

Pemberian Ekstrak Air Bidara Laut (*Strychnos Ligustrina*) terhadap Diferensial Leukosit Mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*

(Differential Leukocyte in Mice Infected with *Plasmodium berghei* and Treated with Aqueous Extract of *Strychnos ligustrina*)

Muhammad Nurridho Wahid¹, Umi Cahyaningsih^{2*}, Arifin Budiman Nugraha²

¹Program Studi Sarjana Kedokteran Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

²Divisi Parasitologi dan Entomologi Kesehatan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University, Bogor, Indonesia

Diterima: 26/02/2024, Disetujui: 19/05/2024, Terbit Online: 26/06/2024

*Penulis untuk korespondensi: umi-ch@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Plasmodium berghei merupakan hemoprotozoa penyebab penyakit malaria pada mencit. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak air bidara laut terhadap gambaran diferensial leukosit pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Penelitian ini menggunakan 49 ekor mencit Balb/c, dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kontrol normal (KN), kontrol infeksi tanpa perlakuan (KI), kontrol infeksi yang diberikan perlakuan obat kombinasi dihydroartemisinin 25 mg/kgbb dan piperakuin fosfat dosis 197 mg/kgbb (K0), EAa (ekstrak aquades), EAb (ekstrak aquades : DHF = 1:1), EAc (ekstrak aquades : DHF = 1:2), EAd (ekstrak aquades : DHF = 2:1). Kecuali KN, semua kelompok mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* sebanyak 1×10^6 /ml secara intraperitoneal. Setiap hari diambil darah dari ekor mencit, dibuat apusan tipis dan dilakukan pewarnaan dengan Giemsa 10%, kemudian dilakukan perhitungan diferensial leukosit. Nilai rata-rata persentase diferensial leukosit diolah menggunakan uji ANOVA dan perbedaan hasil persentase pada masing-masing kelompok diketahui dengan menggunakan uji Duncan menggunakan software SPSS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pada kelompok EAa dan EAd mengalami penurunan persentase neutrofil dan meningkatkan persentase limfosit pada hari ke 6 setelah infeksi. Persentase monosit, eosinofil dan basofil tidak mengalami perubahan yang signifikan. Pengobatan ekstrak air bidara laut dan DHF berpotensi sebagai obat antimalaria dengan menurunkan tingkat parasitemia dan meningkatkan persentase limfosit.

Kata kunci: diferensial leukosit, ekstrak air bidara laut, mencit, *Plasmodium berghei*

ABSTRACT

Plasmodium berghei is haemoprotozoan parasite that causes malaria in mice. This study purpose was to investigate the effect of *Strychnos ligustrina* extract on the differential leukocyte number in mice infected with *Plasmodium berghei*. The study used 49 Balb/c mice, divided into 7 groups, normal control (KN), infection control without treatment (KI), infection control treated with combination of dihydroartemisinin 25 mg/kgbw and piperazine phosphate 197 mg/kgbw (K0), EAa (aquades extract:DHf = 1:1), EAc (aquades extract:DHf = 1:2), EAd (aquades extract:DHf = 2:1). Except the KN, all mice in the other groups were infected with *Plasmodium berghei* at a dose of 1×10^6 /ml intraperitoneally. Blood samples were taken from the mice every day and stained with Giemsa 10% then the differential leukocyte count was performed. The average percentage of differential leukocyte count was analyzed using ANOVA and the differences in the percentage results were determined using the Duncan test with SPSS software. The findings demonstrated that EAa and EAd treatments reduced neutrophils and increased lymphocytes on day 6 following infection. The proportion of monocytes, eosinophils, and basophils did not significantly change. The treatments of *Strychnos ligustrina* extract and DHF has potential as an antimalarial candidate by reduced levels of parasitemia and stimulated lymphocyte production.

Keywords: differential leukocyte, mice, *Plasmodium berghei*, *Strychnos ligustrina* extract

1. Pendahuluan

Berikut ini Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi protozoa genus *Plasmodium* yang menyerang sel darah merah. Penyakit ini ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* sp. *Plasmodium falciparum* dilaporkan paling sering menginfeksi masyarakat di Indonesia^{[1][2]}. Berdasarkan data Badan Kesehatan Dunia atau WHO pada tahun 2021, terdapat sekitar 247 juta kasus malaria dengan tingkat kematian sebanyak 619.000 kematian^[3]. Oleh karena itu, upaya pencegahan dan pengendalian malaria hingga saat ini sangat diperlukan. Pencegahan infeksi malaria dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya adalah pengendalian vektor dan pengobatan dengan memberikan obat antimalaria pada pasien yang terinfeksi, pengobatan yang dilakukan saat ini, terutama untuk malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* dengan pemberian kombinasi artemisinin. Resistensi obat antimalaria terdeteksi telah terjadi di beberapa negara termasuk Kamboja, Laos, Myanmar, Thailand, Vietnam, dan Indonesia^[4]. Telah terjadi masalah berulang dikarenakan resistensi beberapa obat antimalaria sebelumnya seperti chloroquine dan sulfadoxine-pyrimethamine. Berdasarkan data *World Health Organization* pada tahun 2021 terdapat 247 juta kasus malaria di dunia nilai tersebut meningkat jika dibandingkan dengan total 245 juta kasus pada tahun 2020. Perkiraan jumlah kematian yang disebabkan malaria mencapai 619.000 jiwa pada tahun 2021 dan 625.000 jiwa pada tahun 2020^[3]. Berdasarkan data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia penyakit malaria ditemukan tersebar di seluruh wilayah kepulauan, terutama di kawasan timur Indonesia seperti Papua, Papua Barat, Maluku, Maluku Utara dan Nusa Tenggara Timur dengan prevalensi 79% kasus malaria pada tahun 2012. Data secara nasional menunjukkan Annual Parasite Incidence sebanyak 195.597 jiwa pada tahun 2017^[5].

Upaya pencarian obat anti-malaria hingga saat ini masih banyak dilakukan, diantaranya dengan melakukan uji coba obat sintesis ataupun obat bahan alami. Studi mengenai uji efikasi obat dilakukan bertahap, mulai dari uji *in vitro* dan dilanjutkan dengan uji *in vivo*. Uji efikasi obat pada tahap *in vivo*, biasanya dilakukan dengan menggunakan hewan model mencit yang diinfeksi dengan *Plasmodium berghei*. Walaupun *Plasmodium berghei* mempunyai inang yang berbeda, namun secara umum memiliki siklus hidup yang sama

dengan *Plasmodium falciparum* yang menginfeksi manusia. Oleh karena itu, mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* banyak digunakan sebagai salah satu hewan model dalam melakukan studi mengenai efikasi obat terhadap malaria^[6]. Bidara laut (*Strychnos ligustrina* Blume) merupakan tumbuhan yang sering dijadikan sumber bahan obat di Indonesia. Salah satu manfaat dari kayu bidara laut adalah sebagai antimalaria, yakni *brucine* dan *strychnine*^[7].

Diferensial leukosit merupakan indikator untuk mengetahui perbedaan jumlah komponen sel darah putih^[8]. Sel darah putih atau leukosit dibedakan dalam beberapa jenis. Berdasarkan granulasi sitoplasma sel darah putih dibedakan menjadi dua yaitu, sel darah putih bergranula basophil, eosinophil, neutropil, dan sel darah putih yang tidak bergranula limfosit, dan monosit^[9]. Leukosit merupakan sel yang berperan sebagai sistem kekebalan tubuh dari serangan agen infeksius seperti bakteri, virus, dan patogen lainnya dengan membentuk antibodi yang saat ini dapat digunakan sebagai indikator status kesehatan hewan^[10]. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak air bidara laut terhadap gambaran diferensial leukosit pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai respon tubuh mencit setelah diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diobati dengan ekstrak air bidara laut terhadap persentase diferensial leukosit.

2. Materi dan Metode

2.1. Persetujuan penelitian dari komisi etik hewan

Prosedur uji *in vivo* ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Hewan LPPM IPB nomor 154-2019 IPB. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan pengujian post test pada grup kontrol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai Maret 2021 di Laboratorium Protozoologi Divisi Parasitologi dan Entomologi Kesehatan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University.

2.2. Pembiakan *Plasmodium berghei* pada mencit donor

Stok darah dari simpanan beku berisi *Plasmodium berghei* di thawing pada suhu 37°C lalu diinjeksikan pada mencit donor dengan volume 0,1–0,2 mL. Setiap hari diambil sedikit darah dari ekor mencit, dibuat apusan tipis di atas gelas objek,

difiksasi dengan metanol dan diwarnai dengan Giemsa 10%. Selanjutnya dilakukan perhitungan persentase parasitemia dari mencit donor. Setelah persentase parasitemia mencapai lebih kurang 20%, dilakukan pembedahan mencit donor yang sebelumnya sudah dilakukan pembiusan menggunakan ketamine 80 mg/kg *intramuscular* (IM), kemudian darah donor mencit dikoleksi secara intrakardial untuk diinfeksi pada mencit uji secara intraperitoneal. Jumlah Plasmodium berghei yang diinfeksi sebanyak 1×10^6 /mL pada setiap ekor mencit.

2.3. Perlakuan hewan coba

Pengambilan sampel darah mencit dilakukan melalui vena Penelitian ini menggunakan 49 ekor mencit Balb/c, yang dibagi menjadi 7 kelompok dan setiap kelompok terdapat 7 ekor mencit. Sebelum perlakuan mencit diaklimatisasi selama tujuh hari kemudian diberi obat cacing, antibiotik dan anti protozoa. Pembagian kelompok perlakuan yaitu kelompok I adalah kontrol normal (KN), kelompok II kontrol infeksi tanpa perlakuan (KI), kelompok III kontrol infeksi yang diberikan perlakuan obat kombinasi dihydroartemisin 25 mg/kgbb dan piperakuin fosfat dosis 197 mg/kgbb (KO) sedangkan kelompok berikutnya adalah kelompok mencit yang diinfeksi dan diberikan perlakuan ekstrak.

2.4. Pembuatan Ekstrak Bidara Laut

Tanaman yang digunakan adalah bidara laut yang terdapat di daerah Nusa Tenggara Barat, bagian yang diekstraksi ialah batang bidara laut. Pengulitan dilakukan secara manual dengan dibuat disk dengan panjang 30 cm dan memiliki diameter 9 cm, selanjutnya kayu tersebut dipotong menjadi bentuk chips lalu dikering-udarkan. Selanjutnya penggiling dilakukan dengan menggunakan *wood hammer mill* kemudian dilakukan penyaringan dengan disaring pada *mesh screen* berukuran 40-60 *mesh*. Metode ekstraksi selanjutnya dilakukan dengan cara maserasi, perendaman dilakukan selama 24 jam, dan ekstraksi diulang sebanyak 5 kali. Cairan hasil maserasi kemudian diuapkan dengan *vacum evaporator* pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kering air. Masing-masing ekstrak diberikan dalam empat dosis yang berbeda yakni : EAa (ekstrak air bidara laut), EAb (ekstrak air bidara laut: *dihydroartemisinin piperakuine fosfat* (DHF= 1:1), EAc (ekstrak air bidara laut: DHF = 1:2), EAd (ekstrak air bidara laut: DHF = 2:1), kecuali

KN semua kelompok mencit diinfeksi Plasmodium berghei sebanyak 1×10^6 /ml secara intraperitoneal. Ekstrak dan obat diberikan secara per-oral sekali sehari selama empat hari, dimulai pada hari yang sama 2 jam setelah infeksi Plasmodium berghei. Adapun pengamatan parameter lainnya dilakukan hingga 14 hari setelah diinfeksi.

2.5. Pengambilan darah dan pembuatan preparat ulas darah

Pengambilan darah mencit dilakukan melalui vena coccigea yang berada bagian ujung ekor mencit. Pembuatan preparat ulas darah dilakukan dengan menggunakan 1 tetes darah mencit yang ditetaskan ke atas gelas objek yang sebelumnya telah diberikan tanda sesuai kelompok perlakuan, kemudian dengan gelas objek lain membentuk sudut 45° darah diulas. Preparat ulas darah difiksasi dengan metanol 99% selama 3-5 menit, kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan Giemsa 10 % selama 30 menit. Preparat ulas darah yang telah diwarnai kemudian dibilas dengan air mengalir dan dibiarkan hingga kering pada suhu ruang.

2.6. Perhitungan diferensial leukosit

Perhitungan diferensial leukosit dilakukan dengan menggunakan bantuan mikroskop perbesaran 1000x dengan ditetaskan minyak emersi di atas preparat untuk memperjelas pengamatan. Pemeriksaan preparat dimulai dari awal pusat ulasan, dilanjutkan sejajar dengan tepi ulasan, ke bawah zig-zag hingga total leukosit mencapai 100. Perhitungan dilakukan setiap 100 leukosit dalam satu preparat dan dikelompokkan ke dalam masing-masing jenis leukosit, yaitu neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil dan basofil. Persentase setiap jenis leukosit dihitung dengan menggunakan rumus yaitu^[8]:

$$\text{Persentase Leukosit} = \frac{\sum \text{Jenis Leukosit}}{100} \times 100\%$$

2.7. Analisis data

Nilai rata-rata persentase diferensial leukosit diolah dengan menggunakan uji *Analysis of variance* (ANOVA) dan perbedaan hasil persentase pada masing-masing kelompok perlakuan diketahui dengan menggunakan uji *Duncan multiple range test* (DMRT) menggunakan software *Statistical product and service solutions* (SPSS).

3. Hasil

3.1. Persentase neutrofil

Persentase rata-rata neutrofil pada **Tabel 1** menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata pada hari ke 6 dan 8 antara kelompok perlakuan EAb, EAc, EAd dengan kelompok kontrol K1 ($p < 0,05$). Berdasarkan Tabel 1, kelompok kontrol K1 berbeda nyata dengan kelompok perlakuan EAa, EAb dan EAc pada hari ke 10 pengamatan ($p < 0,05$).

3.2. Persentase limfosit

Berdasarkan hasil analisis statistika pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa persentase limfosit kelompok perlakuan EAa, EAb, EAc dan EAd pada hari ke 8 pengamatan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol K1. Berdasarkan tabel 2 pada hari ke 10 hingga akhir pengamatan terdapat perbedaan nyata antar kelompok perlakuan EAa, EAb, EAc dan EAd dengan kelompok kontrol

infeksi K1.

3.3. Persentase monosit

Persentase monosit hari ke 10, 12 dan 14 (**Tabel 3**) Kelompok k1 berbeda nyata lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan semua kelompok perlakuan EAa, EAb, EAc, EAd dan kontrol KN, K0.

3.4. Persentase eosinofil

Persentase rata rata eosinofil pada **Tabel 4** tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p \geq 0,05$) antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

3.5. Tingkat parasitemia

Berdasarkan hasil analisis statika terdapat hubungan antara persentase leukosit dan peningkatan parasitemia. Peningkatan persentase sel neutrofil sejalan dengan peningkatan parasitemia pada hari dan kelompok yang sama.

Tabel 1. Rata-rata persentase neutrofil mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diobati ekstrak air bidara laut

| Perlakuan | Pengamatan hari ke- | | | | |
|-----------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| EAa | 64,50±3,20 ^{abc} | 67,33±4,92 ^{bc} | 71,67±5,18 ^b | 72,00±1,63 ^b | 72,33±5,31 ^b |
| EAb | 74,00±1,22 ^c | 68,67±6,12 ^{bc} | 77,00±4,32 ^b | 74,33±1,69 ^b | 71,67±4,49 ^b |
| EAc | 74,75±7,59 ^c | 67,33±3,68 ^{bc} | 72,00±1,63 ^b | 70,00±2,94 ^b | 71,33±6,59 ^b |
| EAd | 71,00±9,43 ^c | 72,33±2,62 ^c | 66,33±1,24 ^{ab} | 76,33±7,03 ^b | 74,67±4,49 ^b |
| KN | 60,25±2,48 ^{ab} | 73,00±2,94 ^c | 74,33±11,44 ^b | 68,33±7,54 ^b | 65,33±4,78 ^b |
| K1 | 56,50±6,34 ^a | 57,00±2,94 ^a | 54,67±8,17 ^a | 45,00±10,80 ^a | 50,67±7,71 ^a |
| K0 | 70,00±2,54 ^{bc} | 62,00±3,26 ^{ab} | 72,67±0,94 ^b | 74,00±3,26 ^b | 71,33±3,29 ^b |

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata pada taraf $p < 0,05$; EAa (ekstrak aquades); EAb (ekstrak aquades : DHF = 1:1); EAc (ekstrak aquades : DHF = 1:2); EAd (ekstrak aquades : DHF = 2:1); KN (kontrol mencit normal tanpa infeksi dan perlakuan); K1 (kontrol mencit infeksi tanpa perlakuan); K0 (dihydroartemisinin : piperazine phosphate = 1:16).

Tabel 2. Rata-rata persentase limfosit mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diobati ekstrak air bidara laut

| Perlakuan | Pengamatan hari ke- (setelah infeksi) | | | | |
|-----------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| EAa | 35,25±3,0 ^{bc} | 32,00±5,35 ^{abc} | 28,00±5,65 ^a | 28,00±1,63 ^a | 27,33±5,73 ^a |
| EAb | 25,75±0,82 ^{ab} | 31,00±5,71 ^{ab} | 23,00±4,30 ^a | 25,33±2,05 ^a | 28,33±4,49 ^a |
| EAc | 24,75±7,22 ^a | 31,33±3,85 ^{ab} | 27,67±2,05 ^a | 29,67±3,09 ^a | 28,00±5,88 ^a |
| EAd | 28,75±9,47 ^{ab} | 26,33±3,09 ^a | 33,33±1,24 ^{ab} | 23,33±6,59 ^a | 24,00±3,26 ^a |
| KN | 39,00±2,12 ^c | 27,00±2,94 ^a | 25,67±11,44 ^a | 30,67±7,58 ^a | 33,67±4,49 ^a |
| K1 | 42,50±6,34 ^c | 40,67±2,49 ^c | 42,67±7,71 ^b | 51,00±11,43 ^b | 44,33±6,18 ^b |
| K0 | 29,25±2,58 ^{ab} | 36,33±2,49 ^{bc} | 26,67±1,24 ^a | 25,33±3,29 ^a | 28,00±2,94 ^a |

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata pada taraf $p < 0,05$; EAa (ekstrak aquades); EAb (ekstrak aquades : DHF = 1:1); EAc (ekstrak aquades : DHF = 1:2); EAd (ekstrak aquades : DHF = 2:1); KN (kontrol mencit normal tanpa infeksi dan perlakuan); K1 (kontrol mencit infeksi tanpa perlakuan); K0 (dihydroartemisinin : piperazine phosphate = 1:16).

Tabel 3. Rata-rata persentase monosit mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diobati ekstrak air bidara laut

| Perlakuan | Pengamatan hari ke- | | | | |
|-----------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| EAa | 0,25±0,43 ^{ab} | 0,67±0,47 ^{ab} | 0,33±0,47 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,33±0,47 ^a |
| EAb | 0,25±0,43 ^{ab} | 1,67±0,47 ^b | 0,00±0,00 ^a | 0,33±0,47 ^a | 0,00±0,00 ^a |
| EAc | 0,25±0,43 ^{ab} | 1,33±0,94 ^{ab} | 0,33±0,47 ^a | 0,33±0,47 ^a | 0,67±0,94 ^a |
| EAd | 0,00±0,00 ^a | 1,33±0,94 ^{ab} | 0,33±0,47 ^a | 0,33±0,47 ^a | 1,33±0,47 ^a |
| KN | 0,50±0,86 ^{ab} | 0,00±0,94 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,67±0,94 ^a | 0,67±0,94 ^a |
| K1 | 1,00±0,00 ^b | 2,00±0,00 ^b | 2,67±0,47 ^b | 3,67±0,47 ^b | 4,67±1,69 ^b |
| K0 | 0,75±0,43 ^{ab} | 1,33±0,47 ^{ab} | 0,67±0,47 ^a | 0,67±0,47 ^a | 0,67±0,47 ^a |

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata pada taraf $p < 0,05$; EAa (ekstrak aquades); EAb (ekstrak aquades : DHF = 1:1); EAc (ekstrak aquades : DHF = 1:2); EAd (ekstrak aquades : DHF = 2:1); KN (kontrol mencit normal tanpa infeksi dan perlakuan); K1 (kontrol mencit infeksi tanpa perlakuan); K0 (dihydroartemisinin: piperazine phosphate = 1:16).

Tabel 4. Rata-rata persentase eosinofil mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diobati ekstrak air bidara laut

| Perlakuan | Pengamatan hari ke- | | | | |
|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| EAa | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a |
| EAb | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a |
| EAc | 0,25±0,43 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a |
| EAd | 0,25±0,43 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a |
| KN | 0,25±0,43 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,33±0,47 ^a | 0,33±0,47 ^a |
| K1 | 0,00±0,00 ^a | 0,33±0,47 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,33±0,47 ^a | 0,33±0,47 ^a |
| K0 | 0,00±0,00 ^a | 0,33±0,47 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a | 0,00±0,00 ^a |

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata pada taraf $p < 0,05$; EAa (ekstrak aquades); EAb (ekstrak aquades : DHF = 1:1); EAc (ekstrak aquades : DHF = 1:2); EAd (ekstrak aquades : DHF = 2:1); KN (kontrol mencit normal tanpa infeksi dan perlakuan); K1 (kontrol mencit infeksi tanpa perlakuan); K0 (dihydroartemisinin: piperazine phosphate = 1:16).

4. Pembahasan

4.1. Neutrofil

Persentase rata rata neutrofil pada hari ke 6 di kelompok EAa, KN dan K1 berada di atas kisaran normal yaitu sebesar 36,12% (**Tabel 1**). Persentase neutrofil normal pada mencit adalah 20-30%^[11]. Tingginya jumlah sel neutrofil pada awal infeksi disebabkan neutrofil berperan penting dalam respon inflamasi akut, hal ini sejalan dengan meningkatnya persentase parasitemia kelompok EAa pada hari ke 6 sebesar 11,08% (**Tabel 5**), sehingga terjadi peningkatan jumlah neutrofil dalam darah setelah infeksi. Peningkatan jumlah tersebut diperantarai oleh mediator inflamasi seperti histamin, bradykinin, serotonin dan prostaglandin. Neutrofil berperan melawan infeksi organisme patogen dan memiliki sifat fagositik terhadap zat asing^[4].

Persentase neutrofil tertinggi terdapat pada kelompok EAa sebesar 35,25% pada hari ke-6 (**Tabel 1**). Berdasarkan hasil analisis statistik pada

tabel 1 menunjukkan bahwa persentase neutrofil EAa, EAb, EAc, EAd, KN dan K0 pada akhir pengamatan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan K1 yang memiliki persentase neutrofil diatas batas normal. Hasil tersebut sejalan dengan tingginya tingkat parasitemia pada kelompok K1 (**Tabel 5**). Peningkatan persentase parasitemia pada K1 mengakibatkan peningkatan neutrofil sebagai bagian dari pertahanan tubuh terhadap zat asing^[12]^[13]^[14].

Hasil persentase neutrofil (**Tabel 5**) pada hari ke-10 sampai hari ke-14 kelompok perlakuan EAa, EAb, Eac dan Ead berada dalam kisaran normal. Penurunan persentase neutrofil pada kelompok perlakuan (EAa, EAb, Eac dan EAd) diduga adanya aktivitas senyawa *brucine* yang terkandung dalam ekstrak air bidara laut. Senyawa *brucine* tersebut berperan sebagai antiplasmodial, antiinflamasi dan antipiretik, dalam hal ini menyebabkan penurunan persentase parasitemia yang sejalan dengan penurunan neutrofil^[15]^[16].

Tabel 5. Rata-rata persentase parasitemia perhari pengamatan

| Perlakuan | Pengamatan hari ke- (setelah infeksi) | | | | |
|-----------|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 6 | 8 | 10 | 12 | 14 |
| K1 | 20,10±3,01 ^c | 16,39±1,87 ^d | 17,52± 10,23 ^b | 22,03±7,32 ^{bc} | 31,92±9,80 ^b |
| K0 | 4,51± 2,89 ^{ab} | 0,31± 0,49 ^a | 0,00 ^a | 0,00 ^a | 0,00 ^a |
| EAA | 11,08±5,95 ^b | 10,88±4,54 ^c | 17,99±7,69 ^b | 15,49±7,19 ^b | 28,44±6,62 ^b |
| EAb | 4,85± 2,47 ^{ab} | 4,35± 3,88 ^b | 7,12± 5,55 ^a | 5,83± 4,23 ^a | 3,66±1,68 ^a |
| EAc | 4,26± 3,02 ^a | 2,13± 0,78 ^{ab} | 0,37± 0,28 ^a | 0,24± 0,40 ^a | 0,04±0,05 ^a |
| EAd | 10,09±2,94 ^{ab} | 2,70± 1,01 ^{ab} | 4,10±1,92 ^a | 4,84± 2,66 ^a | 3,58± 1,67 ^a |

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata pada taraf $p < 0,05$; EAA (ekstrak aquades); EAb (ekstrak aquades : DHF = 1:1); EAc (ekstrak aquades : DHF = 1:2); EAd (ekstrak aquades : DHF = 2:1); K1 (kontrol mencit infeksi tanpa perlakuan); K0 (dihydroartemisinin: piperazine phosphate = 1:16).

4.2. Limfosit

Persentase limfosit (**Tabel 2**) kelompok K1 pada hari ke-6 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok K0, persentase limfosit kelompok K1 berada di bawah kisaran normal. Persentase limfosit perlakuan K1 berada di bawah *range* normal pada hari ke-8 hingga akhir pengamatan. Pada hari ke-12 hingga akhir pengamatan kelompok K1 berbeda nyata lebih rendah dibandingkan dengan seluruh kelompok lainnya ($p < 0,05$). Hal ini disebabkan tingginya tingkat parasitemia kelompok K1 sehingga terdapat perbedaan tingkat parasitemia antar kelompok perlakuan dan kelompok infeksi (**Tabel 5**). Nilai normal persentase limfosit berkisar 60-95%^[17].

Perbedaan persentase limfosit juga dipengaruhi oleh keberadaan senyawa *flavonoid* yang ditemukan dalam ekstrak air bidara laut. Peningkatan persentase limfosit disebabkan oleh senyawa flavonoid yang berperan sebagai induktor proliferasi sel limfosit T (TH1) dengan cara meningkatkan sekresi IL-12 oleh bantuan *Antigen Presenting Cells* (APCs) dan sebagai imunomodulator yang merangsang pembentukan sitokin pada sel helper T untuk mengatur sistem imun^{[18][19][20][21]}.

4.3. Monosit

Persentase sel monosit kelompok EAd pada hari ke-6 menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok K1 (**Tabel 3**). Terdapat perbedaan nyata pada kelompok EAb pada pengamatan hari ke-8 ($p < 0,05$) dengan kelompok KN, persentase monosit kelompok EAb lebih tinggi dibanding kelompok KN, hal ini disebabkan karena senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak air bidara laut dapat menyebabkan peningkatan persentase monosit. Senyawa flavonoid yang terkandung

dalam ekstrak air bidara laut dapat meningkatkan reaksi inang dengan mengaktifasi pembentukan monosit^[22]. Persentase sel monosit pada hari ke 10 hingga akhir pengamatan kelompok perlakuan EAA, EAb, EAc, EAd, KN dan K0 memiliki persentase monosit yang berbeda nyata lebih rendah dibandingkan kelompok K1 ($p < 0,05$). Kelompok K1 pada hari ke-14 mengalami peningkatan persentase monosit melampaui batas normal. Tingginya persentase monosit berbanding lurus dengan tingkat parasitemia *Plasmodium berghei*^[23]. Monosit merupakan sel yang memfagosit partikel asing dalam darah dan merespon antigen. Jumlah normal sel monosit pada mencit adalah 0-4%^[24].

4.4. Eosinofil

Persentase eosinofil pada semua perlakuan tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$) (**Tabel 4**). Persentase total eosinofil pada semua perlakuan masih dalam jumlah yang normal, persentase normal eosinofil yaitu 0-6%^[17]. Eosinofil merupakan leukosit yang mengambil peran sebagai sel yang dapat mengontrol serta menurunkan resiko timbulnya hipersensitivitas. Persentase eosinofil yang tinggi dapat dijadikan sebagai tanda terbentuknya suatu alergi karena eosinofil berperan sebagai sel detoksifikasi yang diinduksi oleh parasit atau bakteri^[25]. Berdasarkan penelitian serupa fraksi etil asetat cengkeh varietas afo dengan reaksi sel leukosit mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei*, persentase eosinofil berada dalam batas normal tidak terdapat variasi yang nyata antar kelompok perlakuan^[26].

4.5. Basofil

Hasil pengamatan menunjukkan tidak ada sel basofil. Berdasarkan hasil tersebut, persentase basofil pada semua kelompok perlakuan sama dengan KN,

K1 dan K0. Basofil bereaksi terhadap reaksi alergi dengan memproduksi histamin dan jumlah normal basofil dalam tubuh mencit adalah 0-7%^[27].

5. Kesimpulan

Pemberian ekstrak air bidara laut berpotensi sebagai obat herbal antimalaria dengan cara menurunkan persentase neutrofil, meningkatkan persentase limfosit. Tidak terdapat efek yang nyata untuk persentase monosit, eosinofil dan basofil. Perlu dikaji lebih lanjut untuk mengetahui efek samping pemberian ekstrak air bidara laut dosis tertentu sebagai obat herbal antimalaria terhadap organ ginjal atau sistem urinaria.

Ucapan Terima kasih

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia dengan IPB Higher Education Research Grant Scheme 2021 (kontrak No. 1/EI/KP.PT. PTNBH/2021)

Daftar Rujukan

- [1] Elyzaar, J.I., Hay, S., & Baird, J. 2011. Malaria distribution, prevalence, drug resistance and control in Indonesia. *Adv Parasitol.* 74:41–175.
- [2] Sukmawati, & Abd Kadir, M. 2020. Pengaruh ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L) dan daun brotowali (*Tinospora crispa* L) pada mencit yang terinfeksi plasmodium serta identifikasi senyawa aktifnya. *Java Heal. Journal.* 7(1):1–97.
- [3] World Health Organization. 2021. Malaria. World Heal. Organ.
- [4] Maslachah, L., & Sugihartuti, R. 2017. Increase in neutrophil count after repeated exposure of Plasmodium berghei-infected mice to artemisinin. *Universa Med.* 36(1):49.
- [5] KEMENKES. 2019. Pedoman nasional pelayanan kedokteran tata laksana malaria. [diunduh 2023 Okt 25]. Tersedia pada: <https://www.bing.com/ck/a?!&cp=0af5ec20466f783ajmltdHM9MTY5ODEwNTYwMCZpZ3VpZD0zMDY5MmJmMS1jMDc1LTY4ZmYtMDk4Ny0zYTUViYzEyMzY5NmYmaW5zaWQ9NTE4OA&ptn=3&hsh=3&fclid=30692bf1-c075-68ff-0987-3a5ec123696f&psq=kemenkes+malaria+&u=a1aHR0cHM6Ly95YW5rZXMu2Vta2VzLmdv>
- [6] Lallo, S., Ariani, F., & Syamsu, R. 2017. ANTI-Plasmodium Berghei ekstrak daun dan kayu Lunasia amara Blanco. *Maj. Farm. dan Farmakol.* 21(3):55–58.
- [7] Setiawan, O., & Rostiwati, T. 2014. Bidara laut (*Strychnos ligustrina* Blume. syn. *S. lucida* R. Br): HHBK Potensial di NTB dan Bali. Bogor: Forda press.
- [8] Salim, M.A., Nur, I., & Idris, M. 2016. Pengaruh peningkatan salinitas secara bertahap terhadap diferensial leukosit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *J. Media Akuatika.* 4:152–158.
- [9] Pratiwi W. 2016. Perendaman ekstrak spirulina plantesis terhadap Ig-M, jaringan limpa dan diferensial leukosit ikan mas setelah diinfeksi aeromonas. *J. Biosains Pascasarj.* 18(3):218–230. doi:10.20473/jbp.v18i3.2016.218-229.
- [10] Yuniwanti, E.Y.W. 2015. Profil darah ayam broiler setelah vaksinasi AI dan pemberian berbagai kadar VCO. *Bul. Anat. dan Fisiol.* 23(1):38–46.
- [11] Provencher, B.A.E.. 2010. Hematology of laboratory animals." schalm's veterinary hematology. Blackwell publishing ltd, Iowa.
- [12] Guyton, A., & Hall, J. 2007. Buku ajar fisiologi kedokteran. Ed ke-11. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC.
- [13] Ilmayati, M.M., Syawal, H., & Adelina. 2015. Differentiation of leukocytes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with feed consist of noni fruit flour (*Morinda citrifolia* L). Riau University.
- [14] Subryana, N., Wardiyanto, W., & Susanti, O. 2020. Penggunaan ekstrak daun kelor *Moringa oleifera* (Lam, 1785) untuk meningkatkan imunitas non spesifik benih ikan nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *J. Aquac. Fish Heal.* 9(3):194–203.
- [15] Cahyaningsih, U., Sa'diah, S., Syafii, W., Sari, R.K., Maring, A.J., & Nugraha, A.B. 2022. Antimalarial efficacy of aqueous extract of *Strychnos ligustrina* and its combination with dihydroartemisinin and piperazine phosphate (dhp) against *Plasmodium berghei* infection. *Korean J. Parasitol.* 60(5):339–344.
- [16] Yin, W., Wang, T.S., Yin, F.Z., & Cai, B.C. 2003. Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine and brucine N-oxide extracted from seeds of *Strychnos nux-vomica*. *J. Ethnopharmacol.* 88(2–3):205–214.
- [17] Marlinda, H., Linirin, Widiastuti, E., & Susanto, G.N.S. 2017. Pengaruh Pemberian senyawa taurin dan ekstrak daun dewa *Gynura segetum* (Lour) Merr terhadap eritrosit dan leukosit mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi benzo[α]Piren. *J. Natur Indones.* 17(1):13. doi:10.31258/jnat.17.1.13-21.
- [18] Carmelita A. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) secara oral pada mencit balb-c terhadap pencegahan penurunan diameter germinal center pada kelenjar getah bening serta kadar igm serum. *J. Biosains Pascasarj.* 18(1).
- [19] Nijveldt, R., Nood, E., Hoorn, D., Boelens, P., Norren, K., & Leeuwen, P. 2001. Flavonoid: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74.
- [20] Rauf, A., Haeria, & Anas, D. 2016. Efek imunomodulator fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. MERR) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit jantan (*Mus musculus*). *J.urnal Farm. Univ. Islam Negeri Alauddin.* 4(1):9–15.

- [21] **Yogiraj, V., Goyal, P., Chauhan, C., Goyal, A., & Viass, B.** 2014. Carica papaya Linn: Ann Overview. *J. Int. Herb. Med.* 2(5):1–8.
- [22] **Fatimatuzzahroh, Firani, K., & Kristanto, H.** 2015. Efektivitas ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap jumlah pembuluh darah kapiler pada proses penyembuhan luka insisi fase proliferasi. *Maj. Kesehat. Fak. Kedokt. Univ. Brawijaya* 2(2):92–98.
- [23] **Taher D.** 2019. Pengujian antimalaria menggunakan tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* [L.] Merr & Perry) (studi in vitro, in vivo, toksisitas, dan screening senyawa aktif). IPB University.
- [24] **Hartika, R., Mustahal, M., Noerkhaerin, & Putra, A.** 2014. Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dosis prebiotik yang berbeda dalam pakan. *J. Perikan. dan Kelaut.* 4(4):259–267.
- [25] **Aiba, S., Manalu, W., Suprayogi, A. & Maheshwari, H.** 2016. Gambaran nilai hematologi tikus putih betina dara pada pemberian tombong kelapa. 4(2):74–81.
- [26] **Gusdinar, R.** 2019. diferensial leukosit mencit setelah diinfeksi plasmodium berghei dan diberi fraksi etil asetat cengkeh varietas afo. IPB University.
- [27] **Khotimah, C., & Pramytha, E.** 2015. Pengaruh pemberian propolis terhadap jumlah dan hitung jenis leukosit darah mencit (*Mus musculus*) Jantan. *J. Basic Med. Vet.* 4(1):28–34.