraksi	22
3. Metode ekstraksi	22
4. Fraksinasi	23
D. Meode Pemisahan	23
1. Kromatografi lapis tipis.....	23
E. Landasan Teori.....	25
F. Hipotesis.....	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
A. Populasi dan Sampel	27
B. Variabel Penelitian	27
1. Identifikasi variabel utama.....	27
2. Klasifikasi variabel utama.....	28
3. Definisi operasional variabel utama.....	28
C. Bahan dan Alat.....	29
1. Bahan.....	29
2. Alat.....	29
D. Jalannya Penelitian.....	30
1. Determinasi tanaman.....	30
2. Pengambilan sampel.....	30
3. Pembuatan serbuk daun bayam duri	30
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam duri.....	30
5. Pembuatan ekstrak etanol 70 % bayam duri	31
6. Fraksinasi ekstrak etanolik bayam duri.....	32
7. Identifikasi kualitatif fraksi n-heksan bayam duri	32
8. Uji aktivitas antiplasmodium	34
9. Analisis data	37
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	38
A. Tanaman Bayam Duri	38
1. Determinasi tanaman bayam duri.....	38
2. Hasil deskripsi tanaman bayam duri	39
3. Hasil pengeringan daun bayam duri.....	39
4. Identifikasi serbuk daun bayam duri	40
5. Hasil penetapan susut pengeringan pada serbuk bayam duri...	40
6. Hasil pembuatan fraksi n-heksan daun bayam duri	41
7. Hasil pemeriksaan kualitatif fraksi n-heksan bayam duri	41
8. Identifikasi kualitatif fraksi n-heksan daun bayam duri.....	42
B. Uji Aktivitas antiplasmodium Secara <i>in vitro</i>	44
1. Perhitungan konsentrasi	44
2. Hasil uji aktivitas antiplasmodium.....	45

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bayam duri (<i>Amaranthus spinosus</i> L.)	5
2. Plasmodium	12
3. Siklus hidup parasit malaria.....	18
4. Skema pembuatan ekstrak etanol bayam duri	31
5. Skema pembuatan fraksi n-heksan	32
6. Larutan stok dan pengenceran pengujian aktivitas antiplasmodium terhadap <i>Plasmodium falcifarum strain</i> FCR 3	35
7. Skema pengujian aktivitas antiplasmodium terhadap <i>Plasmodium</i> <i>falcifarum strain</i> FCR 3.....	36
8. Hasil identifikasi golongan flavonoid.....	42
9. Hasil identifikasi golongan tanin.....	43
10. Apusan tipis dari sel darah merah pada proses pembiakan <i>Plasmodium falcifarum</i> FCR 3	46
11. Apusan tipis dari sel darah merah (eritrosit).....	47
12. Grafik hubungan konsentrasi dengan % penghambatan pada fraksi n-heksan daun bayam duri.....	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil pemeriksaan organoleptik serbuk daun bayam duri	40
2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam duri	40
3. Hasil pemeriksaan organoleptik fraksi n-heksan daun bayam duri	41
4. Hasil identifikasi kandungan senyawa fraksi n-heksan daun bayam duri	42
5. Hasil perhitungan konsentrasi fraksi n-heksan bayam duri	45
6. Rata-rata parasitemia dan penghambatan pertumbuhan <i>P.falcifarum</i> strain FCR-3 pada pemberian fraksi n-heksan bayam duri	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil determinasi bayam duri	57
2. Tanaman bayam duri, serbuk daun bayam duri dan fraksi daun bayam duri	58
3. Foto alat-alat yang digunakan dalam penelitian	59
4. Foto hasil identifikasi kualitatif dari fraksi n-heksan daun bayam duri	60
5. Foto sampel dan larutan stok	61
6. Foto pembuatan sediaan apusan	62
7. Foto hasil apusan	63
8. Foto lempeng hasil pengujian kandungan secara KLT dan perhitungan Rf	64
9. Hasil persentase berat kering terhadap berat basah daun bayam duri	65
10. Hasil penetapan persentase susut pengeringan serbuk daun bayam duri	66
11. Data fraksi yang diperoleh dari proses ekstraksi	67
12. Perhitungan konsentrasi untuk fraksi n-heksan daun bayam duri	68
13. Data perhitungan hasil pembacaan <i>Plasmodium falcifarum</i> dan % hambatan fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri.....	69
14. Hasil perhitungan untuk menentukan nilai IC ₅₀	71

INTISARI

YOGITA, NA. 2016. UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM FRAKSI n-HEKSAN DARI EKSTRAK DAUN BAYAM DURI (*Amaranthus spinosus* L.) PADA *Plasmodium falcifarum* SECARA *in vitro*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang digunakan untuk berbagai macam keperluan antara lain sebagai antipiretik, diuretik, antiinflamasi, antibakterial dan antimalaria. Bayam duri mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas fraksi n-heksan ekstrak etanol daun bayam duri terhadap *Plasmodium falcifarum* dan mengetahui konsentrasi fraksi n-heksan ekstrak etanol daun bayam duri yang efektif terhadap *Plasmodium falcifarum*.

Metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dan metode fraksinasi n-heksan diperoleh dengan cara mengekstrak serbuk daun bayam duri dengan menggunakan pelarut n-heksana 75 ml sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah sampai membentuk sari n-heksan dan sari n-heksan tersebut selanjutnya disebut fraksi n-heksan. Fraksi diidentifikasi kandungan kimianya dan dilakukan uji aktivitas antiplasmodium secara *in vitro* pada *Plasmodium falcifarum*. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan analisis regresi linier.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap *Plasmodium falcifarum*. Fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri memperoleh hasil IC_{50} sebesar 383,8 $\mu\text{g/ml}$ hal ini menunjukkan fraksi n-heksan daun bayam duri tidak menghambat aktivitas pertumbuhan terhadap *Plasmodium falcifarum*.

Kata kunci : daun bayam duri, *Plasmodium falcifarum*, antiplasmodium, IC_{50}

ABSTRACT

YOGITA, NA. 2016. ANTIPLASMODIUM ACTIVITY TEST *in vitro* OF SPINES SPINACH (*Amaranthus spinosus* L.) LEAVES EXTRACT OF n-HEXANE FRACTION IN THE *Plasmodium falcifarum*, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Spines spinach (*Amaranthus spinosus* L.) is a medicinal plant traditionally used for a variety of purposes including as an antipyretic, diuretic, anti-inflammatory, antibacterial and antimalarial. Spinach spines contain alkaloids, flavonoids, tannins and saponins. This study aims to know the activity of n-hexane fraction of ethanol extracts of spinach leaves and thorns against *Plasmodium falcifarum* determine the concentration of n-hexane fraction of ethanol extract of spinach leaves thorns effective against *Plasmodium falcifarum*.

Solvent extraction method using 70% ethanol and the method of fractionation of n-hexane is obtained by extracting the powdered leaves of spinach with thorns using n-hexane 75 ml three times using a funnel to form a sari n-hexane and sari n-hexane is then referred to the fraction n-hexane. Fraction identified and tested its chemical content antiplasmodium activity *in vitro* on *Plasmodium falcifarum*. IC₅₀ values are calculated using linear regression analysis.

The results showed n-hexane fraction of thorns spinach leaf extract showed no growth inhibitory activity against *Plasmodium falcifarum*. n-hexane fraction of thorns spinach leaf extract obtained results IC₅₀ 383,8 µg/ml it showed n-hexane fraction spinach leaves thorn no constraining growth activity against *Plasmodium falcifarum*.

Keywords: leaf spines spinach, *Plasmodium falcifarum*, antiplasmodium, IC₅₀

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Daerah terpencil di Indonesia termasuk daerah yang kegiatan ekonominya berkaitan dengan hutan dan perpindahan penduduk merupakan salah satu cara penularan penyakit malaria di Indonesia, keadaan lingkungan ini umumnya buruk. Peningkatan kejadian malaria selain akibat perubahan iklim juga karena perubahan lingkungan, antara lain bekas tambak yang tidak pernah digunakan lagi, genangan air di bekas galian pasir, dan hutan bakau. Hal ini diperparah dengan perpindahan penduduk dari daerah endemis ke daerah bebas malaria dan sebaliknya. Parasit penyebab malaria ditularkan dari satu orang ke orang lain lewat perantara dari nyamuk *Anopheles*. Di kalangan masyarakat nyamuk ini dikenal dengan nyamuk malaria (Mursinto 2002).

Klorokuin merupakan obat modern yang digunakan untuk membasmi penyakit malaria. Pengobatan yang efektif untuk membasmi penyakit malaria harus mempertimbangkan beberapa faktor, yaitu : ketepatan melakukan diagnosis awal secepat mungkin, keterlambatan memperoleh obat yang cocok, ketidaktepatan dalam tahapan pengobatan, terjadi resistensi plasmodium terhadap obat antimalaria yang beredar (Mursinto 2002). Meningkatnya resistensi malaria terhadap obat-obat antimalaria, khususnya obat-obat sintesis seperti klorokuin, menuntut upaya atau penemuan obat-obat baru sebagai alternatif pengganti kina dan klorokuin yang mudah didapat, aman dan harga terjangkau (Tjitra 2000).

Salah satu pemecahan masalah malaria adalah mencari alternatif pengobatan yang berasal dari tanaman herbal yang banyak tumbuh di Indonesia. Semenjak ditemukannya artemesin sebagai pengobatan malaria dari herbal *Artemisia annua*, hal ini menjadi perhatian yang besar di seluruh dunia, juga di Indonesia. Banyak tanaman herbal sebagai antimalaria telah diteliti, seperti sambiloto, ceplukan, daun sabrang, tetapi belum banyak yang meneliti tentang bayam duri. Bayam duri merupakan tanaman bayam yang tumbuh liar, dan kemungkinan memiliki aktivitas malaria. Penelitian Hilou (2006) tentang hasil liofilisasi bayam duri dan *Boerhaavia erecta* menunjukkan bahwa kombinasi kedua ekstrak herbal ini mempunyai aktivitas skizontisidal darah malaria. Purniawan (2012) membuktikan bahwa ekstrak etanol bayam duri memiliki aktivitas skizontisidal secara *in vitro*.

Tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai antimalaria adalah bayam duri. Bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai antimalaria. Kandungan kimiawi tanaman bayam duri mengandung sejumlah konstituen aktif mencakup alkaloid, flavonoid, glikosida, asam fenolat, steroid, asam amino, terpenoid, lipid, saponin, betalain, B sitosterol, stigmaasterol, asam linoleat, amarantosida, amarisin, dan lain-lain. Kelompok alkaloid terdiri atas sejumlah betalain dan molekul turunannya. Betalain sudah dikenal karena khasiatnya sebagai antioksidan, antikanker, antiviral, dan antiparasit. Betalain merupakan pigmen kelompok alkaloid yang larut dalam air terdiri atas betasianin yang berwarna violet dan betaxanthin yang berwarna kuning (Azeredo 2009).

Parameter uji antiplasmodium yang digunakan penurunan jumlah leukosit dimana leukosit merupakan sistem pertahanan tubuh yang mampu melawan kuman, virus dalam tubuh, peranan leukosit pada aktivitas antimalaria merupakan pertahanan terhadap infeksi parasit, dimana infeksi parasit yang semakin banyak maka pertahanan leukosit juga semakin besar sebaliknya jika infeksi parasit semakin sedikit pertahanan leukosit semakin kecil sehingga aktivitas antimalaria mampu menurunkan jumlah leukositnya.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang diteliti dalam masalah ini adalah :

Pertama, apakah fraksi n-heksan ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium melalui uji *in vitro*?

Kedua, berapa konsentrasi efektif dari fraksi n-heksan ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) sebagai antiplasmodium terhadap *Plasmodium falcifarum*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antiplasmodium fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) melalui uji *in vitro*.

Kedua, untuk mengetahui konsentrasi efektif dari fraksi n-heksan ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) sebagai antiplasmodium terhadap *Plasmodium falcifarum*.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan ilmu pengetahuan dan informasi bagi masyarakat umum tentang aktivitas daun bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) sebagai antimalaria.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bayam Duri



Gambar 1. Bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.)

1. Sistematika tanaman

Tanaman bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) mempunyai sistematika sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Caryophyllales

Suku : Amaranthaceae

Marga : Amaranthus

Jenis : *Amaranthus spinosus* Linn (Astuti *et al.* 2013).

2. Nama lain

Nama lain dari tanaman bayam duri yaitu bayam eri, bayam raja, bayam cikron (Jawa); senggang cucuk (Sunda); bayam keruai (Lampung); ternyak duri, ternyak lakek (Madura); podo maduri (Bugis) (Setiawati *et al.* 2008).

3. Morfologi tanaman

Tanaman bayam duri termasuk jenis tumbuhan *amaranth*. Tanaman ini mempunyai batang lunak atau basah, tingginya dapat mencapai 1 meter. Tanda khas tanaman bayam duri adalah pada batang, tepatnya di pangkal tangkai daun terdapat duri, sehingga orang mengenal sebagai bayam duri. Bentuk daunnya menyerupai belahan ketupat dan berwarna hijau. Bunganya berbentuk bongkol, berwarna hijau muda atau kuning (Astuti *et al.* 2013).

4. Habitat tanaman

Tanaman bayam duri merupakan tanaman liar yang tumbuh diantara semak-semak, perkarangan rumah, ladang, tepi jalan atau lahan kosong yang tidak terpelihara. Bayam duri tumbuh baik ditempat-tempat yang cukup sinar matahari dengan suhu udara antara 25-35°C. Tanaman ini mudah tumbuh didataran rendah sampai ketinggian 50-100 cm.

5. Kegunaan tanaman

Tanaman ini merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan untuk berbagai macam keperluan antara lain sebagai antipiretik, diuretik, antiinflamasi, antibakterial dan antimalaria (Mishra 2012; Vardana 2012).

6. Kandungan kimia

Secara kimiawi bayam duri mengandung sejumlah konsistituen aktif mencakup alkaloid, flavonoid, glikosida, asam fenolat, steroid, asam amino,

terpenoid, lipid, saponin, B sitosterol, stigmamasterol, asam linoleat, amaranthosida, amarisin, tanin.

6.1. Flavonoid. Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang beragam pada berbagai jenis sereal, sayuran dan buah-buahan. Penelitian-penelitian mengenai peranan flavonoid pada tingkat sel, secara *in vitro* maupun *in vivo*, membuktikan pula adanya korelasi negatif antara asupan flavonoid dengan resiko munculnya penyakit kronis tertentu, salah satunya diduga karena flavonoid memiliki efek kardioprotektif dan aktivitas antiproliferatif (Redha 2010). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha 2010).

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai aktivitas antimalaria dari senyawa golongan ini banyak dilaporkan (Saxena *et al.* 2003). Flavonoid diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium falcifarum* baik yang sensitif maupun resisten terhadap klorokuin. Diketahui senyawa flavonoid dari tanaman *Artocarpus integer*, yaitu senyawa stilbene

terprenilasi, dapat menghambat pertumbuhan parasit pada kultur *in vitro* *Plasmodium falcifarum* (Boonlaksiri *et al.* 2000). Tanaman bayam sekurang-kurangnya terdapat 13 flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antimalaria, dan agen antikanker.

6.2. Alkaloid. Alkaloid merupakan suatu basa organik yang mengandung unsur nitrogen (N) pada umumnya berasal dari tanaman, yang mempunyai efek fisiologis kuat terhadap manusia. Kegunaan senyawa alkaloid dalam bidang farmakologi adalah untuk memacu sistem syaraf, menaikkan tekanan darah, dan melawan infeksi mikrobial.

Ekstraksi senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, metode ini dipilih karena pengerjaan dan mudah diperoleh maseratnya, serta proses perendaman yang cukup lama diharapkan dapat menarik lebih banyak zat aktif yang terkandung di dalam simplisia. Tahap selanjutnya yaitu diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi umum alkaloid dan kromatografi lapis tipis.

Alkaloid mempunyai zat bioaktif antimalaria. Kuinin adalah senyawa kimia alkaloid yang pertama sekali diisolasi dari *Cinchona* pada tahun 1834 dan merupakan bahan baku utama dalam pembuatan obat antimalaria sampai tahun 1930. Senyawa alkaloid lainnya seperti kuinidin, kinkonidin dan kinkonin juga telah berhasil diisolasi dari tumbuhan yang sama. Dari hasil studi kimianya dilaporkan bahwa terdapat hubungan antara bentuk konformasi kimia dengan aktivitas antimalaria dan senyawa kimia alkaloid tersebut, yaitu bahwa kuinidin lebih aktif daripada kuinin terhadap *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium*

falcifarum. Terhadap manusia yang sedang terinfeksi malaria, kinkonin sedikit lebih aktif. Kuinin lebih aktif bila digunakan sebagai pengontrol pada pembiakan malaria yang disebabkan *Plasmodium falcifarum*, *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium malariae*.

6.3. Saponin. Saponin adalah golongan glikosida dan sterol apabila dihidrolisis secara sempurna akan menghasilkan gula dan satu fraksi non-gula yang disebut sapogenin atau genin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam berbentuk busa dan menghemolisis darah. Hemolisis darah merah oleh saponin ini merupakan hasil interaksi antara saponin dengan senyawa-senyawa yang terdapat pada permukaan membran sel, seperti kolesterol, protein dan fosfolipid. Saponin larut dalam air, seperti kolesterol, protein dan fosfolipid. Saponin larut dalam air, sedikit larut atau tidak sama sekali dalam etanol dan metanol pekat yang dingin (Harborne 1987).

Aktivitas antiplasmodium ekstrak etanol beberapa tanaman obat terhadap menciit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* diperlihatkan bahwa daun johar (*Cassia siamea* Lamk.) mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, polifenol, kuinon dan triterpenoid. Daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung alkaloid, saponin dan flavonoid. Daun tapak dara (*Catharanthus roseus* L) mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, kuinon dan triterpenoid; akar tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) mengandung saponin, tanin, polifenol dan kuinon; biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) mengandung saponin dan flavonoid. Hasil tersebut menunjukkan semua tumbuhan obat yang diuji mengandung alkaloid

kecuali mahoni dan tapak liman; saponin dan flavonoid kecuali tapak liman (Fitrianingsih *et al.* 2010). Menurut Partomuan Simanjuntak (1995), dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya terhadap tumbuhan obat tradisional untuk malaria diperoleh beberapa golongan zat bioaktif antimalaria diantaranya adalah alkaloid, terpen, kuinon, fenolik, saponin dan senyawa kimia lainnya.

6.4. Tanin. Tanin terdapat luas dalam tanaman berpembuluh dan memiliki batang sejati. Secara kimia terdapat dua jenis tanin, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi hampir terdapat disemua tanaman paku-pakuan dan gymnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae terutama pada tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis, penyebarannya terbatas hanya pada tumbuhan berkeping dua. Kedua jenis tanin ini banyak dijumpai bersamaan dalam tumbuhan yang sama. Tanaman yang banyak mengandung tanin akan dihindari oleh hewan pemakan tanaman karena rasanya yang pahit. Salah satu fungsi tanin pada tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harborne 1987).

B. Malaria

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan karena infeksi kuman malaria atau demam menular yang disebabkan oleh protozoa genus Plasmodium, yang merupakan parasit pada sel darah. Malaria ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* betina infektif dan gejala-gejala jika terserang atau terinfeksi virus malaria adalah adanya serangan menggigil yang sering datang berkala, demam,

dan berkeringat, terjadi pada interval yang tergantung pada waktu yang diperlukan untuk berkembangnya generasi baru parasit di dalam tubuh (Santana 2007).

Perjalanan penyakit malaria terdiri atas serangan demam yang disertai oleh gejala lain dan diselingi oleh periode bebas penyakit. Gejala khas demamnya adalah periodisitasnya. Masa tunas intrinsik pada malaria adalah waktu antara sporozoit masuk dalam badan hospes sampai timbulnya gejala demam, biasanya berlangsung antara 8-37 hari, tergantung pada spesies parasit (terpendek untuk *P. falcifarum*, terpanjang untuk *P. malariae*), pada beratnya infeksi dan pada pengobatan sebelumnya atau pada derajat resistensi hospes, disamping itu juga tergantung dan cara infeksi, yang mungkin disebabkan oleh tusukan nyamuk atau secara induksi, misalnya melalui transfusi darah yang mengandung stadium aseksual. Masa pra-paten berlangsung sejak saat infeksi sampai ditemukan parasit malaria dalam darah untuk pertama kali, karena jumlah parasit telah melewati batas ambang mikroskopik. Masa tunas intrinsik parasit malaria yang ditularkan oleh nyamuk kepada manusia adalah 12 hari untuk malaria *falcifarum*, 13-17 hari untuk malaria *vivax* dan *ovale* dan 28-30 hari untuk malaria (kuartana) (Pribadi 1998).

Penyakit malaria secara klinis dikenal tiga macam. Malaria tropikana yang disebabkan oleh *P. falcifarum* cenderung menjadi akut, tetapi bila cepat diobati, hasil pengobatan memuaskan. Malaria kuartana yang disebabkan oleh *P. malariae* dan terdapat di Afrika Barat banyak disertai dengan sindrom nefrotik. Manusia merupakan hospes antara tempat plasmodium mengadakan skizogoni (siklus aseksual), sedangkan nyamuk *Anopheles* merupakan vektor dan hospes definitif

tempat terjadinya siklus seksual dan reproduksi yang dilengkapi dengan sporogoni. Pada manusia parasit ini hidup dalam sel tubuh (*fixed tissue cells*) dan sel darah manusia.

1. Penyebab penyakit malaria

Malaria disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium*, pada manusia terdapat 4 spesies yaitu *Plasmodium falcifarum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*. *Plasmodium falcifarum* menyebabkan infeksi paling berat dan angka kematian tertinggi.

1.1. *Plasmodium vivax*. *Plasmodium vivax* memiliki distribusi geografis terluas, termasuk wilayah beriklim dingin, subtropik hingga daerah. Demam terjadi setiap 48 jam atau setiap hari ketiga, pada waktu siang atau sore. Masa inkubasi *Plasmodium vivax* antara 12 sampai 17 hari dan salah satu gejala adalah pembekakan limpa atau splenomegali (Achmadi 2005).

Eritrosit yang di hinggapi *Plasmodium vivax* membesar dan menjadi pucat, karena kekurangan hemoglobin. *Plasmodium vivax* membesar dan afinitas yang besar terhadap retikulosit, sehingga pembesarannya pun tampak lebih nyata dari pada sebenarnya. Trofozoit muda tampak sebagai cincin dengan inti pada satu sisi, sehingga merupakan cincin stempel.

Trofozoit tumbuh maka bentuknya menjadi tidak teratur, berpigmen halus dan menunjukkan gerakan ameboid yang jelas. Setelah 36 jam mengisi lebih dari setengah sel darah merah yang membesar, intinya membelah dan menjadi skizon. Gerakannya menjadi kurang, mengisi hampir seluruh sel yang membengkak dan mengandung pigmen yang tertimbun di dalam sitoplasma. Setelah 48 jam skizon

mencapai ukuran maksimal 8-10 mikron dan mengalami segmentasi. Pigmen berkumpul dipinggir, inti yang membelah dengan bagian-bagian sitoplasma membentuk 16-18 sel berbentuk bulat atau lonjong, berdiameter 1,5-2 mikron yang disebut merozoit.

Gametosit berbentuk lonjong, hampir mengisi seluruh eritrosit. Mikro gametosit mempunyai inti besar yang berwarna merah muda pucat dan sitoplasma berwarna biru pucat. Makro gametosit mempunyai sitoplasma yang berwarna lebih biru dengan inti yang padat berwarna merah dan letaknya biasanya di bagian pinggir parasit. Dengan pewarnaan, butir-butir halus bulat, uniform, berwarna merah muda atau kemerah-merahan sering tampak di dalam sel darah merah yang diinfeksi oleh *Plasmodium vivax* (Arsin 2012).

1.2. *Plasmodium malariae*. *Plasmodium malariae* akan menyebabkan serangan demam setiap 4 hari sekali sehingga sering dikenal dengan istilah malaria kuartana. Jenis malaria ini dapat tumbuh subur di daerah tropik, baik di dataran tinggi maupun rendah. Masa inkubasi plasmodium ini antara 18-40 hari. Gejala serangan menyerupai *Plasmodium vivax*. Demam dirasakan pada sore hari dengan frekuensi yang teratur. *Plasmodium malariae* dapat menyebabkan gangguan pada ginjal yang bersifat menahun (Mursinto 2002). *Plasmodium malariae* mempunyai ukuran lebih kecil, kurang aktif, jumlahnya lebih kecil dan memerlukan lebih sedikit hemoglobin dibandingkan dengan *Plasmodium vivax* hanya sitoplasmanya lebih biru dan parasitnya lebih kecil, lebih teratur dan lebih padat.

Tropozoit yang sedang tumbuh mempunyai butir-butir pigmen yang kasar dan berwarna tengguli tua atau hitam. Parasit ini dapat berbentuk pita yang melintang pada sel darah merah, bentuk kromatin seperti benang dan kadang-kadang vakuol. Pigmen kasar berkumpul dipinggir parasit, dalam waktu 72 jam skizon menjadi matang dan bersegmentasi, hampir mengisi seluruh sel darah merah yang tidak membesar. Parasit menyerupai bunga seruni atau roset dengan pigmen tengguli yang padat, dikelilingi oleh 8-10 merozoit lonjong, masing-masing dengan kromatin berwarna merah dan sitoplasma biru. Dalam sel darah merah yang mengandung *Plasmodium malariae* butir-butir kecil merah muda kadang-kadang tampak (titik zeiman). Gemotosit mirip gametosit *Plasmodium vivax* tetapi lebih kecil dan pigmennya lebih sedikit (Arsin 2012).

1.3. *Plasmodium ovale*. *Plasmodium ovale* banyak dijumpai di Indonesia bagian timur, terutama di Papua. Gejala mirip dengan serangan *Plasmodium vivax*. Malaria yang disebabkan parasit jenis ini relatif jarang kambuh dan cepat sembuh sendiri tanpa pengobatan (Mursinto 2002).

Plasmodium ovale merupakan parasit manusia yang jarang terdapat dan dalam berbagai hal mirip dengan *Plasmodium vivax*. Sel darah merah yang dihingapi sedikit membesar, berbentuk lonjong, mempunyai titik-titik *Scuffner* kasar pada stadium dini. Sel darah merah dengan bentuk yang lonjong dan bergigi pada satu ujungnya, adalah khas untuk membuat diagnosis spesies *Plasmodium ovale*. Pigmen tersebar di seluruh parasit yang sedang tumbuh, sebagai butir-butir tengguli dan mempunyai corak jelas. Pada skizon matang yang hampir seluruh eritrosit, pigmen ini terletak di tengah-tengah *Plasmodium ovale* menyerupai

Plasmodium malariae pada bentuk skizon muda dan tropozoit yang sedang tumbuh, walaupun ini tidak membentuk pita. Skizon matang mempunyai pigmen padat dan biasanya mengandung 8 merozoit. Sediaan darah tebal sangat sukar untuk membedakan *Plasmodium ovale* dengan *Plasmodium malariae* kecuali bila titik *Scuffner* tampak sebagai zona merah (Arsin 2012).

1.4. *Plasmodium falcifarum*. Penyakit malaria yang disebabkan oleh *plasmodium falcifarum* banyak dijumpai diseluruh kepulauan Indonesia. Penyakit malaria jenis ini termasuk malaria ganas dengan masa inkubasi 9-14 hari. Serangan dari plasmodium jenis ini diawali dengan rasa nyeri kepala, pegal linu dan nyeri pinggang yang dilanjutkan dengan rasa mual serta muntah dan diare. Suhu badan tidak terlalu tinggi seperti serangan plasmodium yang lain sehingga penderita tidak merasa seperti sakit malaria, bila keadaan ini tidak segera diobati, intensitas serangan semakin berat, bahkan dapat menyerang limpa dan hati. Jika hati sudah terkena, akan timbul gejala tambahan yang menyerupai penyakit kuning. Penderita merasa gelisah dan kadang-kadang mengigau diikuti dengan keluarnya keringat dingin disertai dengan peningkatan frekuensi denyut nadi serta pernapasan (Mursinto 2002).

Penyakit ini dapat menyerang ginjal yang ditandai warna air kencing menjadi keruh dan menghitam. Gejala selanjutnya mata membengkak dan penderita tidak dapat mengeluarkan air kencing dengan baik. Akibat paling buruk akan terjadi bila plasmodium tersebut sudah menyerang otak sehingga menyebabkan proses kelumpuhan, menurunkan kesadaran dan akhirnya penderita yang paling berat sehingga proses pengobatan perlu dilakukan dengan takaran

yang tinggi. Perlu diberikan tambahan obat-obatan yang lain untuk mengurangi gejala yang ditimbulkan (Mursinto 2002).

2. Gejala malaria

Secara umum seseorang yang mengalami penyakit malaria akan merasakan gejala penyakit seperti demam, pening, lemas, pucat (karena kurang darah), nyeri otot, nyeri dada, menggigil, suhu bisa mencapai 40° C terutama pada infeksi *Plasmodium falcifarum*. Pada *P. falcifarum* bahkan seringkali mengalami koma, mual, muntah. Komplikasi yang sering timbul adalah pembesaran limpa, hypoglikemia, serta kegagalan ginjal (Achmadi 2005).

Tahap demam menggigil atau stadium dingin (*cold stage*). Penderita akan merasakan dingin menggigil yang amat sangat, nadi cepat dan lemah, bibir dan jari jemari kebiru-biruan pucat, kulit kuring, pucat, kadang mutah. Pada anak-anak demama bisa menyebabkan kejang.

Tahap demam *hot stage* yang berlangsung 2-6 jam, wajah memerah, kulit kering, nyeri kepala, denyut nadi keras, haus yang amat sangat terus-menerus, mual hingga muntah. Pada saat ini sebenarnya merupakan peristiwa pecahnya *schizon* matang menjadi merozoit-merozoit yang beramai-ramai memasuki aliran darah untuk menyerbu sel-sel darah merah.

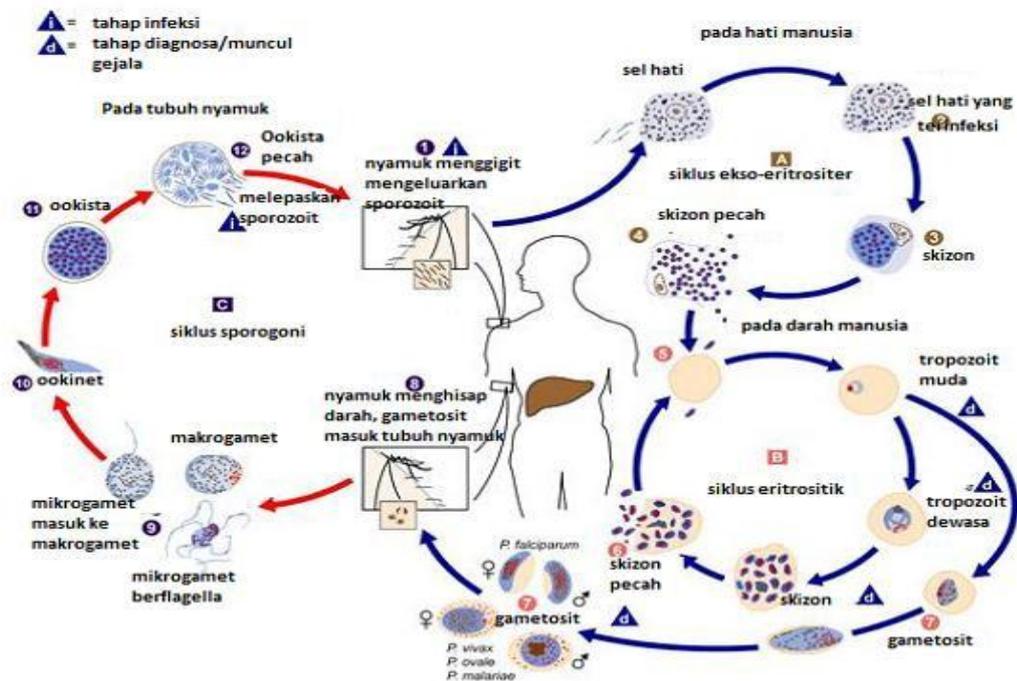
Stadium berkeringat, stadium ini menderita berkeringat banyak sekali. Hal ini berlangsung 2 sampai 4 jam.

3. Siklus parasit malaria

Tidak semua nyamuk dapat membawa parasit malaria. Hanya nyamuk anopheles betina dapat membawa dan menularkan penyakit malaria kepada

manusia. Bentuk nyamuk anopheles tidak jauh berbeda dengan nyamuk yang lain. Perbedaan terletak pada posisi tubuh yang lebih menungging sewaktu menggigit. Tempat kediamannya di daerah rawa, air kotor dan tidak mengalir, pantai, daerah hutan, dan perkebunan. Proses penularan penyakit malaria dimulai pada saat nyamuk membawa parasit malaria menggigit manusia sehat. Setelah itu, parasit mengalami perubahan bentuk dan masuk ke dalam saluran darah hingga masuk ke dalam jaringan hati. Parasit ini berkembang biak dengan cara melakukan pembelahan sel sehingga jumlah parasit dalam tubuh manusia akan berkembang dalam waktu yang cepat. Parasit selanjutnya akan tersebar dalam darah dan diluar darah (Mursinto 2002).

Pada tubuh manusia parasit mengalami berbagai perkembangan hingga menjadi bentuk siap kawin dan seterusnya berubah lagi mejadi bentuk yang siap diisap oleh nyamuk. Pada tubuh nyamuk, parasit mengalami perkembangan dan menghasilkan bentuk parasit yang siap ditularkan ke tubuh manusia. Nyamuk membawa parasit malaria tersebut tidak menggigit manusia sehat sepanjang hidupnya, penularan penyakit malaria tidak akan terjadi dan tingkat infeksi parasit tersebut akan menurun. Penyebaran penyakit malaria akan dilakukan dengan perantara nyamuk malaria selain dilakukan dengan perantara nyamuk malaria selain dilakukan dengan perantara nyamuk malaria dapat pula dilakukan melalui transfusi darah. Apabila darah yang didonorkan kepada seseorang telah tercemar oleh parasit malaria maka resipien darah tersebut telah tertular penyakit malaria. Siklus hidup parasit seperti gambar dibawah ini:



Gambar 2. Siklus hidup parasit malaria

Parasit malaria yang sudah siap ditularkan kepada manusia berkumpul dalam ludah nyamuk yang dikenal dengan sporozoit. Pada *P. vivax* dan *P. ovale*, sporozoit dapat dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu sporozoit yang segera berkembang menjadi skizon dan sporozoit yang tetap laten selama lebih kurang 8-9 bulan sebelum menjadi skizon yaitu skizon matang sehingga akan dihasilkan merozoit yang berada di luar butir darah merah berbentuk oval, tidak mengandung mitokondria, lebih banyak menyerang sel-sel hati.

Usia merozoit ini cukup singkat dan harus segera masuk ke dalam eritrosit. Sewaktu merozoit dilepaskan dari hati ke dalam darah dimulailah proses reproduksi aseksual stadium darah (skizogoni eritrositik). Dalam jaringan darah merozoit ini akan menyerang butir darah merah. Sirkulasi di dalam darah dimulai dengan proses pengeluaran merozoit dari skizon matang di hati ke dalam sirkulasi

darah. Setelah berada dalam eritrosit, bentuk merozoit membulat dan terus tumbuh membesar serta bergerak secara amoeboid. Di dalam waktu 12-24 jam gerakan tersebut semakin lambat dan tampak pigmen hematin yang merupakan sisa penguraian hemoglobin (Hb) dari eritrosit. Parasit berbentuk sebagai sel tunggal yang disebut tropozoid, dilanjutkan dengan pembelahan inti sel beberapa kali dan terus berlangsung sampai parasit menjadi dewasa.

Keseluruhan siklus aseksual eritrosit ini disebut periode skizogoni yang memerlukan waktu berbeda-beda pada setiap parasit, 48 jam untuk *P. vivax*, *P. ovale*, *P. falcifarum*, dan 72 jam untuk *P. malariae* perkembangan parasit di dalam eritrosit menyebabkan perubahan-perubahan pada eritrosit antara lain pembesaran sel serta perubahan warna darah menjadi lebih pucat. Keadaan ini dapat digunakan sebagai petunjuk bahwa seseorang sedang mengalami infeksi parasit malaria (Mursinto 2002).

4. Kekambuhan (Relaps dan Rekrudesensi)

Serangan malaria yang pertama terjadi sebagai akibat infeksi parasit malaria, disebut malaria primer (berkorelasi dengan siklus sizogoni dalam sel darah merah). Pada infeksi oleh *Plasmodium vivax*/*Plasmodium ovale*, sesudah serangan yang pertama berakhir atau disembuhkan, dengan adanya siklus eksoeritrositik (EE) sekunder atau hipnozoit dalam sel hati, suatu saat kemudian penderita bisa mendapat serangan malaria yang kedua (disebut: malaria sekunder). Berulangnya serangan malaria yang bersumber dari siklus EE sekunder pada malaria *vivax* atau *ovale* disebut relaps. Umumnya relaps terjadi beberapa bulan (biasanya >24 minggu) sesudah malaria primer, disebut *long-term relapse*.

Pada malaria karena *Plasmodium falcifarum* dan *Plasmodium malariae*, relaps dalam pengertian seperti diatas tidak terjadi, karena kedua spesies ini tidak memiliki siklus EE sekunder dalam hati. Kemungkinan berulangnya serangan malaria pada kedua jenis malaria ini disebabkan oleh kecenderungan parasit malaria bersisa dalam darah, yang kemudian membelah diri bertambah banyak sampai bisa menimbulkan gejala malaria sekunder.

Kekambuhan malaria seperti ini disebut rekrudesensi. Pada malaria karena *Plasmodium falcifarum* rekrudesensi terjadi dalam beberapa hari atau minggu (biasanya <8 minggu) sesudah serangan malaria primer, disebut *short term relapse*. Suatu mekanisme yang belum begitu jelas, kekambuhan terjadi dalam rentang waktu jauh lebih lama. Terjadi beberapa tahun sejak serangan pertama (Sutisna 2004)

5. Diagnosa malaria

Sebagaimana penyakit pada umumnya, diagnosis malaria didasarkan pada manifestasi klinis (termasuk anamnesis), uji imunoserologis dan ditemukan parasit (*Plasmodium*) di dalam darah penderita. Manifestasi klinis demam seringkali tidak khas dan menyerupai penyakit infeksi lain (demam dengue, demam tifoid) sehingga menyulitkan para klinisi untuk mendiagnosis malaria dengan mengandalkan pengamatan manifestasi klinis saja, untuk itu diperlukan pemeriksaan laboratorium sebagai penunjang diagnosis sedini mungkin.

Secara garis besar pemeriksaan laboratorium malaria digolongkan menjadi dua kelompok yaitu pemeriksaan mikroskopis dan uji imunoserologis untuk mendeteksi adanya antigen spesifik atau antibody spesifik terhadap *Plasmodium*.

Menjadikan standar emas (*gold standard*) pemeriksaan laboratorium malaria adalah metode mikroskopis untuk menemukan parasit Plasmodium di dalam darah tepi. Uji imunoserologis dianjurkan sebagai pelengkap pemeriksaan mikroskopis dalam menunjang diagnosis malaria atau ditujukan untuk survey epidemiologi dimana pemeriksaan mikroskopis tidak dapat dilakukan. Sebagai diagnosa banding penyakit malaria ini adalah demam tifoid, demam dengue, ISPA, demam tinggi, atau infeksi virus akut lainnya (Depkes RI 2003).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif di dalam sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelaut tertentu dalam mengekstraksinya (Harbone 1987).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

2. Pelarut ekstraksi

Umumnya pelarut ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah untuk senyawa polar (air, etanol, methanol dan sebagainya), untuk senyawa semi

polar (etil asetat, diklorometana dan sebagainya), dan untuk senyawa non polar (n-heksan, petroleum eter, klorofom dan sebagainya).

3. Metode ekstraksi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat bekhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar.

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace* berarti mengairi dan melunakan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh 1994).

Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

4. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut nonpolar (Harborne 1987). Sub fraksi adalah pemisahan sebagian dari segolongan senyawa atau awal pemisahan yang terdeteksi (Stahl 1985).

D. Metode pemisahan

1. Kromatografi lapis tipis (Thin Layer Chromatography)

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1938. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara

mekanik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*).

Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Demikian juga peralatan yang digunakan. Pada kromatografi lapis tipis, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan dapat dikatakan bahwa hampir semua laboratorium dapat melaksanakan setiap saat secara cepat.

Beberapa keuntungan lain kromatografi planar adalah:

- Kromatografi lapis tipis banyak digunakan untuk tujuan analisis
- Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet
- Dapat dilakukan elusi secara menaik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara elusi 2 dimensi
- Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak (Gandjar dan Rohman 2009).

E. Landasan teori

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan karena infeksi kuman malaria atau demam menular yang disebabkan oleh protozoa genus *Plasmodium*, yang merupakan parasit pada sel darah. Malaria ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* betina infektif dan gejala-gejala jika terserang atau terinfeksi virus malaria adalah adanya serangan menggigil yang sering datang berkala, demam,

dan berkeringat. Terjadi pada interval yang tergantung pada waktu yang diperlukan untuk berkembangnya generasi baru parasit di dalam tubuh (Santana 2007).

Tanaman bayam duri merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan untuk berbagai macam keperluan antara lain sebagai antipiretik, diuretik, antiinflamasi, antibakterial, dan antimalaria (Mishra 2012; Vardana 2012). Malaria disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium*, pada manusia terdapat 4 spesies yaitu *Plasmodium falcifarum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium falcifarum* menyebabkan infeksi paling berat dan angka kematian tertinggi. Pada bayam duri mengandung sejumlah konstituen aktif mencakup alkaloid, flavonoid, glikosida, asam fenolat, steroid, asam amino, terpenoid, lipid, saponin, B sitosterol, stigmamasterol, asam linoleat, amaranthosida, amarisin, tanin.

Penelitian Hilou (2006) tentang hasil lipilisasi bayam duri dan *Boerhaavia erecta* menunjukkan bahwa kombinasi kedua ekstrak herbal ini mempunyai aktivitas skizontisidal darah malaria. Purniawan (2012) membuktikan bahwa ekstrak etanol bayam duri memiliki aktivitas skizontisidal secara *in vitro*.

F. Hipotesis

Hipotesis yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah :

Pertama, fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium terhadap *Plasmodium falcifarum* secara *in vitro*.

Kedua, fraksi n-heksan dari ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) memiliki konsentrasi efektif sebagai antiplasmodium terhadap *Plasmodium falcifarum* secara *in vitro*.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) yang diperoleh dari daerah Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagian daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) yang diambil dari Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah diambil yang bersih, segar dan bebas penyakit. Diambil pada bulan Februari 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah fraksi n-heksan yang diperoleh dari ekstrak daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) yang dimaserasi dengan pelarut etanol 70%.

Variabel utama kedua adalah *Plasmodium falcifarum* yang dibiakan secara *in vitro* menggunakan eritrosit golongan O.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel menurut fungsi dalam penelitian dapat diklasifikasikan berdasar pola hubungan sebab akibat menjadi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

Variabel bebas yaitu faktor yang dianggap menentukan variabel lainnya. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi fraksi n-heksan dari ekstrak bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) dalam etanol.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antiplasmodium dari fraksi n-heksan bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) secara *in vitro*.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kultur *Plasmodium falciparum*, waktu panen, umur tanaman, waktu pengamatan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) adalah tanaman bayam duri yang diperoleh dari Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk bayam duri adalah bayam duri yang diambil dan kemudian dicuci dengan air mengalir, setelah itu dikeringkan dalam alat pengering (oven) pada suhu 50°C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan No. 40.

Ketiga, ekstrak etanol bayam duri adalah hasil ekstraksi serbuk bayam duri dari dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi.

Keempat, fraksi *n*-heksan bayam duri adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol dengan pelarut etil asetat.

Kelima, *Plasmodium falciparum* adalah plasmodium yang digunakan sebagai induksi malaria yang dibiakan secara *in vitro* menggunakan eritrosit golongan darah O.

Keenam, aktivitas antiplasmodium adalah perlindungan sistem imun terhadap penyakit malaria dari fraksi *n*-heksan bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) dengan parameter nilai konsentrasi penghambatan (IC_{50}) yang dilakukan *in vitro*.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bayam duri (*Amaranthus spinosus L.*) yang diambil dari Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah. Bahan yang digunakan adalah *n*-heksan, etil asetat, plat silika gel GF₂₅₄, silika gel 60. Bahan antigen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Plasmodium falciparum* strain FCR-3 yang diperoleh di laboratorium farmakologi dan terapi Universitas Gadjah Mada. Bahan uji antimalaria yang digunakan adalah eritrosit dan serum golongan darah O, aquabidest steril, metanol, pewarna Giemsa, sorbitol 5%, dimetilsulfoksida (DMSO), gentamisin, dan *imersion oil*. Media tumbuh RPMI 1640, NaHCO₃, dan HEPES.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mesin penggiling, blender, ayakan no. 60, botol maserasi, benjana, beaker glass, evaporator, batang pengaduk, oven. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antiplasmodium adalah *candle jar*, *tissue culture flask* (TCF), sentrifuga Sigma 3K12, inkubator CO₂,

laminar air flow (LAF), pipet mikro, lempeng sumur mikro 96 sumuran, *conical tubes*, sentrifus (eppendorf). Alat yang digunakan untuk melihat penurunan parasitemia digunakan obyek glass, mikroskop dengan pembesaran 100x.

D. Jalannya penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.), dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman bayam duri yang dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi.

2. Pengambilan sampel

Daun bayam duri diambil secara acak dari daerah Polokarto, Sukoharjo, Jawa Tengah. Daun bayam duri diambil dalam kondisi yang segar dan muda. Pengambilan daun bayam duri dilakukan saat tanaman telah cukup umur.

3. Pembuatan serbuk daun bayam duri

Bayam duri yang telah diambil kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan bantuan sinar matahari selama 7 hari. Setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan No. 40.

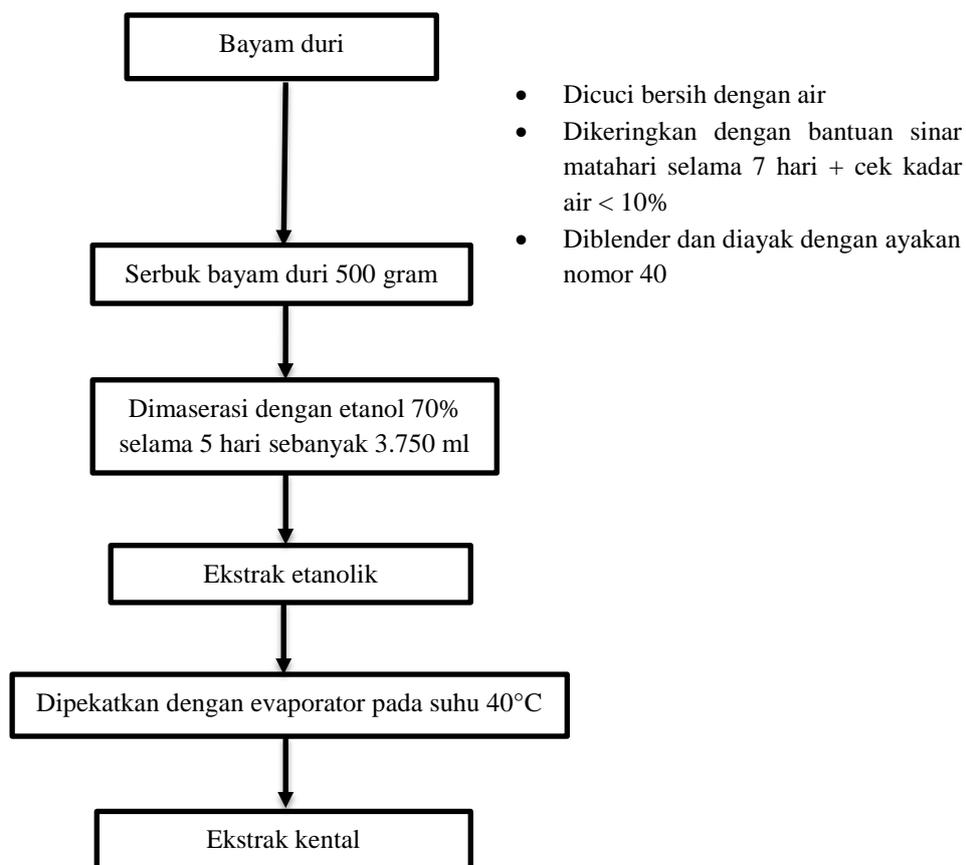
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam duri

Penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam duri dilakukan dengan cara menimbang serbuk bayam duri tersebut sebanyak 2 gram dan diukur susut

pengeringan serbuk tersebut dengan alat *moisture balance*. Kemudian serbuk dari hasil pengeringan tersebut ditimbang dan dihitung susut pengeringannya dengan persyaratan 5-10%.

5. Pembuatan ekstrak etanol 70 % daun bayam duri

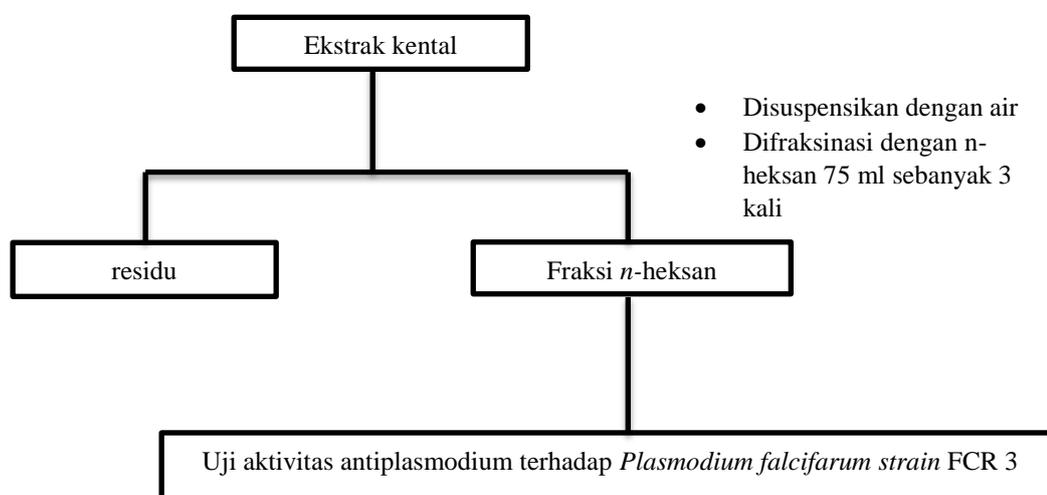
Serbuk bayam duri ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah atau benjana, kemudian ditambahkan ke dalamnya pelarut etanol 70% sebanyak 3.750 ml setelah itu dilakukan penggojokan selama 3 kali sehari, selanjutnya campuran tersebut didiamkan selama 5 hari sambil sesekali digojog. Setelah itu maserat yang didapatkan selama 5 hari disaring dan setelah itu dipekatkan dengan evaporator sampai didapat maserasi yang pekat.



Gambar 3. Skema pembuatan ekstrak etanol bayam duri

6. Fraksinasi ekstrak etanolik daun bayam duri

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi bayam duri selanjutnya difraksinasi dengan *n*-heksan 75 ml sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah sampai membentuk sari *n*-heksan dan sari *n*-heksan tersebut selanjutnya disebut fraksi *n*-heksan.



Gambar 4. Skema pembuatan fraksi *n*-heksan

7. Identifikasi kualitatif fraksi *n*-heksan daun bayam duri

7.1 Pemeriksaan organoleptik. Pemeriksaan meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

7.2 Pemeriksaan kualitatif fraksi *n*-heksan bayam duri. Pemeriksaan meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Pemeriksaan saponin dengan cara 0,5 g sampel ditambahkan air panas sebanyak 10 ml, didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuknya buih yang stabil tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin. Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara 0,5 g

sampel dididihkan dengan 20 ml air lalu disaring. Ditambahkan beberapa tetes feriklorida 1% dan terbentuknya warna coklat kehijauan menunjukkan adanya tanin. Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara 0,5 g sampel ditambah dengan sedikit larutan HCl 2N, panaskan kemudian ditambahkan larutan Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka kemungkinan terdapat alkaloid. Pemeriksaan flavonoid dengan cara 0,5 g sampel ditambahkan 0,1 g serbuk Mg lalu tambahkan 10 tetes larutan H₂SO₄. Jika terjadi warna merah jingga, sampai merah ungu, menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Depkes RI 1995).

Analisis kandungan senyawa dalam fraksi dilakukan dengan analisis KLT, dengan pendeteksi sinar UV 254 nm, 366 nm, dan beberapa penampak noda yang umum digunakan untuk analisis senyawa flavonoid dan tanin. Hasil fraksi yang sudah dipekatkan, ditotolkan pada plat KLT silika GF₂₅₄, dan dianalisis untuk dilakukan penggabungan pada fraksi yang memiliki profil kromatogram yang sama. Pemeriksaan KLT fraksi n-heksan bayam duri meliputi flavonoid dan tanin.

Identifikasi senyawa tanin digunakan fase diam silika GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform:etil asetat (6:4) ditandai pada UV 254 nm terbentuk bercak yang berwarna lembayung, UV 366 membentuk warna biru gelap, setelah diberikan pereaksi FeCl₃ akan membentuk warna biru-coklat gelap (Harborne 1987). Identifikasi senyawa flavonoid digunakan fase diam GF₂₅₄ dan menggunakan fase gerak heksana:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2). Pengamatan hasil pada sinar UV 254 nm terjadi peredaman berwarna gelap, sedangkan pada sinar UV 366 nm terdapat flouresensi dengan warna kuning. Digunakan pereaksi semprot sitroborat

fraksi etil asetat untuk menghasilkan bercak berwarna kuning. Menurut Harbone (1987) deteksi dengan sinar UV 254 nm terdapat peredaman berwarna gelap dan sinar UV 366 nm membentuk fluoresensi kuning, biru dan ungu gelap.

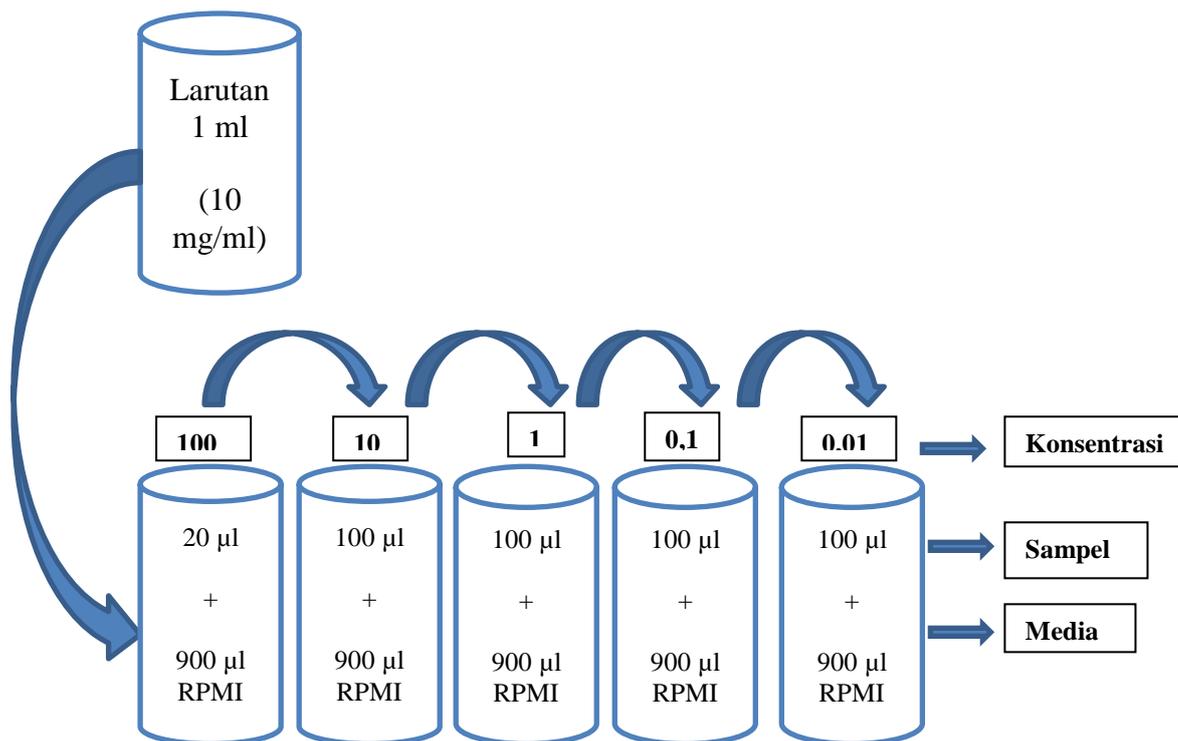
8. Uji aktivitas antiplasmodium

8.1 Persiapan *Plasmodium falcifarum*. *Plasmodium falcifarum* strain FCR-3 dibiakkan dengan cara plasmodium yang diambil dari tabung N₂ segera dihangatkan pada waterbath pada suhu 37°C. Plasmodium dipindahkan ke tabung konikal kemudian ditambahkan NaCl 3,5 % dengan perbandingan 1 : 1 diteteskan pelan – pelan melalui dinding sambil digoyang – goyang. Media RPMI ditambahkan sampai volume 10 ml kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan sebesar 7000 rotasi per menit (rpm). Supernatan dibuang dengan pipet Pasteur diambil endapannya, endapan dipindahkan ke dalam flask kultur. Sebanyak 8 ml RPMI, 2 ml serum, 2 ml RBC ditambahkan kedalam flask kultur. Kultur tersebut dilaksanakan di dalam LAF pada kondisi yang steril, kemudian diinkubasi di dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C selama 48 jam. Media diganti dengan yang baru setiap 24 jam masa inkubasi.

8.2 Sinkronisasi. Parasit yang digunakan pada pengujian aktivitas antiplasmodium adalah stadium cincin. Stadium cincin diperoleh dengan cara sinkronisasi dengan larutan sorbitol 5%. Parasit disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 7000 rpm. Supernatan dibuang dengan pipet pasteur, kemudian endapan parasit ditambahkan larutan sorbitol 5% steril sebanyak 3 kali volume parasit, dan didiamkan pada temperatur kamar selama 10 menit. Parasit kemudian dihomogenkan dengan cara sentrifugasi setelah ditambahkan media komplet

sebanyak 5 kali volume. Sinkronisasi dilakukan lagi tiap 48 jam sehingga didapatkan parasit dalam stadium cincin yang lebih homogen.

8.3 Pembuatan larutan stok. Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 10 mg/ml dengan cara melarutkan sebanyak 10 mg fraksi n-heksan bayam duri ditambahkan DMSO sebanyak 100 μ l. Larutan stok kemudian diencerkan dengan media RPMI (Roswell Park Memorial Institute) sebanyak 900 μ l. Uji aktivitas dilakukan dengan cara melarutkan bahan uji dalam DMSO kemudian dibuat serial pengenceran dalam media RPMI sampai diperoleh konsentrasi akhir sebesar 0,01 μ g/ml; 0,1 μ g/ml; 1 μ g/ml; 10 μ g/ml; 100 μ g/ml.



Gambar 5. Tahapan larutan stok dan pengenceran pengujian aktivitas antiplasmodium terhadap *Plasmodium falcifarum* strain FCR 3.

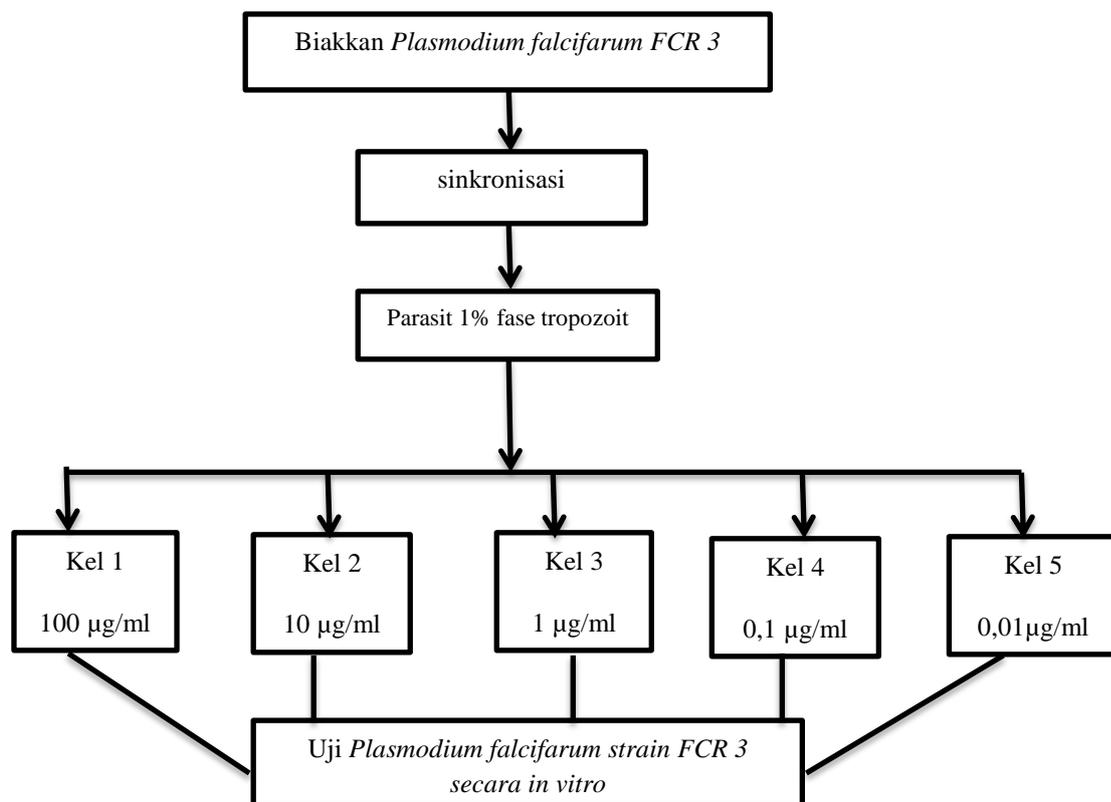
8.4 Perhitungan konsentrasi. Konsentrasi fraksi n-heksan bayam duri yaitu 0,01 μ g/ml, 0,1 μ g/ml 1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml. Larutan stock dibuat

dalam konsentrasi 10 mg/ml sebanyak 1 ml dengan cara melarutkan sebanyak 10 mg fraksi n-heksan daun bayam duri ditambahkan DMSO sebanyak 100 μ l. Larutan stok dari campuran 10 mg fraksi n-heksan daun bayam duri dan 100 μ l DMSO ditambahkan media RPMI (Roswell Park Memorial Institute) sebanyak 900 μ l. Penambahan DMSO pada pengujian *in vitro* untuk melarutkan fraksi n-heksan daun bayam duri sebagai bahan uji, sedangkan RPMI pada pengujian digunakan sebagai media dalam pembuatan larutan stok.

Tabel 1. Hasil perhitungan konsentrasi fraksi n-heksan bayam duri

No	Konsentrasi (μ g/ml)	Larutan stok (μ g/ml)	Volume media (μ g/ml)
1	100	20	980
2	10	100	900
3	1	100	900
4	0,1	100	900
5	0,01	100	900

8.5 Uji aktivitas secara *in vitro*. Uji aktivitas antiplasmodium fraksi n-heksan dilakukan dalam lempeng sumur mikro steril 96 sumuran. Tambahkan suspensi parasit sebanyak 100 μ l dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 0-48 jam untuk melihat jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit digunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Data hasil pembacaan slide di bawah mikroskop adalah berupa perbandingan jumlah eritrosit yang terinfeksi parasit (*Plasmodium*) dengan jumlah total eritrosit yang dihitung. Hasil perhitungan ini dinyatakan sebagai persen parasitemia, yang diolah menjadi persen penghambatan.



Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antiplasmodium terhadap *Plasmodium falcifarum* strain FCR 3

9. Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk mengetahui perbedaan pada semua kelompok perlakuan. Data efektivitas daya penghambatan dari fraksi n-heksan bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) terhadap *Plasmodium falcifarum*. Data persen penghambatan kemudian diolah menggunakan microsoft excel untuk menentukan aktivitas penghambatan terhadap *Plasmodium falcifarum*. Data yang diperoleh dianalisis untuk menentukan persentase penghambatan dan menggunakan analisis persamaan regresi linier.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Tanaman Bayam Duri

1. Determinasi tanaman bayam duri

Tanaman sebelum dikumpulkan untuk dijadikan sebagai sampel terlebih dahulu dilakukan determinasi. Determinasi pada penelitian dilakukan di Laboratorium Sistem Perkembangan Tumbuhan Universitas Setia Budi. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain.

Hasil determinasi tanaman bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) menurut Steenis C.G.G.J., (1978) sebagai berikut:

1b_2b_3b_4b_6b_7b_9b_10b_11b_12b_13b_15a.golongan8.109b_119b_120b_128b_129b_135b_136b_139b_140b_142b_143b_146a_147a_148b_149a. familia 41. Amaranthaceae. 1b_5a. Amaranthus. *Amaranthus spinosus* L.

Hasil determinasi tanaman bayam duri yang dijadikan sampel sudah sesuai dengan pustaka FLORA untuk sekolah di Indonesia maka dapat disimpulkan, bahwa tanaman tersebut adalah tanaman bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil deskripsi tanaman bayam duri

Hasil deskripsi tanaman dalam penelitian menunjukkan tanaman bayam duri sebagai berikut : habitus herba berumur 1 tahun. Batang percabangan monopodial, bulat lunak dan berair, tinggi 0,4 - 1 m, bercabang banyak dan berduri, hijau. Daun tunggal, bulat telur memanjang, pangkal runcing, ujung tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, herbaceus, panjang 1,8 – 5,5 cm, lebar 1-2,3 cm, hijau. Pada ketiak daun terdapat sepasang duri keras. Bunga majemuk, dalam tukul yang rapat, yang bawah duduk diketiak, bentuk bulir atau bercabang pada pangkalnya. Bulir ujung sebgaiian besar jantan, tidak berduri, tidak berduri tempel, mula-mula naik lalu menggantung. Tukul betina dengan 2 duri lurus yang lancip, dan menjahui batang. Daun pelindung dan anak daun pelindung runcing, sepanjang-panjangnya sama dengan tenda bunga. Daun tenda bunga 5, panjang 2 – 3 mm, gundul, hijau atau ungu dengan tepi transparan. Benangsari 5, lepas, tanpa taju yang disisipkan diantaranya kepala putik duduk, bentuk benang. Buah bulat memanjang, dengan tutup yang rontok, berbiji 1. Biji hitam, mengkilat, panjang 0,8 – 1 mm dan memiliki akar tunggang.

3. Hasil pengeringan daun bayam duri

Hasil pengeringan daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) diperoleh sebesar 5000 gram berat basah, 925 g berat kering dan rata-rata rendemen berat kering terhadap berat basah sebesar 18,5%. Hasil pengeringan bayam duri dan perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 2.

4. Identifikasi serbuk daun bayam duri

Hasil pemeriksaan organoleptik terhadap serbuk daun bayam duri diperoleh bentuk serbuk dengan warna hijau kekuningan, bau khas dan rasa yang pahit. Hasil identifikasi serbuk daun bayam duri dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik serbuk daun bayam duri

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Serbuk
Warna	Hijau kekuningan
Bau	Khas
Rasa	Pahit

5. Hasil penetapan susut pengeringan pada serbuk bayam duri

Metode penetapan susut pengeringan serbuk bayam duri dengan cara menggunakan alat *Moisture Balance* dengan suhu 105°C selama 6 menit hasil persentase rata-rata susut pengeringan sebesar 4,6%. Syarat hasil penetapan susut pengeringan adalah kurang dari 10%. Kadar susut pengeringan serbuk daun bayam duri memenuhi syarat karena hasil yang diperoleh kurang dari 10%. Hasil penetapan susut pengeringan berkaitan dengan mutu dan kandungan senyawa dalam daun bayam duri yang tetap terjaga. Dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah merusak sehingga komposisi kandungan kimia tidak mengalami perubahan. Kadar air yang tinggi lebih dari 10% dapat memicu pertumbuhan mikroba dalam simplisia yang mengakibatkan berubah atau rusaknya kandungan kimia pada simplisia sehingga mengurangi atau menurunkan kualitas simplisia tersebut. Hasil penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam duri

No.	Berat serbuk (g)	Susut pengeringan (%)
1.	2	4,8
2.	2	4,7
3.	2	4,5
Persentase rata-rata susut pengeringan		4,6 ± 0,32

6. Hasil pembuatan fraksi n-heksan daun bayam duri

Proses ekstraksi serbuk daun bayam duri dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, selama proses maserasi rendaman serbuk daun bayam duri digojog selam 1 jam selanjutnya campuran didiamkan selama 5 hari sambil digojog sesekali. Maserat yang didapatkan selama didiamkan 5 hari disaring dengan menggunakan kain flanel untuk memisahkan ampas dan maserat kemudian dipekatkan dengan evaporator sampai diperoleh maserasi yang pekat setelah itu difraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan untuk memperoleh fraksi n-heksan daun bayam duri. Berdasarkan hasil pembuatannya diperoleh 9,22 gram fraksi n-heksan daun bayam duri dari 20 gram ekstrak yang digunakan untuk fraksinasi, dengan nilai rendemen 46,1 %. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik fraksi n-heksan daun bayam duri

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Semi padat
Warna	Coklat kehitaman
Bau	Khas
Rasa	Pahit

Hasil pemeriksaan organoleptik fraksi n-heksan daun bayam duri diperoleh bentuk semi padat dengan warna coklat kehitaman dan bau khas serta memiliki rasa yang pahit.

7. Hasil pemeriksaan kualitatif fraksi n-heksan daun bayam duri

Pemeriksaan kualitatif pada fraksi n-heksan daun bayam duri bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam bayam duri. Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan senyawa dari fraksi bayam duri terhadap flavonoid dan tanin terdapat kesesuaian hasil pengamatan dengan

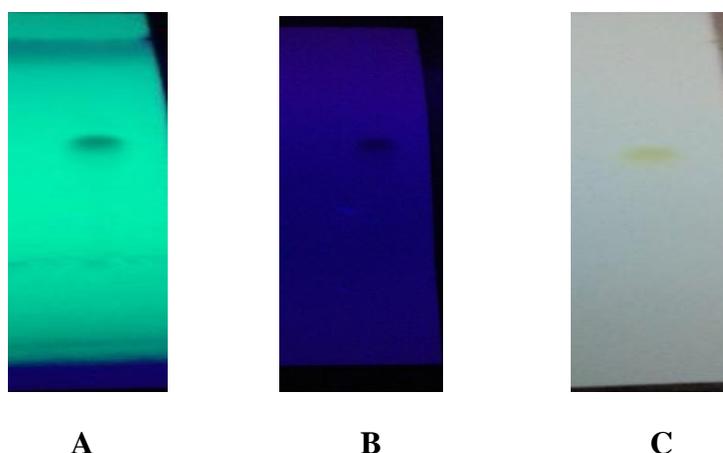
pustaka karena hasilnya positif. Hasil alkaloid dan saponin tidak terdapat kesesuaian hasil pengamatan dengan pustaka karena hasilnya negatif. Dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksan bayam duri diduga mengandung senyawa flavonoid dan tanin. Hasil pemeriksaan kualitatif dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa fraksi n-heksan daun bayam duri

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Pustaka
Flavonoid	0,5 g sampel + 0,1 g serbuk Mg + 10 tetes H ₂ SO ₄	+	Terbentuknya warna merah jingga Warna merah jingga (Depkes RI 1995)
Saponin	0,5 g sampel + 10 ml air panas didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik	-	Tidak terdapat buih pada larutan uji Terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm dan buih tidak hilang setelah penampakan 1 tetes HCl 2 N (Depkes RI 1995)
Tanin	0,5 g sampel + 20 ml air dididihkan lalu saring + 3 tetes FeCl 1%	+	Terbentuknya warna coklat kehijauan Warna coklat kehijauan (Edeoga <i>et al</i> 2005)
Alkaloid	0,5 g sampel + 3 tetes larutan HCl2N dipanaskan + larutan Dragendrof	-	Tidak terdapat endapan coklat pada larutan uji Endapan coklat sampai hitam (Depkes RI 1995)

8. Identifikasi kualitatif fraksi n-heksan daun bayam duri dengan KLT

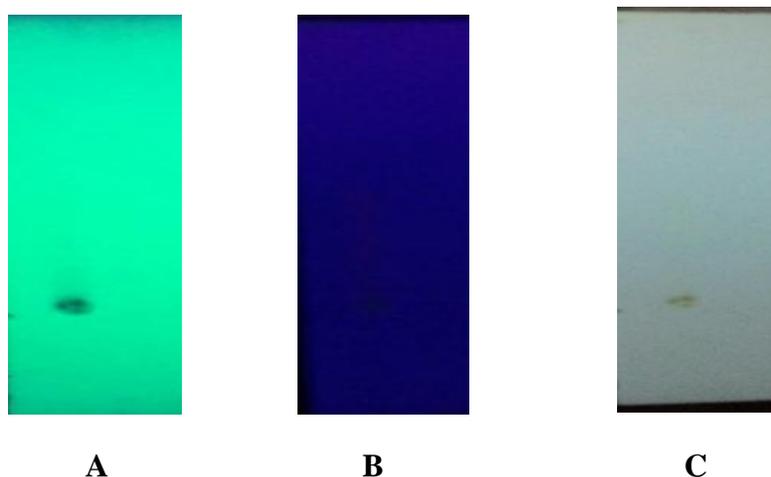
Pemeriksaan kualitatif fraksi daun bayam duri menggunakan KLT dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung dalam fraksi n-heksan daun bayam duri.



Gambar 7. Hasil identifikasi golongan flavonoid : a. UV 254 nm, b. UV 366 nm, c. Setelah penyemprotan.

Pengujian kandungan kimia golongan flavonoid fraksi n-heksan daun bayam duri dengan kromatografi lapis tipis pada gambar 8 menggunakan fase gerak heksan : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2) dan fase diam silica gel GF-254. Pengamatan hasil pada sinar UV 254 nm terjadi peredaman, sedangkan pada sinar UV 366 nm terdapat flouresensi dengan warna kuning. Digunakan pereaksi semprot sitroborat, fraksi n-heksan untuk menghasilkan satu bercak kuning dengan nilai Rf 0,54.

Menurut Harbone (1987) deteksi dengan sinar UV 254 nm terdapat peredaman berwarna gelap dan sinar UV 366 nm membentuk flouresensi kuning, biru dan ungu gelap. Pada pengamatan bercak yang dihasilkan terdapat peredaman dan flouresensi berwarna kuning. Hal ini dapat disimpulkan fraksi n-heksan bayam duri diduga mengandung flavonoid.



Gambar 8. Hasil identifikasi golongan tanin : a. UV 254 nm, b. UV 366 nm, c. setelah penyemprotan

Pengujian kandungan kimia golongan tanin fraksi n-heksan daun bayam duri dengan kromatografi lapis tipis pada gambar 9 menggunakan fase gerak

heksan : asam formiat : toluene : air (6:1,5:3:0,5) dan fase diam silica gel 60 GF₂₅₄. Pengamatan hasil pada sinar UV 254 terjadi peredaman, sedangkan pada sinar UV 366 nm terdapat fluoresensi dengan warna biru gelap. Digunakan pereaksi semprot FeCl₃, fraksi n-heksan untuk menghasilkan satu bercak berwarna coklat dengan nilai Rf 0,15.

Menurut Harbone (1987) deteksi dengan sinar UV 254 nm berwarna lembayung dan UV 366 berwarna biru gelap. Pada pengamatan bercak yang dihasilkan terdapat peredaman dan fluoresensi berwarna biru gelap. Digunakan pereaksi semprot FeCl₃, pada fraksi n-heksan untuk menghasilkan satu bercak berwarna coklat. Hal ini dapat disimpulkan fraksi n-heksan daun bayam duri diduga mengandung tanin.

B. Uji aktivitas antiplasmodium Secara *in vitro*

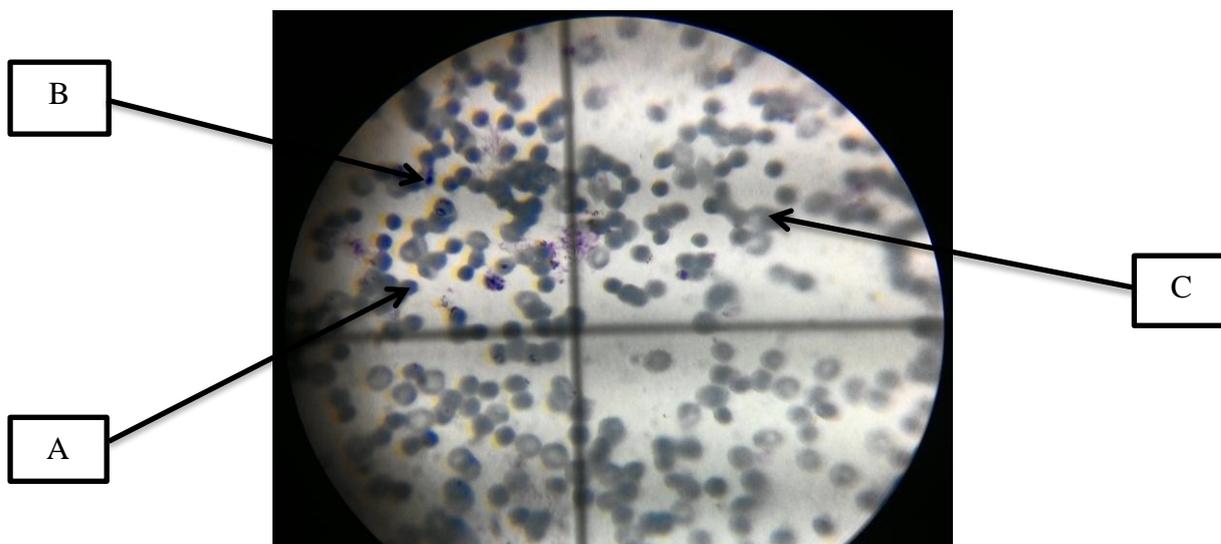
1. Hasil uji aktivitas antiplasmodium

Pengujian aktivitas antiplasmodium secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui fraksi n-heksan bayam duri yang aktif memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium secara *in vitro* serta untuk mengetahui nilai konsentrasi penghambatannya 50 (IC₅₀). *Plasmodium* dibiakkan harus pada tempat yang steril untuk mencegah kontaminasi karena *Plasmodium* rentan terhadap jamur dan bakteri. *Plasmodium falcifarum* strain FCR-3 yang digunakan berasal dari Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran UGM.

Uji aktivitas *Plasmodium falcifarum* FCR-3 dilakukan sesuai prosedur penelitian menggunakan metode yang dikembangkan oleh Pieters. Pembiakan

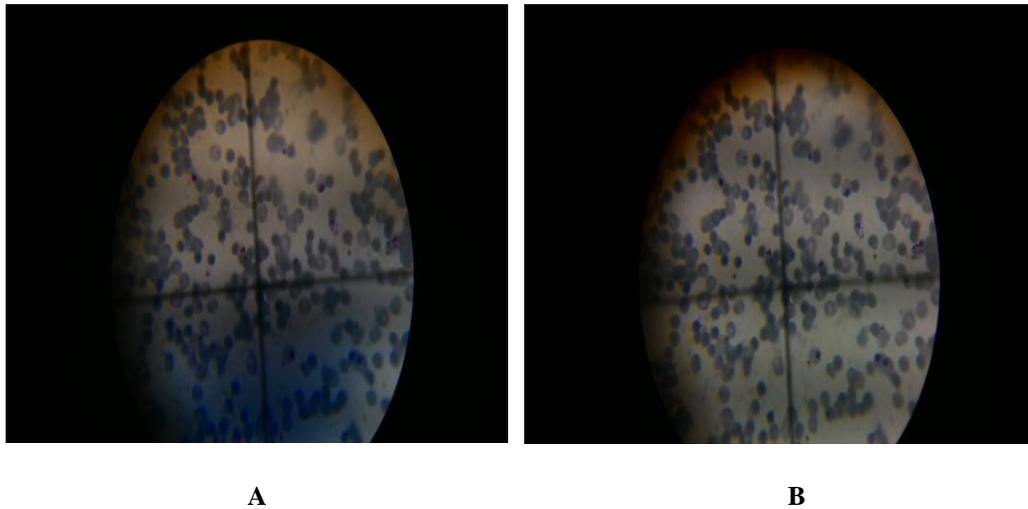
Plasmodium falcifarum FCR-3 dilakukan secara steril di Laboratorium Kultur Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Pemiakan dilakukan dengan cara *Plasmodium falcifarum* dimasukkan ke dalam flask kultur secara steril kemudian ditambahkan RPMI, serum dan eritrosit manusia golongan darah O. Flask kultur yang sudah siap dimasukkan ke dalam candle jar yang di dalamnya diletakkan lilin yang menyala kemudian dimasukkan ke dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37°C selama 72 jam. Setiap 24 jam diganti media dan dibuat apusan untuk melihat perkembangan kultur *Plasmodium*. Pergantian media setiap 24 jam adalah untuk mempertahankan *Plasmodium* agar tidak mengalami kematian dan gagal untuk dikembangkan.

Pembuatan apusan dilakukan setiap hari dari hasil kultur untuk mengamati perkembangan *Plasmodium* setiap harinya. Pengamatan dilakukan pada objek glass yang sudah dibuat apusan tipis. Untuk mempermudah pengamatan dibawah mikroskop diberi warna dengan cat giemsa 10% dan didiamkan selama 5 menit. Ketika parasitemia berkembang mencapai 3-8% dan mengalami stadium trophozoit maka dilakukan sinkronisasi dengan penambahan sorbitol 5%. Bentuk sel darah merah yang terinfeksi *Plasmodium falcifarum* dapat dilihat pada apusan darah tipis. Pengamatan apusan tipis dengan pewarnaan giemsa bertujuan untuk memperjelas dan menunjukkan terbentuknya stadium trophozoit dan skizon pada sel darah manusia.



Gambar 9. Apusan tipis dari sel darah merah pada proses pembiakan *Plasmodium falcifarum* FCR-3 : A. trophozoit, B. skizon, C. sel darah merah (eritrosit).

Berdasarkan gambar atas diatas dapat dilihat bentuk dari stadium trophozoit dan skizon yang menginfeksi sel darah merah pada proses pembiakan *Plasmodium falcifarum*. Eritrosit normal mempunyai ciri dinding sel tampak utuh tidak lisis, sedangkan eritrosit yang terinfeksi terlihat adanya bentuk cincin atau trophozoit dan bentuk skizon. Stadium trophozoit adalah gambaran cincin yang menebal dan terlihat butiran-butiran pigmen dalam sitoplasma, sedangkan pada stadium skizon akan terlihat merozoit-merozoit (Sholikhah 2010). Skizon merupakan tahapan yang lebih lanjut setelah trophozoit. Dalam darah manusia yang sudah terinfeksi parasit *Plasmodium falcifarum* akan ditandai dengan adanya trophozoit dan skizon di dalam sel darah merah (eritrosit).



Gambar 10. Apusan tipis dari sel darah merah (eritrosit) : A. kontrol negatif, B. konsentrasi 100 µg/ml fraksi n-heksan bayam duri.

Berdasarkan gambar diatas pada kelompok negatif terlihat bahwa sel darah merah yang terinfeksi *Plasmodium falcifarum* tampak jelas. Kelompok kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah RPMI dengan tujuan untuk mengetahui tingkat pertumbuhan dari parasit. Pada gambar apusan diatas dapat dilihat bahwa kelompok uji tidak mempunyai aktivitas dalam menghambat parasetimia dengan ditemukannya trophozoit dan skizon didalam sel darah merah (eritrosit) dalam jumlah yang cukup banyak.

Perhitungan persen parasetimia dapat dihitung dengan cara jumlah *Plasmodium falcifarum* baik dalam bentuk skizon maupun bentuk trophozoit yang menginfeksi eritrosit normal dibagi dengan jumlah seluruh eritrosit yang jumlahnya ± 1000 eritrosit. Perhitungan persen penghambatan parasetimia dapat dilakukan dengan cara pembacaan. Perhitungan persen penghambatan dilakukan dengan menghitung rata-rata kotrol negatif dikurangi rata-rata parasetimia dibagi

rata-rata kontrol negatif dikali 100%. Hasil penghambatan parasitemia dengan bayam duri dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata parasitemia dan penghambatan pertumbuhan *P. falcifarum* strain FCR-3 pada pemberian fraksi n-heksan bayam duri (*Amaranthus spinosus*. L)

Sampel	Ulangan			Rata-rata parasitemia	SD	Rata-rata kontrol negatif	Persentase penghambatan
	1	2	3				
I	9,88	8,43	9,72	9,34	0,649121201	7,54	0,238
II	7,81	8,66	9,24	8,57	0,587253	7,54	0,136
III	9,83	8,11	7,95	8,63	0,851038581	7,54	0,144
IV	9,38	8,11	8,08	8,52	0,605881	7,54	0,129
V	9,46	6,84	7,13	7,81	1,172717641	7,54	0,035

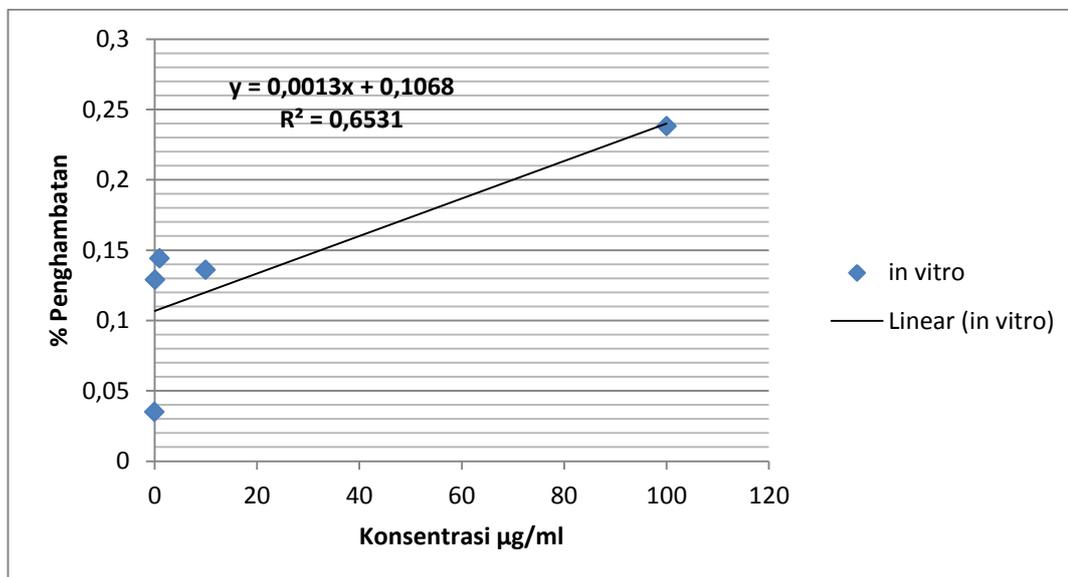
Keterangan :

- I. Konsentrasi 100 µg/ml
- II. Konsentrasi 10 µg/ml
- III. Konsentrasi 1 µg/ml
- IV. Konsentrasi 0,1 µg/ml
- V. Konsentrasi 0,01 µg/ml

Hasil tabel 6 menunjukkan persentase rata-rata parasitemia tertinggi diperoleh dari konsentrasi 100 µg/ml, sedangkan persentase rata-rata parasitemia yang terendah diperoleh dari konsentrasi 0,01 µg/ml. Persen parasitemia setelah diketahui dapat dihitung persen penghambatan terhadap *Plasmodium falcifarum* strain FCR-3. Persentase penghambatan dihitung dengan membandingkan parasitemia senyawa uji dengan kontrol negatif. Persentase penghambatan parasitemia tertinggi fraksi n-heksan bayam duri diperoleh dari konsentrasi 100 µg/ml, sedangkan persentase penghambatan parasitemia terendah diperoleh dari konsentrasi 0,01 µg/ml.

Tingkat rata-rata persentase hambatan kurang dari 50% pada fraksi n-heksan pada konsentrasi 0,01 µg/ml sampai konsentrasi 100 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut fraksi n-heksan tidak memberikan aktivitas sebagai antiplasmodium disebabkan oleh eritrosit yang terinfeksi banyak terlihat dalam bentuk trophozoit maupun skizon. Data dari persentase rata-rata

penghambatan dan konsentrasi uji yang digunakan, dilakukan analisis persamaan regresi linier untuk menentukan nilai IC_{50} .



Gambar 11. Grafik hubungan konsentrasi dengan % penghambatan pada fraksi n-heksan daun bayam duri

Suatu bahan obat yang berasal dari alam dikatakan berpotensi sebagai antimalaria jika nilai IC_{50} lebih dari 110 µg/ml termasuk inaktif, jika IC_{50} 5-100 µg/ml termasuk baik atau aktif dan jika nilai IC_{50} kurang dari 5 termasuk sangat baik atau sangat aktif sekali (Gessler *et al.* 1994). Hasil uji aktivitas antiplasmodium fraksi n-heksan daun bayam duri diperoleh nilai IC_{50} sebesar 383,8 µg/ml tidak menghambat pertumbuhan parasit *Plasmodium falcifarum* pada sel eritrosit. Fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri tersebut masuk dalam kategori inaktif. *Plasmodium falcifarum* yang digunakan belum optimal karena penyimpanan *Plasmodium falcifarum* pada waktu 12/05/2015 sehingga nilai IC_{50} sulit ditemukan dan penghambatan pertumbuhan *Plasmodium falcifarum* tidak aktif.

Senyawa flavonoid pada beberapa penelitian dapat dikaitkan dengan aktivitas antiplasmodium. Beberapa pustaka menyebutkan bahwa senyawa bioflavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan parasit memiliki mekanisme aksi dengan dua target utama yaitu: 1) membran yang dibentuk parasit malaria stadium intraeritrositik yaitu Jalur Permeasi Baru (NPP=New Permeation Pathway) dengan cara menghambat transport nutrisi yang dibutuhkan parasit dan 2) vakuola makanan parasit malaria yaitu dengan menghambat proses degradasi hemoglobin (Biagini *et al* 2003).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri (*Amaranthus spinosus*. L) tidak memiliki aktivitas sebagai antiplasmodium.
2. Fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri memiliki nilai IC₅₀ sebesar 383,8 µg/ml hal ini menunjukkan fraksi n-heksan bayam duri tidak efektif menghambat aktivitas pertumbuhan terhadap *Plasmodium falcifarum*.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan *Plasmodium* jenis yang lain untuk mengetahui mekanisme kerja antiplasmodium.

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas terhadap fraksi-fraksi yang lain selain fraksi n-heksan untuk penelitian antiplasmodium.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi UF. 2005. *Manajemen Penyakit Berbasis Wilayah*. Jakarta: Kompas. Hal 1-25.
- Arsin AA. 2012. *Malaria di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi*. Makassar: Masagena Press. Hal 37-41, 49-51.
- Astuti, UP *et al.* 2013. *Pembuatan Pestisida Nabati*. Bengkulu: Balai Pegkajian TeknologiI Pertanian (BPTP). Hal 10.
- Azeredo HMC. 2009. Betalains; properties, sources, applications, and stability: a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 44: 2365-76.
- Biagini GA, O'Neill, Nzila PM, Ward SA, 2003. Antimalarial Chemotherapy: young guns or back to the future, *Trends in Parasitology*. 19(11): 479-487.
- Boonlaksiri C, Oonanant W, Kongsaree P, Kittakoo P, Tanticharoen M, Thebtaranonth Y, 2000. An antimalarial stilbene from *Artocarpus integer*. *J Phytochem*. 54: 415-417.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 7.
- Depkes RI. 2003. *Epidemiologi Malaria*. Jakarta: Direktorat Jendral PPM-PL Departemen Kesehatan RI.
- Edeoga, H.O., D.E. Okwu & B.O. Mbaebie. 2005. Phytochemical Constituents of Some Nigerian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*. 4 (7). pp 685-688. <http://www.academicjournals.org> AJB. [14 Desember 2012].
- Fitrianingsih SP, Supriyatna, Diantini A, Muis A. 2010. Aktivitas Antiplasmodium Ekstrak Etanol Beberapa Tanaman Obat Terhadap Mencit Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Prosiding SNaPP2010 Edisi Eksakta* ISSN: 2089-3582.
- Gandjar IG, Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal 353-354.
- Gessler MC, Nkunya MHN, Mwasumbi LB, Heinrich M, Toner M. 1994. *Screening Tanzanian medical plants for antimalarial activity*. *Acta. Trop*. 55:65-7.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia*, terbitan kedua. Bandung: Penerbit ITB. Hal 25-27.

- Hayati EK, Jannah A, Ningsih R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *in vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Molekul*, Vol 7: 20-32.
- Hilou A, Nacoulma OG, Guiguemde TR. 2006. In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. And *Boerhavia erecta* L. In mice. *Journal of ethnopharmacology*. 103:236-40.
- Mishra SB, Venna A, Mukerjee A, Vijayakumar M. 2012. *Amaranthus spinosus* L leaf extract attenuates streptozotocin-nicotinamide induces diabetes and oxidative stress in albino rats: A histopathological analysis. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 12;1647-52.
- Mursinto, B. 2002. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Malaria*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 1-25.
- Peters W, Robinson BL. 1992. The chemotherapy of rodent malaria. XLVII. Studies on pyronaridine and other Mannich base antimalarials. *Ann Trop Med Parasitol*. 86:455-465.
- Pribadi, W. 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal 125-152.
- Purniawan AR. 2012. Efektivitas Antimalaria Ekstrak Etanol dan Air Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.) pada Kultur *Plasmodium falciparum* *In Vitro* [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Redha A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian Vol. 9 No. 2*: 196-202.
- Santana, D. 2007. *Kamus Lengkap Kedokteran*. Jakarta: Mega Aksara. Hal 204, 373-374.
- Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS. 2003. Antimalarial agents from plant sources. *Curr Sci* 84 (9): 1314-1329.
- Setiawati W. *et al.* 2008. *Tumbuhan Bahan Pestisida Nabati dan Cara Pembuatannya Untuk Pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT)*. Bandung. Hal 39-40.
- Simanjuntak P. 1995. Tumbuhan sebagai Sumber Zat Aktif Antimalaria. Puslitbang Bioteknologi-LIPI. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 23 (2)
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: Penerbit ITB. Hal 45-47.
- Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. 1978. *Flora*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.

- Susantiningih T. 2011. Aktivitas antimalaria kombinasi ekstrak bayam duri (*Amaranthus spinosus L*) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm F) terhadap MDA dan GSH pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Sutisna, P. 2004. *Malaria Secara Ringkas dari Pengetahuan Dasar Sampai Terapan*. Jakarta: EKG. Hal 50.
- Tjitra. E. 2000. *Obat Antimalaria*, diambil dari buku malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penangan, 194, Harijanto (Ed) Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta. Hal 1-17.
- Vardana H. 2012. *In vitro* antibacterial activity of *amaranthus spinosus L* root extract. *Pharmacophor*. 2: 266-70.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Terjemahan oleh Soedani Noerono. Edisi IV. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Hal 566-567, 570-575.

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi bayam duri



No : 028/DET/UPT-LAB/23/1/2016
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Nabella Anggra Yogita
NIM : 18123544 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.)**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : Flora.

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146a – 147a – 148b – 149a. familia 41. Amaranthaceae. 1b – 5a. Amaranthus. *Amaranthus spinosus* L.

Deskripsi :

- Habitus : Herba berumur 1 tahun.
Batang : Percabangan monopodial, bulat, lunak dan berair, tinggi 0,4-1 m, bercabang banyak dan berduri, hijau.
Daun : Tunggal, bulat telur memanjang, pangkal runcing, ujung tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, herbaceous, panjang 1,8 – 5,5 cm, lebar 1 – 2,3 cm, hijau. Pada ketiak daun terdapat sepasang duri keras.
Bunga : Majemuk, dalam tukul yang rapat, yang bawah duduk diketiak, yang atas terkumpul menjadi karangan bunga di ujung dan duduk di ketiak, bentuk bulir atau bercabang pada pangkalnya. Bulir ujung sebagian besar jantan, tidak berduri, tidak berduri tempel, mula-mula naik lalu menggantung. Tukul betina dengan 2 duri lurus yang lancip, dan menjauhi batang. Daun pelindung dan anak daun pelindung runcing, sepanjang-panjangnya sama dengan tenda bunga. Daun tenda bunga 5, panjang 2 – 3 mm, gundul, hijau atau ungu dengan tepi transparan. Benangsari 5, lepas, tanpa taju yang disisipkan diantaranya. Kepala putik duduk, bentuk benang.
Buah : Bulat memanjang, dengan tutup yang rontok, berbiji 1.
Biji : hitam, mengkilat, panjang 0,8 – 1 mm.
Akar : Tunggang.
Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 26 Januari 2015
Tim determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

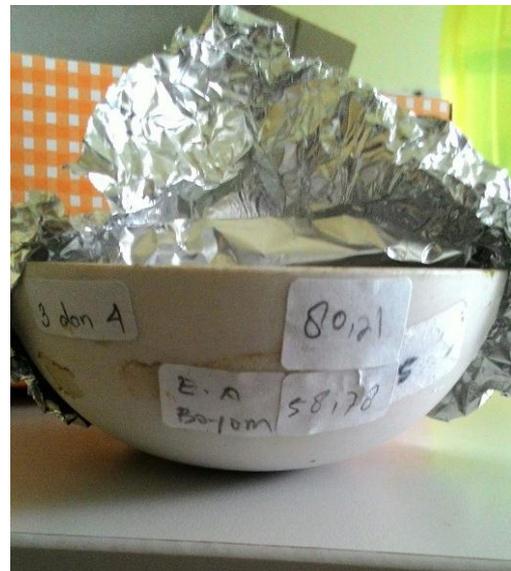
Lampiran 2. Tanaman bayam duri, serbuk daun bayam duri dan fraksi daun bayam duri



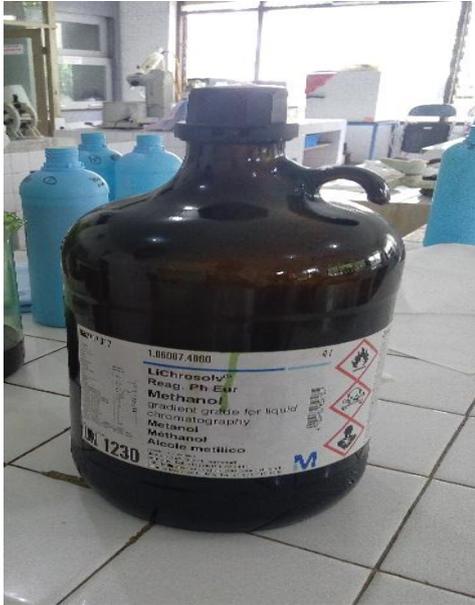
Tanaman bayam duri



Serbuk daun bayam duri



Fraksi daun bayam duri

Lampiran 3. Foto alat-alat yang digunakan dalam penelitian

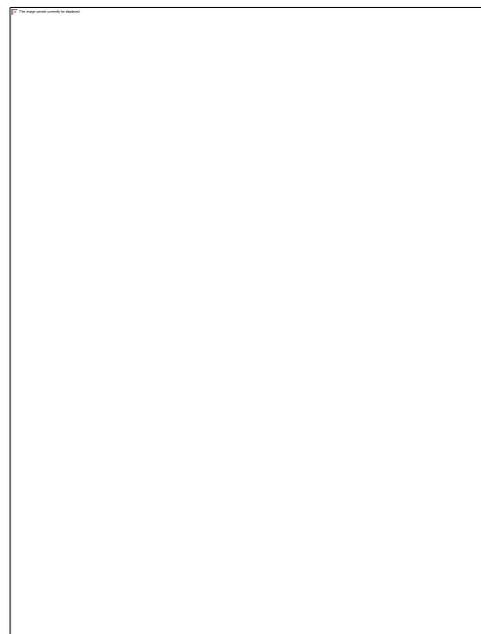
Botol maserasi



Evaporator



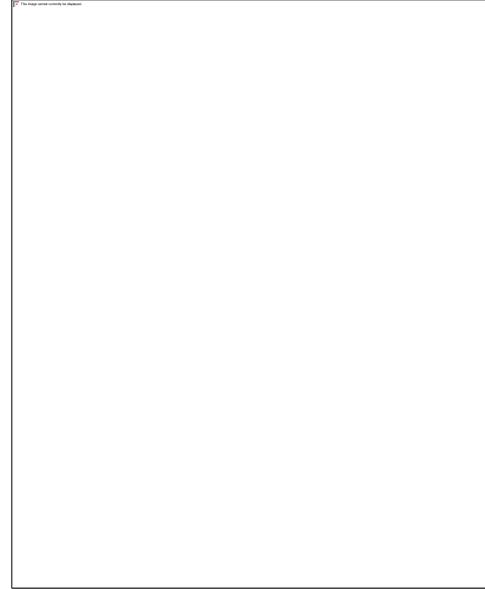
Moisture Balance



Oven

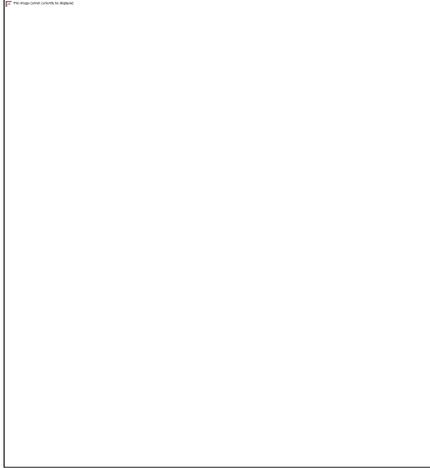


Chamber untuk KLT

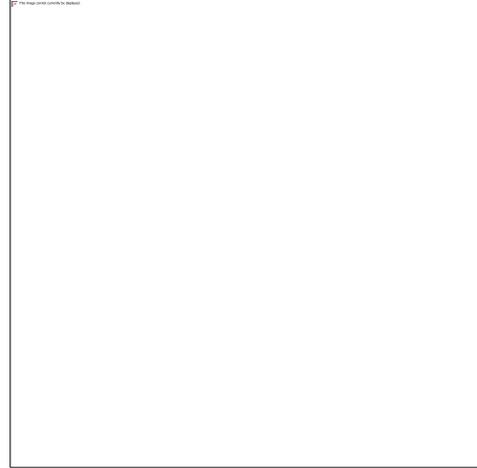


Fraksinasi n-heksan

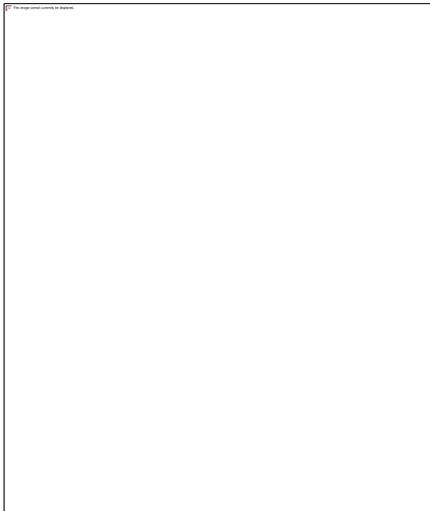
Lampiran 4. Foto hasil identifikasi kualitatif dari fraksi n-heksan daun bayam duri



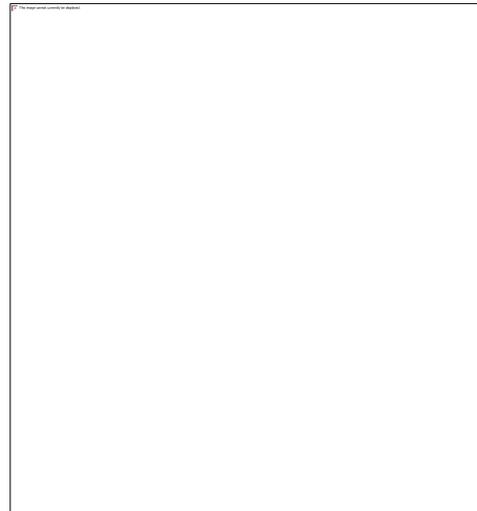
Flavonoid (+)



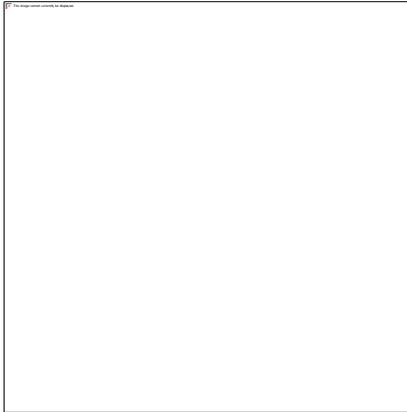
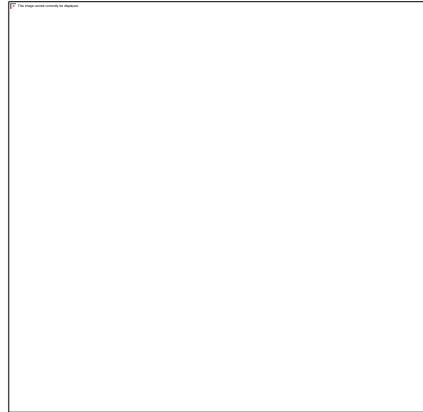
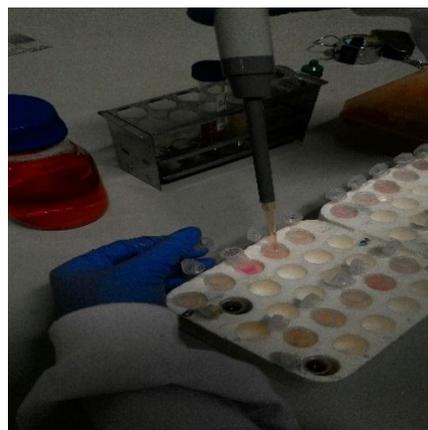
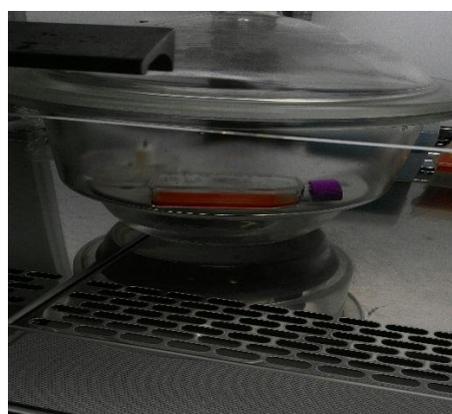
Saponin (-)

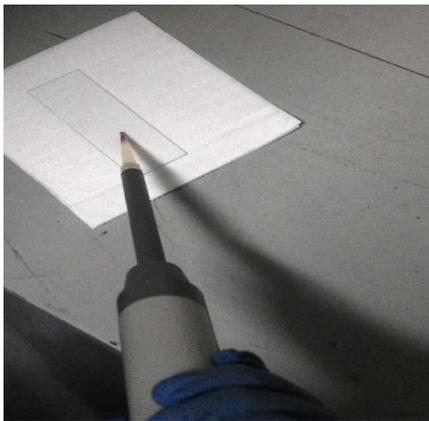
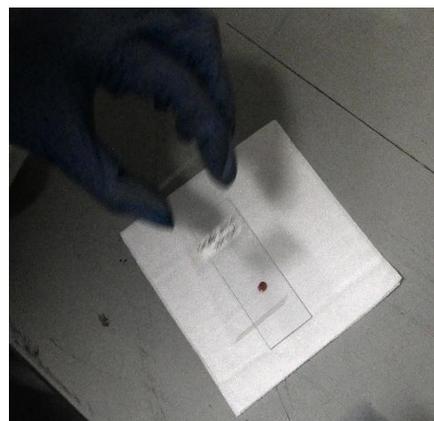
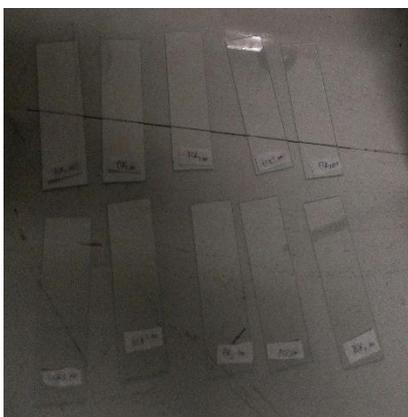


Tanin (+)

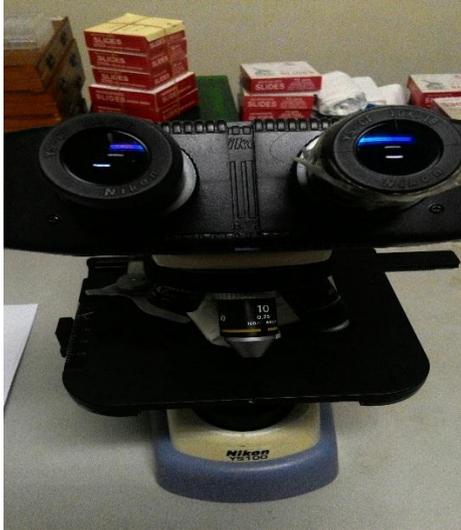


Alkaloid (-)

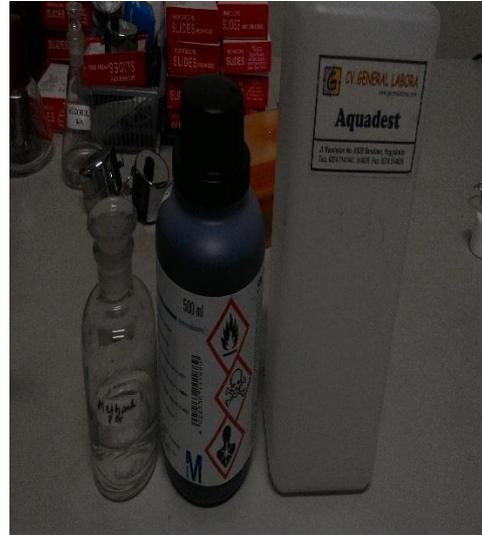
Lampiran 5. Foto sampel dan larutan stok**Sampel fraksi daun bayam duri****Pencampuran fraksi dengan DMSO****RPMI, RBC dan serum****Pemipetan antar tabung****Alat pengujian *in vitro*****Candle jar**

Lampiran 6. Foto pembuatan sediaan apusan**Pengambilan fraksi daun bayam duri****Proses sentrifuge****Membuat apusan****Eritrosit yang dibuat apusan****Apusan sebelum di fraksi****Apusan difiksasi dan ditambahkan giemsa**

Lampiran 7. Foto hasil apusan



Mikroskop untuk alat hitung eritrosit



Bahan pembuatan apusan



Apusan setelah dikeringkan



inkubator CO₂

Lampiran 8. Foto lempeng hasil pengujian kandungan secara KLT dan perhitungan nilai Rf

Identifikasi golongan flavonoid



UV 254



UV 366



setelah penyemprotan

$$R_f = \frac{2,7}{5} = 0,54$$

Identifikasi golongan tanin



UV 254



UV 366



setelah penyemprotan

$$R_f = \frac{0,6}{4} = 0,15$$

Lampiran 9. Hasil persentase berat kering terhadap berat basah daun bayam duri

Dari hasil penelitian diperoleh data sebagai berikut:

Perhitungan % bobot kering terhadap bobot basah:

$$\% \text{ pengeringan} = \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100 \%$$

$$= \frac{925 \text{ (gram)}}{5000 \text{ (gram)}} \times 100 \%$$

$$= 18,5\%$$

$$\% \text{ susut pengeringan} = \frac{\text{bobot basah} - \text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100 \%$$

$$= \frac{5000 - 925}{5000} \times 100 \%$$

$$= 81,5\%$$

Lampiran 10. Hasil penetapan persentase susut pengeringan serbuk daun bayam duri

No.	Berat serbuk (g)	Susut pengeringan (%)
1.	2	4,8
2.	2	4,7
3.	2	4,5
Persentase rata-rata susut pengeringan		4,6

Berat awal daun bayam duri : 5 kg

Berat bayam duri setelah dikeringkan : 3,5 kg

Analisis statistik yang digunakan adalah:

$$SD = \frac{\sqrt{\sum |x - \bar{x}|^2}}{n-1}$$

Keterangan:

$x - \bar{x}$ = deviasi

n = banyaknya percobaan

SD = standar deviasi

No.	X	\bar{x}	$ x - \bar{x} $	$ x - \bar{x} ^2$
1.	4,8		0,2	0,04
2.	4,7	4,6	0,1	0,01
3.	4,5		0,1	0,01
			$\Sigma = 0,2$	$\Sigma = 0,06$

$$SD = \frac{\sqrt{0,2}}{2} = 0,32$$

$$2 \times SD = 0,64$$

Kriteria penerimaan data menggunakan rumus $|x - \bar{x}| < 2 \text{ SD}$

Data yang dicurigai (x) adalah 4,5

$$\text{Rata-rata} = \frac{4,8+4,7}{2} = 4,75$$

Kriteria penerimaan data = $|x - \bar{x}| < 2 \text{ SD}$

$$= |4,5 - 4,75| < 2 \text{ SD}$$

$$= 0,25 < 0,64 \text{ sehingga data diterima}$$

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{4,8+4,7+4,5}{3} = 4,6 \%$$

Jadi, rata-rata persentase susut pengeringan daun bayam duri adalah 4,6%

Lampiran 11. Hasil perhitungan nilai rendemen fraksi n-heksan

Nilai rendemen fraksi n-heksan:

Berat ekstrak yang digunakan untuk fraksinasi : 20 gram

Berat fraksi yang diperoleh : 9,22 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak yang digunakan}} \times 100 \%$$

$$= \frac{9,22 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$= 46,1 \%$$

Lampiran 12. Perhitungan konsentrasi untuk fraksi n-heksan daun bayam duri

Penimbangan larutan stok fraksi n-heksan daun bayam duri

Fraksi n-heksan daun bayam duri	10 mg
DMSO	100 μ l
RPMI	900 μ l
	<hr/>
	1000 μ l

Perhitungan konsentrasi untuk larutan stok

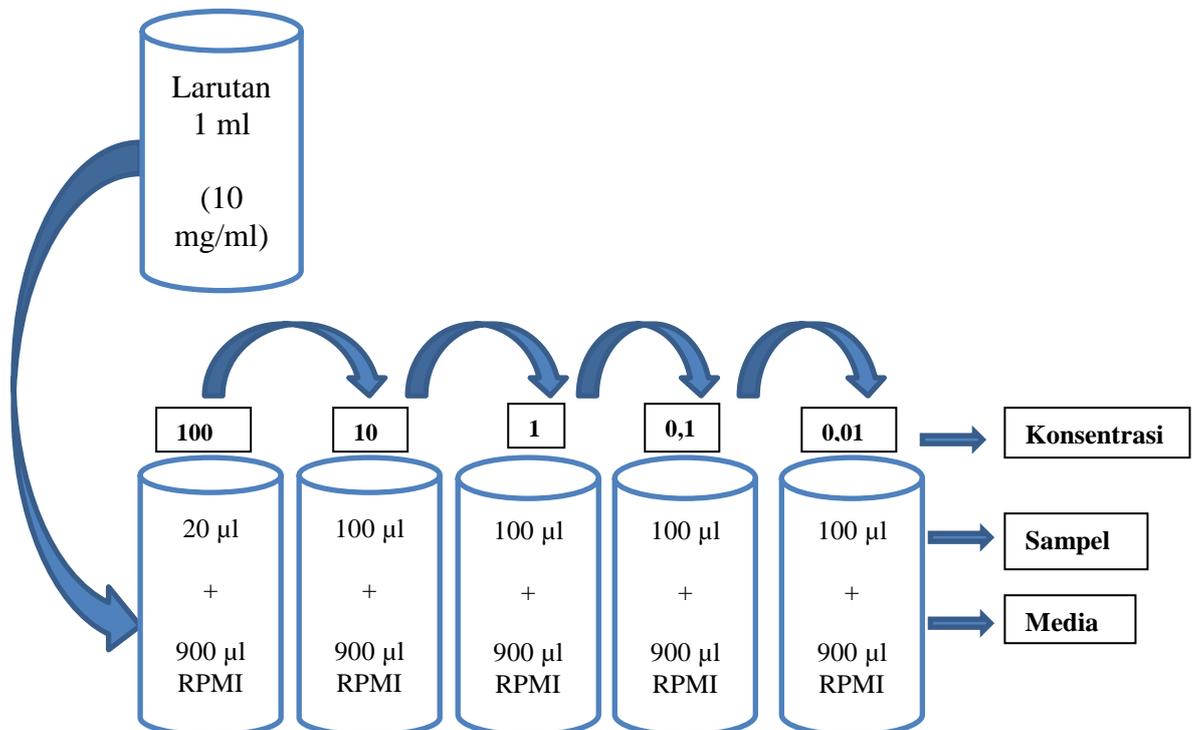
$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 10.000 \mu\text{l} = 200 \mu\text{l} \cdot 100 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 2 \mu\text{l}$$

Keterangan:

- M_1 : Konsentrasi larutan stock
- M_2 : Konsentrasi dosis tertinggi
- V_2 : Total volume persumuran



Lampiran 13. Data perhitungan hasil pembacaan *Plasmodium falcifarum* dan % hambatan fraksi n-heksan dari ekstrak daun bayam duri

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Replikasi			Rata-rata % Parasitemia	SD	Kontrol -	% Penghambatan
	1	2	3				
100	9,88	8,43	9,72	9,34	0,649121201	7,54	0,238
10	7,81	8,66	9,24	8,57	0,587253	7,54	0,136
1	9,83	8,11	7,95	8,63	0,851038581	7,54	0,144
0,1	9,38	8,11	8,08	8,52	0,605881	7,54	0,129
0,01	9,46	6,84	7,13	7,81	1,172717641	7,54	0,035

Perhitungan replikasi:

$$\begin{aligned} \text{Replikasi} &= \frac{\text{Jumlah eritrosit terinfeksi}}{\text{Jumlah total eritrosit}} \times 100\% \\ &= \frac{1137}{115} \times 100\% \\ &= 9,88 \end{aligned}$$

1. Hasil pembacaan replikasi *Plasmodium falcifarum*

Konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$

1. $115/1137 = 9,88$
2. $132/1114 = 8,43$
3. $110/1070 = 9,72$

Konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$

1. $144/1125 = 7,81$
2. $121/1048 = 8,66$
3. $111/1026 = 9,24$

Konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$

1. $116/1141 = 9,83$
2. $132/1071 = 8,11$
3. $138/1098 = 7,95$

Konsentrasi 0,1 $\mu\text{g/ml}$

$$1. \quad 113/1060 = 9,38$$

$$2. \quad 111/1098 = 8,11$$

$$3. \quad 137/1107 = 8,08$$

Konsentrasi 0,01 µg/ml

$$1. \quad 116/1119 = 9,46$$

$$2. \quad 152/1040 = 6,84$$

$$3. \quad 152/1085 = 7,13$$

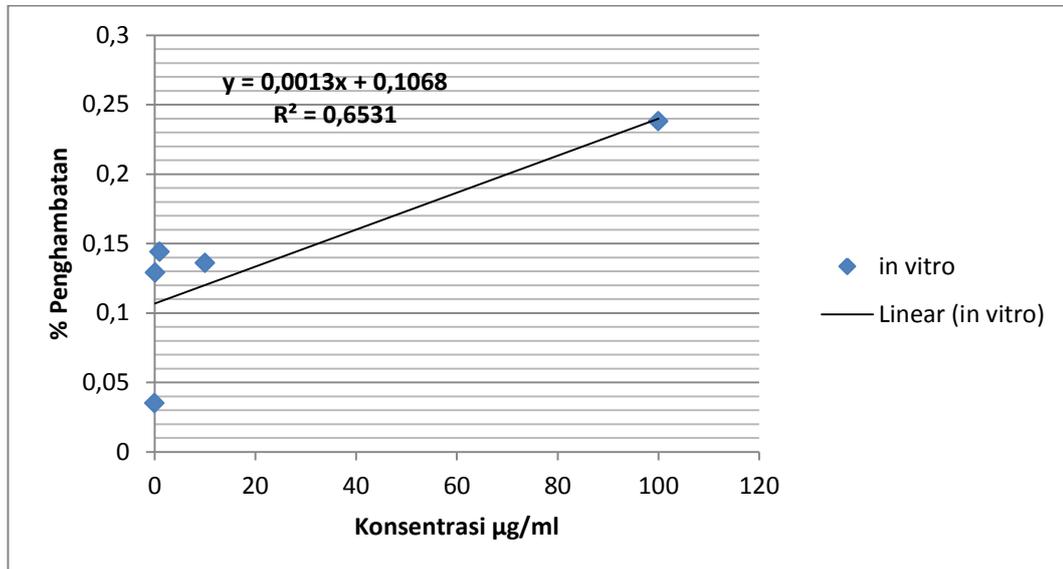
Perhitungan rata-rata % parasitemia:

$$\begin{aligned} \% \text{ parasitemia} &= \frac{(\text{replikasi 1} + \text{replikasi 2} + \text{replikasi 3})}{3} \times 100\% \\ &= \frac{9,88+8,43+9,72}{3} \times 100 \% \\ &= 9,34 \end{aligned}$$

Perhitungan % penghambatan:

$$\begin{aligned} \% \text{ Penghambatan} &= \frac{(\text{Rata-rata parasitemia} - \text{Rata-rata kontrol negatif})}{\text{Rata-rata kontrol negatif}} \times 100\% \\ &= \frac{9,34-7,54}{7,54} \times 100 \% \\ &= 0,238 \end{aligned}$$

Lampiran 14. Hasil perhitungan untuk menentukan nilai IC₅₀



$$y = 0,0013x + 0,1068$$

$$50 = 0,0013x + 0,1068$$

$$x = \frac{50 - 0,1068}{0,0013}$$

$$= 383,8 \mu\text{g/ml}$$