

Penentuan Senyawa *Phorbol Ester* pada Biji Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L) dan Bioaktivitas terhadap Keong *Oncomelania hupensis lindoensis* di Napu, Kabupaten Poso, Sulawesi Tengah

DETERMINATION OF PHORBOL ESTERS IN RED JATROPHA (Jatropha gossypifolia L) SEEDS EXTRACT AND ITS BIOACTIVITY AGAINST Oncomelania hupensis lindoensis SNAIL IN NAPU, POSO REGENCY, CENTRAL SULAWESI PROVINCE

Anis Nurwidayati¹, Ani Isnawati², Rosmini¹, Rina Isnawati¹, Ade Kurniawan¹

¹Balai Litbang P2B2 Donggala Jalan Masitudju no 58,
Labuan Panimba, Labuan, Donggala, Sulawesi Tengah, 94352. Indonesia

²Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan,
Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta, 10560, Indonesia
email: anisnurw21@gmail.com;

Submitted : 13-1-2015, Revised 1 : 23-1-2015, Revised 2 : 30-3-2015, Accepted : 20-4-2015

Abstract

Schistosomiasis is still a health problem in endemic area of Napu, Poso, Central Sulawesi. Snail Oncomelania hupensis lindoensis, the intermediate host of schistosomiasis, is commonly found in the Napu region. Snail control was done by spraying molluscicides, but it affected the environment. The use of red seed extracts of Jatropha gossypifolia were expected to more safe to the environment. This study aimed to determine the phorbol esters contained in red Jatropha seeds and its bioactivities against Oncomelania hupensis lindoensis. The research was conducted on March-December 2013. The extraction and characterization of phorbol esters in J.gossypifolia L seeds were conducted in Centre of Biomedical and Health Basic Technology. The trial examination on snail was tested in the laboratory of Schistosomiasis Napu. The HPLC analysis showed phorbol esters contained in J.gossypifolia L seed extract was 0,601 mg PE/g extract. Phorbol esters found in J.gossypifolia L seed extract was Phorbol-12-myristat-13-asetat, with the retention time 25,152 minutes. The bioactivity test on snails showed LC₅₀ value was 50,98 ppm PE and 80,19 ppm PE for LC₉₅. The result showed that phorbol esters concentration in J.gossypifolia L seed extract was too low and it is not effective to be produced in large scale.

Keywords : Schistosomiasis, Jatropha gossypifolia, phorbol esters, Oncomelania hupensis lindoensis snails

Abstrak

Schistosomiasis masih menjadi masalah kesehatan di daerah endemis Napu, Kabupaten Poso, Sulawesi Tengah. Keong *Oncomelania hupensis lindoensis*, perantara schistosomiasis ditemukan di Napu. Upaya pemberantasan yang dilakukan selama ini adalah penyemprotan dengan moluskisida kimia, akan tetapi memiliki efek terhadap lingkungan. Penggunaan tanaman bermoluskisida diharapkan lebih murah dan lebih ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan senyawa phorbol esters dalam biji jarak merah dan bioaktivitasnya terhadap keong perantara schistosomiasis, *O.h lindoensis*. Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Desember 2013. Proses ekstraksi dan karakterisasi phorbol esters dalam biji jarak merah dilakukan di Laboratorium Farmasi, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Litbang kesehatan. Pengujian terhadap keong dilakukan di Laboratorium Schistosomiasis Napu. Analisis HPLC menunjukkan kadar phorbol esters dalam ekstrak biji jarak merah adalah sebesar 0,601 mg PE/g minyak. Jenis phorbol esters (PE) dalam ekstrak biji jarak merah adalah dari jenis PMA (Phorbol-12-myristat-13-asetat). PE muncul pada Retention Time menit ke 25,152. Hasil pengujian phorbol esters dalam ekstrak biji jarak merah terhadap keong *O.h lindoensis* diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 50,98 ppm PE dan LC₉₅ sebesar 80,19 ppm PE. Penelitian menunjukkan bahwa kadar phorbol esters dalam ekstrak biji jarak merah terlalu kecil sehingga tidak efektif apabila diproduksi dalam skala besar

Kata kunci : Schistosomiasis, Jatropha gossypifolia, phorbol esters, keong Oncomelania hupensis lindoensis.

PENDAHULUAN

Schistosomiasis merupakan salah satu penyakit parasit terpenting dalam kesehatan masyarakat. Laporan WHO tahun 2010 menyatakan bahwa 230 juta orang di 77 negara telah terinfeksi oleh schistosomiasis dan 600 juta orang lainnya berisiko terinfeksi. Penyebaran penyakit ini cukup luas, yaitu di negara-negara berkembang baik tropik maupun subtropik. Schistosomiasis di Asia ditemukan di wilayah Asia Timur (China dan Jepang) dan di Asia Tenggara (Philipina, Indonesia, Vietnam, Laos, Thailand, Kamboja).¹

Schistosomiasis di Indonesia disebabkan oleh cacing trematoda jenis *Schistosoma japonicum* dengan hospes perantara keong *Oncomelania hupensis lindoensis* (*O.h. lindoensis*). Penularan terjadi pada saat serkaria cacing *S. japonicum* menginfeksi hospes mamalia melalui kulit. Sejauh ini penyakit tersebut hanya ditemukan di Propinsi Sulawesi Tengah yaitu Dataran Tinggi Napu dan Dataran Tinggi Bada, Kabupaten Poso serta Dataran Tinggi Lindu, Kabupaten Sigi.

Prevalensi kasus schistosomiasis di Napu tahun 2008-2012 yaitu 2,44%, 3,8%, 4,78%, 2,15%, 1,44%.² Kasus terjadi karena banyaknya faktor dalam penularan schistosomiasis, di antaranya adalah adanya hospes perantara schistosomiasis yaitu keong *O.h. lindoensis*. Survei keong tahun 2010 menunjukkan *infection rate* (IR) masih tinggi yaitu 4% dan 1,2% pada tahun 2012.² *Infection rate* pada keong menjadi salah satu faktor yang dapat meningkatkan risiko terinfeksi schistosomiasis pada manusia yang beraktivitas di daerah keong, sehingga dapat meningkatkan prevalensi kasus.

Upaya pengendalian schistosomiasis yang dapat dilakukan adalah pengobatan dan pengurangan penularan melalui pemberantasan keong perantara. Pemberantasan keong perantara merupakan upaya yang penting dalam pengendalian schistosomiasis karena dapat memutus rantai penularan. Pemberantasan keong dapat dilakukan secara mekanik dan kimia. Pengendalian secara mekanik dilakukan dengan perbaikan saluran air di daerah fokus, pengeringan daerah fokus dan pengolahan lahan. Pengendalian secara kimia dilakukan dengan menggunakan

moluskisida. Moluskisida yang umum digunakan saat ini adalah niclosamide (Bayluscide®, Bayer, Leverkusen, Germany), yang sudah digunakan sejak tahun 1980-an sampai sekarang. Penggunaan moluskisida sintetik seperti niclosamide memiliki kekurangan yaitu kecenderungan bersifat toksik terhadap lingkungan, ikan dan biota mikroskopis (zooplankton dan fitoplankton), serta mempengaruhi vegetasi di habitat keong perantara schistosomiasis.³

Kekurangan moluskisida sintetik mendorong perlunya penelitian tentang tanaman yang berpotensi sebagai penghasil moluskisida alternatif pengganti niklosamide. Penggunaan tanaman bermoluskisida diharapkan lebih sederhana, murah, dan lebih ramah lingkungan. Berbagai tanaman yang memiliki kandungan moluskisida ditemukan dari anggota family *Solanaceae*, *Phytolaccaceae*, *Fabaceae*, *Rubiaceae*, dan *Euphorbiaceae*.³ Berbagai spesies tanaman yang memiliki kandungan moluskisida terhadap keong perantara schistosomiasis (*Bulinus africanus* dan *Biomphalaria glabrata*) antara lain *Phytolacca dodecandra* (L' Herit) *Balanites aegyptiaca*, *Sapindus saponaria*, *Swartzia madagascarensis*, *Jatropha curcas*, dan *Riccinus communis*.^{4,5} Kandungan dalam tanaman tersebut yang diduga berpotensi sebagai moluskisida adalah saponin, *sesquiterpenes*, *chalcones* dan *flavonol glycodides* seperti *phorbol esters*.^{6,7,8}

Tumbuhan dari famili Euphorbiaceae merupakan salah satu kelompok tumbuhan yang memiliki aktivitas moluskisida. Salah satu anggota Euphorbiaceae yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber moluskisida hayati adalah *Jatropha curcas* dan *Riccinus communis*. Ekstrak biji jarak pagar (*J.curcas*) mengandung senyawa hidrofobik yaitu phorbol esters yang terbukti memiliki daya bunuh terhadap *Oncomelania hupensis*. Penambahan phorbol esters terbukti dapat meningkatkan daya bunuh terhadap keong.^{9,10}

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan senyawa *phorbol esters* dalam biji jarak merah dan bioaktivitasnya terhadap keong *O.h. lindoensis*. Alasan pemilihan topik adalah tanaman jarak merah (*J. gossypifolia* L) yang masih satu famili dengan *J.curcas* yaitu Euphorbiaceae, juga memiliki kandungan *phorbol esters* yang

berpotensi sebagai moluskisida. Hasil penelitian Nurwidayati (2009) menunjukkan bahwa ekstrak metanolik biji jarak merah (*J.gossypifolia*) bahkan lebih efektif dalam membunuh keong *O.h lindoensis* dibandingkan ekstrak metanolik biji jarak pagar (*J. curcas*) dan jarak kastor (*Ricinus communis*).¹¹

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak biji jarak merah adalah 500 g serbuk biji jarak merah, heksan 1350 ml, aluminium foil, dan parafilm untuk merapatkan penutup. Bahan untuk penentuan *phorbol esters* dalam biji jarak merah dengan HPLC adalah 5 g ekstrak jarak merah, metanol, eluen *isocratic acetonitrile*-akuades (80:20) dan akuades. Bahan untuk pengujian keong adalah ekstrak biji jarak merah, kertas saring, kawat kassa, akuades, dan form kematian keong uji.

Cara Kerja :

Pengumpulan biji jarak dari lapangan

Pengambilan biji jarak dilakukan dengan cara memetik buah jarak yang sudah tua. Pengumpulan biji jarak juga dilakukan dengan mengambil biji dan buah kering yang jatuh ke tanah di sekitar pohon jarak. Biji yang terkumpul disimpan dalam kantong plastik hitam kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan dibungkus kain hitam. Pengeringan dilakukan sampai daging buah jarak mengering dan terkupas dengan sendirinya, sehingga hanya biji jarak yang tersisa. Biji jarak yang kering kemudian disimpan di tempat yang kering untuk dibuat simplisia.

Pembuatan ekstrak heksan biji jarak merah

Serbuk biji jarak merah ditimbang sebanyak 200 g dan 300 g. Serbuk biji jarak merah dimasukkan ke dalam tabung buchner. Setelah itu dimasukkan heksan 600 ml pada tabung yang berisi 200 g serbuk biji jarak merah, 750 ml heksan pada tabung yang berisi 300 g serbuk biji jarak merah. Tabung ditutup dengan penutup yang telah diolesi vaselin, direkatkan dengan aluminium foil dan parafilm. Tabung diamkan selama sehari semalam di ruangan berpendingin supaya heksan tidak mudah menguap.

Penentuan phorbol esters dalam biji jarak merah

dengan HPLC.¹²

Proses penentuan senyawa phorbol esters dilakukan di Laboratorium Farmasi, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Minyak biji jarak merah ditimbang sebanyak 5 g. Minyak biji jarak merah kemudian diekstraksi dengan 4x5 g methanol dan ditampung dalam labu takar 25 ml. Ekstrak biji jarak merah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit. Setelah ekstrak biji jarak merah disentrifugasi, diambil lapisan atasnya, dimasukkan labu takar 25 ml dan ditambah metanol sampai batas. Setelah itu dilakukan analisis dengan mesin HPLC. Kondisi / parameter HPLC yang digunakan adalah sebagai berikut: jenis mesin HPLC *Waters 2695 separation module* dengan detector PDA, panjang gelombang (λ) UV 280 nm; kolom yang digunakan yaitu jenis C18, 150 x 4,6 mm, 5 μ m; eluen yang digunakan yaitu *isocratic acetonitrile-water* (80:20); larutan blanko yang digunakan adalah metanol; Laju alir (*flow rate*) adalah 1 ml/menit; Waktu alir (tR) : 30 menit; Volume injeksi sampel adalah 100 μ L; *Washing method* yang digunakan adalah methanol 100%, tR 30 menit, fR 0,5 ml/menit; Baku standar yang digunakan adalah phorbol 12-*myristate* 13 *acetate*, 98% dari Sigma (German).

Pengujian ekstrak terhadap keong *O.h. lindoensis* di Laboratorium Schistosomiasis Napu

Masing-masing 15 keong dari daerah fokus diletakkan ke dalam cawan petri yang sudah diberi kertas saring dan larutan ekstrak biji jarak merah. Pada setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Keong dalam cawan petri yang berisi larutan ekstrak biji diamati setiap 4 jam selama 24 jam.⁹ Kematian keong ditandai dengan tidak adanya reaksi sensitivitas kaki muskular keong ketika disentuh dengan jarum serangga.⁹

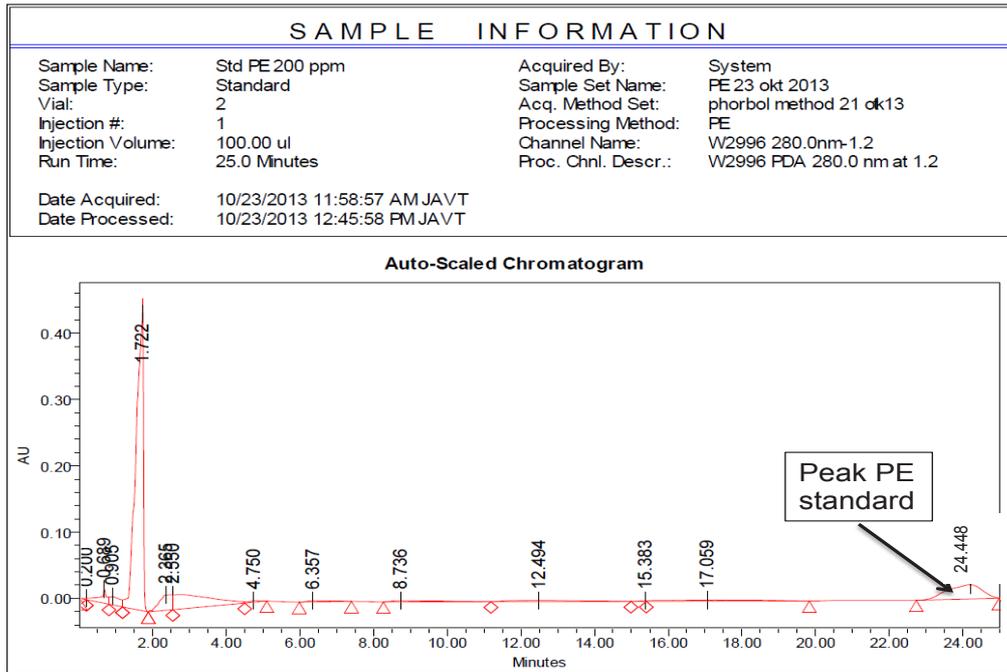
HASIL

Kadar Rendemen Ekstrak Biji Jarak Merah

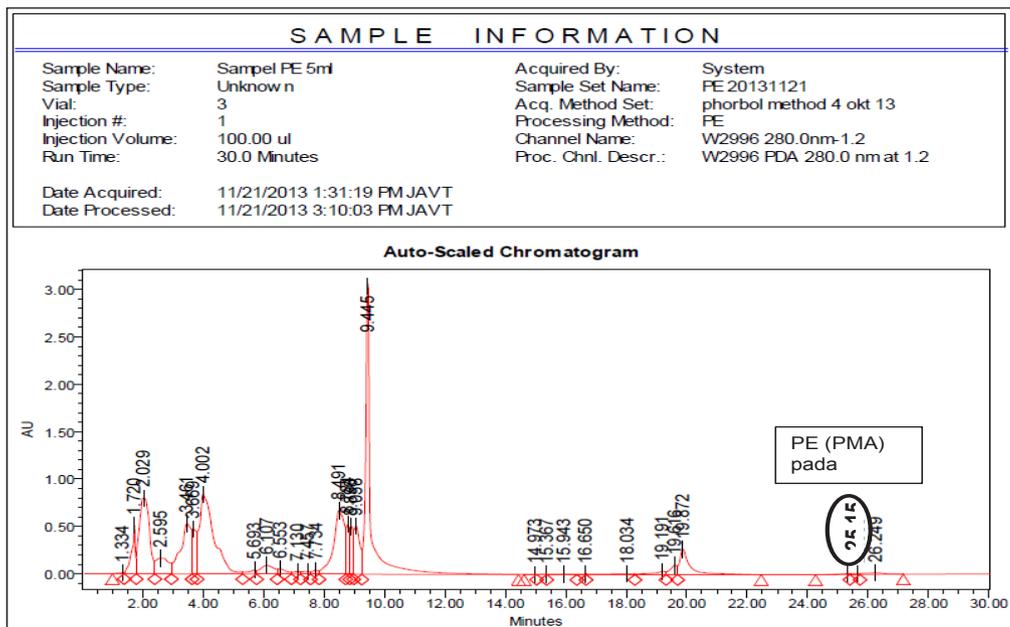
Berdasarkan proses ekstraksi biji jarak merah, diperoleh ekstrak sebesar 708,983 g dari 5100 g serbuk biji jarak merah, sehingga rendemennya adalah sebesar 13,90%.

Penentuan Phorbol Esters Dalam Biji Jarak Merah

Penentuan phorbol esters dalam biji jarak merah dilakukan dengan HPLC analitis, dengan volume injeksi 100 μ L. Profil kromatogram dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Profil kromatogram PE jenis PMA standard pada konsentrasi 100 ppm, muncul pada retention time 24,448 menit.



Gambar 2. Profil kromatogram sampel ekstrak biji jarak merah; peak pada RT menit 25,152 adalah PE jenis PMA (berdasar standard);

Gambar 1 menunjukkan profil kromatogram PE standard dengan jenis PMA. Pada gambar tersebut terlihat peak muncul pada *retention time* 24,448 menit (hasil yang diperoleh hanya sampai menit). Peak tersebut digunakan sebagai pembanding dalam penentuan senyawa PE dalam ekstrak biji jarak merah.

Gambar 2 menunjukkan profil kromatogram phorbol esters (PE) dalam ekstrak biji jarak merah. Pada gambar tersebut terlihat peak muncul pada *retention time* 25,152 menit. Berdasarkan peak standard PE yang digunakan, peak tersebut merupakan PE dengan jenis yang sama dengan standard, yaitu phorbol esters jenis PMA.

Kadar phorbol esters (PE) dalam ekstrak biji jarak merah

Total berat PE dalam 25 ml larutan adalah 3,0062 mg. Dalam larutan tersebut terdapat 5 g ekstrak, sehingga kadar PE dalam ekstrak adalah 3,0062 mg dibagi 5g, yaitu 0,601 mg PE/g ekstrak. Apabila dihitung persentasenya, kadar PE dalam ekstrak biji jarak merah adalah 0,06% PE.

Hasil pengujian phorbol esters dalam ekstrak biji jarak merah terhadap keong *O.h lindoensis*

Pengujian dilakukan dengan ekstrak

yang dilarutkan dalam akuades sebagai pelarut. Pengamatan dilakukan setiap 4 jam selama 24 jam. Hasil pengujian menunjukkan tidak ada kematian keong pada kelompok kontrol negatif dengan akuades, sehingga tidak perlu dilakukan pengujian ulang (Tabel 1). Hasil pengujian tersebut kemudian dianalisis probit dan diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 50,98 ppm PE (nilai minimum 43,59 ppm; maksimum 61,08 ppm) dan LC₉₅ sebesar 80,19 ppm PE (nilai minimum 68,35 ppm; maksimum 101,56 ppm)

Tabel 1. Hasil pengujian phorbol esters dalam ekstrak biji jarak merah terhadap keong *O.h.lindoensis* di Laboratorium Schistosomiasis Napu

No.	Konsentrasi PE (ppm)	Ulangan	n	Jumlah Kematian (per 4 jam)					
				4	8	12	16	20	24
1.	10 (167 mg ekstrak)	1	15	0	0	2	2	2	2
		2	15	0	0	1	1	1	1
		3	15	0	0	0	0	0	0
		jumlah		45	0	0	3	3	3
2.	20 (334 mg ekstrak)	1	15	0	1	1	2	2	2
		2	15	0	0	0	0	0	0
		3	15	0	0	0	0	0	0
		jumlah		45	0	1	1	2	2
3.	40 (668 mg ekstrak)	1	15	0	1	3	3	3	3
		2	15	0	0	1	1	1	1
		3	15	0	0	0	0	0	1
		Jumlah		45	0	1	4	4	4
4.	80 (1.136 mg ekstrak)	1	15	0	0	1	5	15	15
		2	15	0	2	3	9	15	15
		3	15	0	0	4	6	15	15
		jumlah		45	0	2	8	20	45
5.	160 (2.672 mg ekstrak)	1	15	0	1	4	15	15	15
		2	15	0	0	3	7	15	15
		3	15	0	1	2	12	15	15
		jumlah		45	0	2	9	34	45
6.	320 (5.334 mg ekstrak)	1	15	1	2	15	15	15	15
		2	15	2	2	15	15	15	15
		3	15	0	2	15	15	15	15
		Jumlah		45	3	6	45	45	45
7.	640 (10.688 mg ekstrak)	1	15	1	15	15	15	15	15
		2	15	1	15	15	15	15	15
		3	15	2	15	15	15	15	15
		jumlah		45	4	45	45	45	45
8.	akuades (10 ml)	1	15	0	0	0	0	0	0
		2	15	0	0	0	0	0	0
		3	15	0	0	0	0	0	0
		jumlah		45	0	0	0	0	0

PEMBAHASAN

Biji jarak pagar (*Jatropha curcas*) mengandung racun terutama *phorbol esters* dan zat-zat anti nutrisi lainnya seperti tripsin inhibitor, phytate, lektin dan curcin. Di antara racun tersebut *phorbol esters* merupakan racun yang paling toksik dan menunjukkan aktivitas biologis yang luas dari mikroorganisme hingga hewan tingkat tinggi.¹³

Pada penelitian ini diteliti kandungan dan bioaktivitas *phorbol esters* (PE) dalam biji jarak merah (*J. gossypifolia* L) terhadap keong perantara schistosomiasis, *O.h. lindoensis*. Pemilihan biji sebagai bahan penelitian adalah karena biji jarak merah mengandung senyawa *phorbol ester* dengan konsentrasi tertinggi. Hal tersebut karena kandungan minyak dalam biji, di mana senyawa *phorbol esters* bersifat larut dalam minyak, dan sebagian besar terikat dalam minyak.¹⁴

Pelarut yang digunakan dalam analisis HPLC pada penelitian ini adalah eluen *isokratik acetonitrile-akuades* (80:20). Peak standar *phorbol esters* muncul pada menit ke 24,448 (Gambar 1). Hasil analisis *phorbol esters* dengan HPLC menunjukkan bahwa peak *phorbol esters* dari sampel ekstrak biji jarak merah muncul pada waktu 25,152 menit (Gambar 2). Penentuan peak sampel sebagai *phorbol ester* didasarkan pada peak standar *phorbol ester* (*phorbol-12-myristate-13-acetate* / PMA) yang berasal dari Sigma, Jerman.

Analisis HPLC juga menunjukkan adanya peak pada menit ke 6-11 (hasil tidak ditampilkan). Peak yang muncul pada menit ke 6-11 tersebut menunjukkan adanya PE derivatif yang lain. Peak tersebut dapat diduga sebagai PE jenis TPA (*tetradecanoyl phorbol acetate*) berdasarkan hasil penelitian Haas et al. (2002). Haas et al. (2002) melaporkan adanya 6 jenis *phorbol ester* dalam minyak jarak pagar, semua senyawa tersebut memiliki bagian diterpen yang sama yaitu *12-deoxyl-16-hydroxyphorbol*. Enam jenis PE dalam biji jarak pagar yaitu *Jatropha factors* C1, C2, C3, epimers C4 & C5 dan C6. Peak yang lain ditentukan berdasarkan referensi yang menyatakan bahwa dalam minyak jarak pagar teridentifikasi 6 jenis senyawa *phorbol ester*.¹²

Hasil analisis HPLC menunjukkan kandungan *phorbol ester* dalam biji jarak merah adalah 0,06%. Hasil penelitian ini menunjukkan kandungan PE dalam ekstrak biji jarak merah lebih rendah dari kandungan PE dalam biji jarak pagar. Kandungan *phorbol ester* pada biji dan kernel jarak pagar sangat dipengaruhi oleh varietas. Biji dari buah jarak pagar muda (belum matang) mengandung senyawa *phorbol ester* yang lebih tinggi.¹⁵

Sifat dan kadar *phorbol esters* dari minyak jarak yang diisolasi dari lokasi berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan. Penelitian pada biji jarak pagar (*J.curcas*) dari daerah Malaysia, Indonesia, India menunjukkan perbedaan kadar *phorbol esters* yang signifikan. Kadar *phorbol esters* biji jarak pagar dari Indonesia ditemukan paling tinggi yaitu 1,58%, India 0,58% dan Malaysia sebesar 0,23%.¹⁶

Proses selanjutnya adalah analisis data kematian keong dengan probit untuk menentukan *lethal concentration* (LC) 50 dan 95 dari *phorbol esters* yang terkandung dalam biji jarak merah. Hasil pengujian *phorbol esters* dalam ekstrak biji jarak merah terhadap keong *Oncomelania hupensis lindoensis* di laboratorium diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 50,98 ppm PE (nilai minimum 43,59 ppm; maksimum 61,08 ppm) dan LC₉₅ sebesar 80,19 ppm PE (nilai minimum 68,35 ppm; maksimum 101,56 ppm).

Hasil pengujian *phorbol esters* dalam biji jarak merah terhadap keong *O.h.lindoensis* di Napu ini masih kurang efektif apabila dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rug dan Ruppei (2000) dan Liu (1997). Rug dan Ruppei (2000) melaporkan bahwa minyak kasar biji jarak pagar dan ekstrak methanol dari minyak jarak pagar menunjukkan toksisitas terhadap keong (*Biomphalaria glabrata*) dengan nilai LC₅₀ sebesar 50 mg/L dan 5 mg/L. nilai LC₁₀₀ sebesar 100 mg/L untuk minyak kasar dan 25 mg/L untuk ekstrak methanol dari minyak. Liu (1997) melaporkan bahwa ekstrak methanol biji jarak pagar menyebabkan kematian keong *O.hupensis* sebesar 50% pada konsentrasi 10 mg/L.¹⁷

Kurang efektifnya hasil pengujian pada penelitian ini dapat disebabkan karena kadar *phorbol esters* yang sangat kecil (hanya

0,06%). Selain itu juga dapat disebabkan bentuk ekstrak yang sangat berminyak. Kondisi tersebut menyebabkan senyawa PE dalam ekstrak biji jarak merah sulit larut dalam air, sehingga daya bunuh terhadap keong kurang menjadi kurang maksimal.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan senyawa phorbol esters (PE) dalam ekstrak biji jarak merah adalah jenis PMA (*Phorbol-12-myristate-13-acetate*) dengan kadar 0,06%. Pengujian PE terhadap keong *O.h.lindoensis* menunjukkan hasil yang belum optimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Kepala Balai Penelitian dan Pengembangan Penyakit Bersumber Binatang (Litbang P2B2) Donggala, Bapak Jastal, SKM, M.Si atas izin dan dukungan pembiayaan atas penelitian ini. Terima kasih kepada Kepala dan seluruh staf Laboratorium Farmasi, Pusat I (Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan) atas bantuan dalam pelaksanaan ekstraksi dan penentuan senyawa PE dalam biji jarak merah. Terima kasih kepada Pak Kaleb dan rekan-rekan di Laboratorium Schistosomiasis Wuasa, Lore Utara. Terima kasih kepada Bapak Rauf, SKM dan Bapak Permenas, atas dukungan dan kerjasamanya dalam pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu penelitian ini sampai dengan selesai.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO. Schistosomiasis Fact Sheet. 2010. <http://www.who.int>
2. Anonim, Prevalensi Schistosomiasis di Sulawesi Tengah, Program Pemberantasan Schistosomiasis. Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Tengah. 2012.
3. Ojewole JAO. Indigenous plants and Schistosomiasis Control In South Africa: Molluscicidal Activity of Some Zulu Medicinal Plants. *Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, enero. 2004;3(2):8-22.
4. Lemma A, Yau P. Studies on the molluscicidal properties of Endod (*Phytolacca dodecandra*). II. Comparative toxicity of various molluscicides to fish and snails. *Ethiop. Med. J.* 1974;12:109-13.
5. Kloos H, McCullough FS. Plant Molluscicides. *Planta Medica*.1982;46: 195-209.
6. Farnsworth NR. The Role of ethnopharmacology in drug development. In: "Bioactive Compounds from Plants". Chadwick DJ, marsh J (Eds), John Willey and Sons, Chichesters. 1991: 2-21.
7. Al-Zanbani NA, Barret J, Banaja AA. laboratory Evaluation of the molluscicidal properties of some Saudi Arabian euphorbiales against *Biomphalaria pfeifferi*. *Acta Tropica*. 2001;78: 23-9.
8. Hostettmann K, Kizu H, Tomimori T. Molluscicidal properties of various saponins. *Planta Medica*. 1982; 44: 34-5.
9. Rug M, Ruppei A. Toxic Activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. *Trop. Med. Intern. Hlth.* 2000;5: 423-30.
10. Goel G, makkar HPS, Francis G, Becker K. Phorbol Esters: Structure, Biological Activity, and Toxicity in Animals. *International Journal of Toxicology*. 2007;26: 279-88. DOI: 10.1080/1091581070464641.
11. Widayati AN, Veridiana N, Yuyun S, Risti, dkk. Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L), Ekstrak Biji Jarak Pagar (*J.curcas* L), Jarak Kastor (*Ricinus communis* L) dan Eektivitasnya Terhadap Hopses Perantara Schistosomiasis, Keong *Oncomelania hupensis lindoensis* di Dataran Tinggi Napu Kabupaten Poso, Propinsi Sulawesi Tengah. Laporan Penelitian. Donggala: Balai Penelitian dan Pengembangan Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang. 2009.
12. Haas W, Sterk H, Mittelbach M. Novel 12-deoxy-16-hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. *J Nat Prod*. 2002; 65: 1434-40.
13. Wink M, Koschmieder C, Sauerweien M and Sporer F, Phorbol esters of *J.curcas*-biological activities and potential applications, in *Biofuel and Industrial Products from Jatropha curcas*, ed. By Gubitz GM, Mittelbach M and Trabi M. DBV Verlag. Gaz. 1997;160-166.
14. Windarwati S. Pemanfaatan Fraksi Aktif Ekstrak Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn.) Sebagai Zat Antimikroba dan Antioksidan Dalam Sediaan Kosmetik [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor;2011.

15. Makkar HPS, Aderibigbe AO, dan Becker K. Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chem.* 1998;162(2): 207-15.
16. Karmawati E. Formulasi Biopestisida Jarak Pagar Berbahan Aktif Phorbol Ester dengan Efektifitas Pengendalian Hama Helopeltis dan Kutu Daun (>70%) dan Efisien (>30%). Laporan Akhir Penelitian Program Insentif Riset Terapan. Jakarta: Puslit dan Pengembangan Perkebunan BPPT. Kementan. 2010.
17. Ahmed WA, Salimon J. Phorbol Esters as Toxic Constituents of Tropical *Jatropha curcas* Seed Oil. *European Journal of Scientific research.* 2009;31(3): 429-436.
18. Liu SY, Sporer F, Wink M, Jourdane J, Henning R, Li YL, et al.. Anthraquinones in *Rheum palmatum* and *Rumex dentatus* (Polygonaceae), and Phorbol Esters in *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) with molluscicidal activity against the schistosome vector snails *Oncomelania*, *Biomphalaria*, and *Bulinus*. *Trop. Med. Int. Health.* 1997;2: 179-88.