

Efek Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri*) pada Mencit Swiss Webster yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*

Effects of Mixed Extract of Alstonia scholaris Bark and Phyllanthus niruri in Swiss Webster Mice Infected by Plasmodium berghei

Putri Reno Intan^{1*}, M. Wien Winarno¹, Nita Prihartini²

¹Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

²Pusat Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya dan Pelayanan Kesehatan

*E - mail: putrirenoontan@yahoo.com

Diterima: 22 Mei 2016

Direvisi: 12 Juli 2016

Disetujui: 18 Agustus 2016

Abstrak

Kulit batang pulai dan meniran merupakan salah satu tanaman obat yang telah diteliti kemungkinannya sebagai obat antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antimalaria dari campuran ekstrak kulit batang pulai dan ekstrak meniran sebagai tanaman obat antimalaria. Uji toksisitas akut menggunakan tikus wistar jantan dan betina masing-masing 25 ekor dengan 4 dosis perlakuan. Uji antimalaria menggunakan 72 ekor mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok dosis yaitu kelompok CMC, DHP, dosis campuran 1330; 443,34; 147,78 mg/kg bb dan dosis pulai 1330 mg/kgbb. Semua mencit diinfeksi dengan plasmodium berghei (D0) kemudian diberi ekstrak peroral selama 14 hari. Ulas darah dengan perwarnaan giemsa diambil pada hari D1-D7 dan D14 untuk dianalisa persen parasitemia, limfosit, monosit dan granulosit. Hasil uji toksisitas akut campuran ekstrak didapatkan nilai LD50 > dari 14285 mg/kg bb (masuk dalam golongan bahan tidak beracun). Dosis yang paling efektif pada uji antimalaria bila dilihat dari persentase parasit dan diferensial leukosit adalah dosis 147,78 mg/kgbb. Campuran ekstrak kulit batang pulai dan meniran dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif pada pengobatan malaria. Untuk itu diperlukan penelitian lebih lanjut dengan mengisolasi zat aktif yang berkhasiat sebagai antimalaria dan karakterisasinya sebelum direkomendasikan sebagai obat antimalaria.

Kata kunci: Antimalaria; Pulai; Meniran; *Plasmodium berghei*; Swiss webster.

Abstract

Pulai and meniran is one of the medicinal plants that have been studied as a possible antimalarial drugs. This study aims to evaluate the antimalarial activity of a mixture of pulai bark and meniran extracts as antimalarial drugs. Acute toxicity tests was performed using male and female Wistar rats each 25 animals with four doses of treatment. Antimalarial test using 72 mice were divided into six dose groups: group CMC, DHP, dose mixture of 1330; 443.34; 147.78 mg/kg bw and doses of pulai groups 1330 mg /kg bw. All the mice were infected with *Plasmodium berghei* (D0) and given the extracts orally for 14 days. Giemsa blood staining taken on days D1-D7 and D14 were analyzed for percentage of parasitaemia, lymphocytes, monocytes and granulocytes. Results of acute toxicity test (LD50) values obtained from extract mixture was more than 14285 mg/kg bw, are classified as non-toxic materials. The most effective dose of the test antimalarial obtained from the percentage of parasites reducing and leukocytes differential, was 147.78 mg/kg. A mixture of pulai bark and meniran extract can be considered to be used as an alternative drug in the treatment of malaria. Further research is needed to isolate and characterized the active ingredients which have the effect of antimalarial to be recommended as an antimalarial drug in the future.

Keywords: Antimalarial; Pulai; Meniran; *Plasmodium berghei*, Swiss Webster.

PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit infeksi parasit pada manusia dan menjadi masalah kesehatan masyarakat, terutama di daerah endemis malaria karena angka kesakitan dan kematiannya masih tinggi. Insiden malaria pada penduduk Indonesia tahun 2013 adalah 1,9% menurun dibanding tahun 2007 (2,9%), tetapi di Papua Barat mengalami peningkatan tajam jumlah penderita malaria. Dari 33 provinsi di Indonesia, 15 provinsi mempunyai prevalensi malaria diatas angka nasional yaitu di atas 6%, dengan sebagian besar berada di bagian timur Indonesia.¹

Pengendalian malaria selalu mengalami perkembangan, salah satunya dalam hal pengobatan. Telah terjadi resistensi parasit terhadap obat-obat malaria yang selama ini digunakan (kloroquin) sehingga penelitian menggunakan obat tradisional perlu dikembangkan.

Tanaman pulai (*Alstonia scholaris*) termasuk dalam famili Apocynaceae dari suku kamboja-kambojaan biasa digunakan sebagai obat berbagai penyakit seperti mengobati demam, merangsang nafsu makan, malaria, dan pembesaran limpa. Kulit batang pulai mengandung saponin, flavanoid dan polifenol.^{2,3}

Meniran (*Phyllanthus niruri* L) adalah tanaman yang mempunyai aktivitas imunomodulator, yang membantu tubuh untuk mengoptimalkan sistem imun yang berperan dalam pertahanan tubuh.⁴

Pada penelitian ini akan diuji campuran kulit batang pulai yang berperan sebagai antimalaria dengan meniran sebagai imunomodulator dengan harapan dapat meningkatkan status kesehatan mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei*.

METODE

Desain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2015.

Bahan dan cara kerja

Bahan uji kulit batang pulai dan meniran didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor Jawa Barat. Simplisia kulit batang pulai dan meniran diekstrak dengan cara maserasi menggunakan pelarut alkohol 70%.

Campuran dibuat dengan cara mencampurkan ekstrak kulit batang pulai dan meniran dengan perbandingan 1:1. Pembuatan suspensi campuran ekstrak ini ditambahkan CMC 0,5% untuk mempercepat kelarutan.

Sebagai kontrol positif (pembanding) digunakan obat antimalaria Dihydroartemisinin Piperakuin (DHP)

Hewan uji

Hewan uji berasal dari Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Hewan diberi pakan standar dalam bentuk pelet dan minum secara *ad-libitum*.

Uji toksisitas akut

Prinsip pengujian toksisitas akut adalah bahwa pemberian dosis tunggal suatu bahan uji secara oral dapat memperlihatkan efek toksik. Sebanyak 50 ekor tikus terdiri dari 25 ekor jantan dan 25 ekor betina dibagi dalam 5 kelompok dosis. Setiap kelompok dosis terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina.

Kelompok I diberi campuran ekstrak uji dengan dosis 3719 mg/kg bb; kelompok II: dosis 5205 mg/kg bb; kelompok III: dosis 7287 mg/kg bb; kelompok IV: dosis 10203 mg/kg bb dan kelompok V: dosis: 14285 g/kgBB.

Observasi dilakukan selama 6 jam setelah pemberian bahan uji. Hewan diamati terhadap adanya gejala toksik dan kematian. Pengamatan dilakukan sampai 24 jam dan dilanjutkan sampai 14 hari, dilakukan penimbangan berat badan setiap hari. Pada akhir penelitian, dilakukan otopsi untuk pengamatan makroskopis.²

Uji antimalaria

Parasit yang digunakan adalah *Plasmodium berghei* galur ANKA yang didapatkan dari Laboratorium Parasit Badan Litbangkes Kemenkes RI. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Swiss webster*) jantan, berumur 8-10 minggu dengan berat 25-30 gram. Sebelum digunakan untuk penelitian, mencit diaklimatisasi selama lebih kurang 7 hari. Proses inokulasi *Plasmodium berghei* dilakukan dengan cara diinfeksi secara intraperitoneal (ip) sebanyak 10^7 parasit dalam 0,2 ml darah per ekor mencit secara ip pada 5 ekor mencit donor. Setelah 4-5 hari, mencit yang diinfeksi diperiksa darah perifer sampai didapat angka parasitemia lebih dari 30% kemudian dilakukan pengambilan darah dari jantung dengan tabung EDTA dan diencerkan dengan PBS (Buffer Salin Phospat) lalu diinfeksi ke mencit secara ip 0,1 ml/ekor.

Pada uji antimalaria, mencit dikelompokkan secara acak kemudian dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok CMC (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi CMC), kelompok DHP (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi DHP dosis 195 mg/kg BB selama 3 hari), kelompok DBC (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi campuran dosis 1330 mg/kgbb), kelompok DSC (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi campuran dosis 443,34 mg/kgbb), kelompok DKC mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi campuran dosis 147,78 mg/kg bb dan kelompok DBP (mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diterapi ekstrak pulai dosis 1330 mg/kgbb). Pada setiap kelompok perlakuan terdiri dari 12 ekor mencit. Campuran ekstrak diberikan peroral menggunakan sonde lambung sekali sehari selama 14 hari. Pengambilan darah dari ekor dilakukan pada hari ke-1-7 dan hari ke-14 untuk melihat level parasitemianya. Setelah 14 hari perlakuan semua mencit dieuthanasia.²

Perhitungan parasitemia dan diferensiasi leukosit

Pemeriksaan parasitemia dilakukan pada hari ke D1-D7 dan D-14 dengan membuat apusan tipis dengan pewarnaan Giemsa 10% dan pemeriksaan mikroskop pembesaran 100 kali. Sel darah merah dihitung hingga mencapai ± 1000 eritrosit atau 10 lapang pandang.

$$\text{Angka parasitemia} = \frac{\sum \text{eritrosit terinfeksi parasit}}{\sum \text{eritrosit total}} \times 100\%$$

Penghitungan diferensiasi leukosit dilakukan pada hari ke-1, 5 dan 14 dengan ketentuan setiap 100 leukosit yang ditemukan dihitung dan dikelompokkan ke dalam masing-masing jenis leukosit, yaitu granulosit, limfosit, dan monosit. Nilai relatif setiap jenis leukosit yang ditemukan dinyatakan dalam satuan persen.⁶

Analisis data terhadap persen parasitemia, limfosit, monosit dan granulosit dilakukan dengan uji anova satu arah yang dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

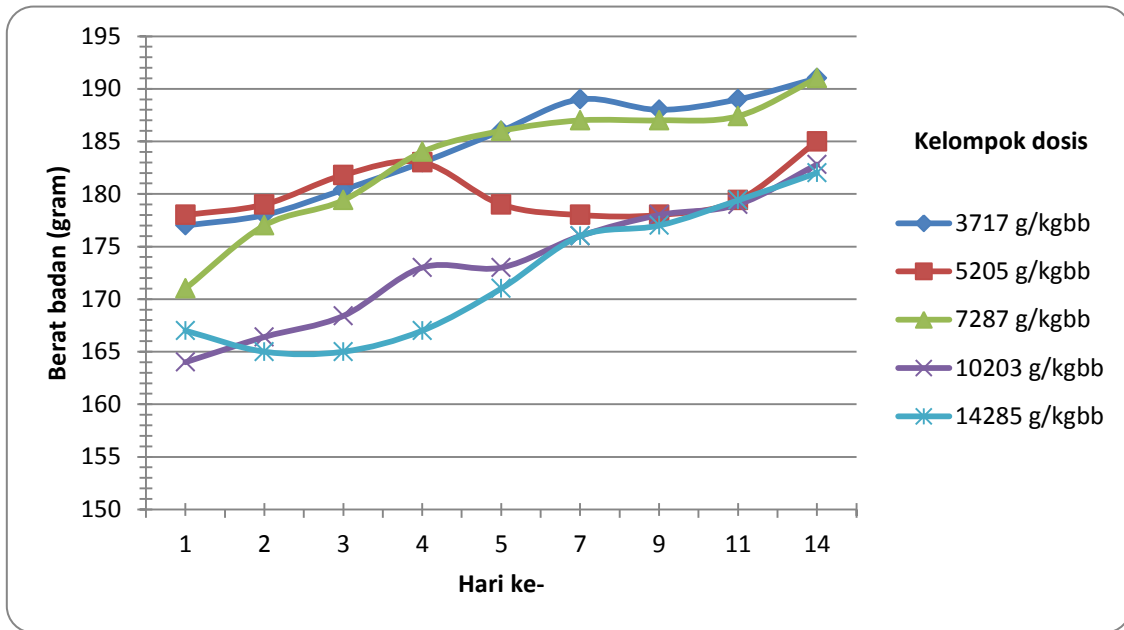
Uji toksisitas akut

Pengaruh pemberian bahan uji dosis tunggal (dosis sekali pemberian) terhadap bobot badan tikus jantan dan betina diamati melalui penimbangan hewan setiap hari selama 14 hari pengamatan. Hasil penimbangan bobot badan rata-rata dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

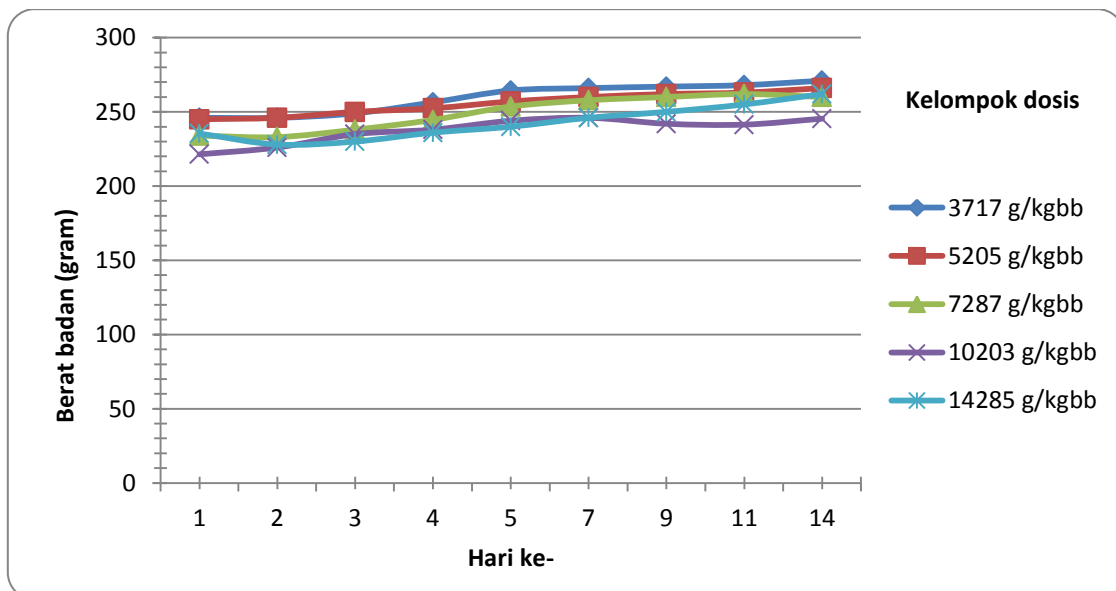
Berdasarkan hasil penimbangan berat badan tikus pada uji toksisitas akut yang sudah dilakukan, dapat diamati bahwa baik pada tikus betina maupun jantan terdapat kenaikan rata-rata berat badan pada semua kelompok dosis percobaan. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian herbal tidak memengaruhi nafsu makan hewan coba. Pada tikus jantan terjadi pola kenaikan berat badan yang cukup konstan, sedangkan

pada tikus betina tampak pola kenaikan berat badan yang berfluktuasi naik dan turun kemudian naik lagi. Fluktuasi berat badan yang terjadi pada tikus betina disebabkan oleh faktor hormonal yaitu saat tikus betina mengalami siklus estrus sehingga memengaruhi berat badan. Berdasarkan penelitian LD₅₀ oral, campuran ekstrak kulit

batang pulai dan meniran pada dosis 14285 mg/kg bb tidak menunjukkan terjadinya kematian pada hewan coba sehingga LD₅₀ untuk campuran ekstrak kulit batang pulai dan meniran adalah lebih dari 14285 mg/kg bb. Dengan demikian, campuran ini digolongkan sebagai bahan tidak beracun.⁵



Gambar 1. Rerata perubahan berat badan tikus betina selama uji toksisitas akut



Gambar 2. Rerata perubahan berat badan tikus jantan selama uji toksisitas akut

Pengamatan selama 6 jam setelah pemberian bahan obat terhadap hewan coba meliputi: tingkah laku (aktivitas spontan, peka sentuhan, rasa nyeri) dan eksitasi sistem syaraf pusat (gejala straub, melompat, tremor, konvulsi). Pada pemberian dosis besar pada semua campuran, hewan dalam keadaan normal, yaitu peka terhadap sentuhan dan rasa nyeri. Gejala straub, melompat, tremor dan konvulsi dan gejala toksisitas pada tidak terlihat pada hewan coba.

Uji Antimalaria

Persentase parasitemia mencit selama infeksi *P. berghei* dapat dilihat Tabel 1. Dari Tabel 1 terlihat bahwa pada awal infeksi yaitu hari ke-1 belum terlihat peningkatan yang signifikan pada nilai persentase parasit.

Puncak infeksi terlihat pada hari ke-5, dimana terdapat perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$) pada persen parasitemia antara semua kelompok perlakuan dengan kelompok DHP. Hal ini menunjukkan bahwa DHP dapat menekan jumlah parasit dibandingkan kelompok lainnya. Bila dilihat antara kelompok perlakuan, terdapat perbedaan persentase parasit yang signifikan ($p \leq 0.05$) pada semua kelompok perlakuan kecuali antara DSC dengan DKC yang tidak berbeda signifikan ($p \geq 0.05$). Pada semua kelompok perlakuan terjadi penurunan jumlah parasit di hari ke-14 setelah pemberian campuran ekstrak yang tidak berbeda signifikan antar semua kelompok perlakuan ($p \geq 0.05$).

Pada puncak infeksi (hari ke-5) dosis DBC memperlihatkan nilai persen parasit yang paling kecil diantara kelompok perlakuan lainnya. Akan tetapi, dari Hasil uji U Mann Withney yang dilakukan, terlihat bahwa Dosis DBC dan DKC tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa dosis DBC dan dosis DKC dapat menekan jumlah parasit dibandingkan dengan kelompok dosis DSC dan dosis DBP. Jadi, dosis DKC lebih baik

dalam menurunkan jumlah parasitemia dibandingkan dengan DBC dan dengan semua kelompok perlakuan lainnya karena jika dibandingkan dengan DBC, maka dengan dosis yang kecil (DKC) saja sudah dapat menekan nilai persen parasit.

Pada hari ke-14 semua kelompok perlakuan ekstrak memiliki nilai persen parasitemia sebesar 0% yang artinya terjadi kesembuhan terhadap infeksi *Plasmodium berghei*. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok DHP dan semua kelompok perlakuan ekstrak ($p \geq 0.05$). Persentase parasitemia kelompok CMC terus naik sampai dengan 78,75%. Dalam 10 hari pertama infeksi, terdapat peningkatan enzim NADPH oksidase dan NO pada serum mencit percobaan. Enzim NADPH oksidase memberikan elektron dari NADPH yang berada pada membran sitoplasma bagian dalam ke ekstraseluler menghasilkan O_2^- (superoksida). NO bereaksi dengan O_2^- menghasilkan peroksinitril yang dapat berinteraksi dengan berbagai molekul biologi dan bersifat merusak.⁷

Mekanisme kerja Artemisinin menurunkan derajat parasit sangat berkaitan dengan struktur molekulnya. Radikal-radikal Artemisinin menghambat dan memodifikasi berbagai macam molekul dalam Plasmodium yang mengakibatkan Plasmodium tersebut mati.⁸

Efek antimalaria yang ditimbulkan pada kelompok campuran ekstrak kulit batang pulai dan meniran diduga disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung di dalam kedua tanaman ini. Dalam kulit batang pohon pulai terkandung flavonoid, saponin dan alkaloid steroid dan triterpenoid serta fenolik.⁹

Efek anti malaria juga kemungkinan ditimbulkan oleh kandungan senyawa dalam meniran yang hampir serupa dengan kandungan kulit batang pulai. Meniran mengandung lignan (filantin dan hipofilantin), triterpenoids dan tanin.¹⁰

Tabel 1. Rerata persen parasitemia pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*

Hari ke-	Kelompok dosis Mean% ± SD					
	CMC	DHP	DBC	DSC	DKC	DBP
1	0,017 ±0,039 ^a	0,000 ±0,000 ^b	0,017 ±0,058 ^a	0,000 ±0,000 ^{bc}	0,008 ±0,029 ^d	0,000 ±0,000 ^{bc}
2	0,692 ±0,540 ^a	0,175 ±0,176 ^a	0,583 ±0,513 ^a	0,667 ±0,387 ^{ac}	0,708 ±0,401 ^a	0,692 ±0,408 ^a
3	3,667 ±1,342 ^a	0,000 ±0,000 ^b	3,950 ±2,041 ^a	4,067 ±1,454 ^a	4,008 ±0,306 ^c	2,742 ±2,030 ^a
4	7,117 ±1,211 ^a	0,000 ±0,000 ^b	5,533 ±1,168 ^a	5,192 ±1,766 ^a	6,967 ±2,085 ^a	6,867 ±1,265 ^a
5	15,387 ±1,348 ^a	0,000 ±0,000 ^b	6,237 ±1,208 ^c	10,262 ±1,492 ^d	7,812 ±2,890 ^{cd}	14,850 ±1,755 ^a
6	35,7500 ±5,523 ^a	0,000 ±0,000 ^b	7,412 ±0,356 ^c	12,512 ±0,730 ^d	6,462 ±0,674 ^{ec}	10,837 ±0,875 ^f
7	39,875 ±4,015 ^a	0,000 ±0,000 ^b	18,750 ±6,386 ^c	1,800 ±1,127 ^d	1,800 ±0,725 ^{cd}	2,037 ±0,957 ^{df}
14	78,750 ±2,5 ^b	0,000 ±0,000 ^a	0,000 ±0,000 ^a	0,000 ±0,000 ^a	0,000 ±0,000 ^a	0,000 ±0,000 ^a

Ket: Huruf yang berbeda pada hari yang sama menyatakan perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$)

CMC: Carboxymethyl cellulose 0,5%; DHP: Dihydroartemisinin piperakuin (Dihydroartemisinin 15,6mg; Piperakuin 124,5mg/kgbb); DBC: Pulai 1330 mg/kgbb + meniran 1330 mg/kgbb; DSC: Pulai 443,34 mg/kgbb + meniran 443,34 mg/kgbb; DKC: Pulai 147,78 mg/kgbb + meniran 147,78 mg/kgbb; DBP: Pulai 1330 mg/kgbb

Persen parasitemia pada semua kelompok percobaan mulai menurun pada hari ke-6 hal ini menunjukkan bahwa campuran ekstrak alkohol kulit batang pulai dan meniran menghambat pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada fase kizon sehingga skizon tidak dapat menghasilkan merozoit-merozoit untuk menginfeksi eritrosit.

Mekanisme kerja tubuh terhadap parasit malaria sangat kompleks karena melibatkan hampir semua komponen imun, baik imunitas yang timbul secara alami maupun didapat akibat adanya infeksi yang spesifik maupun non spesifik, humoral maupun seluler. Toksin malaria yang dominan berupa *Glucose Phosphate Isomerase* (GPI) merupakan komponen dari protein membran Plasmodium yang dapat mengaktifkan makrofag dan endotelium vaskuler dalam merangsang TNF- α , IL-1, NO dan ekspresi ICAM (*Inter-Cellular Adhesion Molecule*). Hal ini mengakibatkan timbulnya berbagai mekanisme patogenesis malaria.¹¹

Leukosit berfungsi sebagai sistem imun guna melawan penyakit di dalam tubuh. Nilai leukosit akan normal pada beberapa kondisi seperti terluka dan kehamilan. Jumlah leukosit akan tidak normal dalam

kondisi kehilangan banyak darah, kanker dan pada kebanyakan infeksi. Aktivitas proliferasi sel leukosit diteliti dengan mengamati perubahan jumlah sel selama terjadinya infeksi. Perubahan sel yang diidentifikasi meliputi sel limfosit, monosit, dan granulosit. Peningkatan leukosit (*white blood cell*) juga bisa terjadi pada penderita malaria. Pada keadaan malaria akut jumlah leukosit pada umumnya akan tetap normal atau rendah.¹² Parasit yang masuk ke dalam sirkulasi darah direspons oleh sistem imun tubuh secara non spesifik dan selanjutnya secara spesifik.

Respons imun non spesifik merupakan efektor pertama dalam memberikan perlawanan terhadap infeksi. Sel limfosit merupakan jenis sel darah putih yang agranulosit. Di dalam apusan darah sel limfosit mempunyai inti bulat yang kadang-kadang sedikit bertakik. Limfosit merupakan unsur kunci pada proses kekebalan. Beberapa limfosit dibentuk di sumsum tulang, tetapi bagian terbesar dibentuk di dalam kelenjar limfe, timus dan limpa dari sel prekursor yang berasal dari sumsum tulang.¹³

Pada Tabel 2, terlihat bahwa pada awal infeksi nilai limfosit masih dalam kisaran

normal, kemudian sedikit menurun dan meningkat kembali pada puncak infeksi (hari ke-5).

Pada hari pertama infeksi terlihat perbedaan yang signifikan antara kelompok DHP dengan DBC ($p \leq 0.05$). Di hari ke-5, dan hari ke-14 nilai limfosit tampak terus meningkat namun secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai limfosit di antara kelompok percobaan. Kecuali antara DHP dengan DBP ($p \leq 0.05$).

Kulit batang pulai mengandung alkaloid sehingga jumlah parasit yang terdapat di dalam tubuh dapat ditekan dengan pemberian tanaman ini. Rata-rata persentase limfosit kelompok perlakuan ekstrak yang tinggi pada hari-hari terakhir pengamatan dapat disebabkan oleh kandungan flavonoid pada kulit batang pulai dan meniran yang masih ada pada tubuh mencit. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas proliferasi limfosit karena bersifat immunomodulator yang mampu menangkal serangan virus, bakteri dan mikroba lainnya.⁴ Adanya benda asing (*P. berghei*) akan merangsang terbentuknya *antigen presenting cell* (APC), APC ini akan merangsang tubuh untuk membentuk sel limfosit T. IL-2 akan diproduksi dengan adanya sel limfosit T. IL-2 ini akan merangsang sel T sitotoksik untuk menghancurkan benda asing (*P. berghei*) yang masuk ke dalam tubuh.¹ Pemberian ekstrak dapat meningkatkan jumlah limfosit sehingga kerjasama antara sistem kekebalan tubuh dan ekstrak dalam tubuh mencit dapat mengeliminasi jumlah parasit yang ada.

Penilaian persentase granulosit juga dihitung pada hari ke-1, 5 dan hari ke-14. Hasil perhitungan persen granulosit pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2. Terlihat bahwa pada awal infeksi nilainya masih normal, kemudian mulai menurun pada hari ke-5 dan 14.

Granulosit merupakan jenis sel leukosit yang mempunyai granula spesifik. Di antara granulosit, neutrofil merupakan jenis sel yang terbanyak dan merupakan garis depan

per-tahanan seluler terhadap invasi jasad renik karena dapat memfagosit partikel kecil dengan aktif.¹³

Neutrofil adalah tipe leukosit yang penting dalam tubuh pada proses inflamasi, terutama yang disebabkan oleh mikroba. Pemusnahan mikroba oleh neutrofil dilakukan dengan cara endositosis (fagositosis) dan eksositosis. Sumsum tulang akan dirangsang untuk menghasilkan dan melepaskan sejumlah besar neutrofil jika dicurigai ada sel tubuh yang rusak. Sel-sel tubuh yang rusak atau dirusak oleh mikroba akan membebaskan sinyal kimiawi yang menarik neutrofil dari darah untuk datang (kemotaksis). Neutrofil akan memasuki jaringan yang terinfeksi, merusak, dan menelan mikroba.¹³ Pada hari pertama, persentase granulosit pada perlakuan menunjukkan peningkatan dibandingkan kelompok DHP. Hal ini dikarenakan neutrofil berperan sebagai basis pertahanan pertama dalam menghancurkan atau mengeliminasi benda asing yang masuk kedalam tubuh.¹² Benda asing tersebut akan mengeluarkan bahan kemotaktik yang dapat menarik neutrofil untuk datang, kemudian neutrofil akan datang ke daerah asal kemotaktik tersebut dan melakukan fagositosis.¹⁴

Parasit akan dicerna oleh enzim lisozim yang terdapat di dalam neutrofil, kemudian neutrofil akan mengalami otolisis setelah proses fagositosis selesai. Histamin dan faktor leukopoietik (sitokin dan interleukin) yang dilepaskan setelah lisisnya neutrofil akan merangsang sumsum tulang melepaskan cadangan neutrofil sehingga produksi neutrofil akan meningkat.¹⁵

Pada hari ke-5 nilai granulosit mulai menurun. Rendahnya rata-rata persentase granulosit mencit kelompok ekstrak pada hari-hari terakhir ini dapat disebabkan oleh fungsi neutrofil yang berperan sebagai pemberi tanda pertama untuk membunuh parasit hanya memiliki paruh waktu selama 2 hari dan hanya efektif pada hari-hari pertama terjadinya serangan parasit.¹³

Tabel 2. Perubahan persentase limfosit, monosit dan granulosit menci selama infeksi *P. berghei*

	Limfosit(%)			Granulosit (%)			Monosit(%)		
	Mean±SD								
	Hari ke-1	Hari ke-5	Hari ke-14	Hari ke-1	Hari ke-5	Hari ke-14	Hari ke-1	Hari ke-5	Hari ke-14
CMC	38.57 ±12.95 ^a	57.67 ±2.52 ^a	43.20 ±3.80 ^a	58.57 ±12.61 ^a	33.67 ±5.13 ^a	52.13 ±3.85 ^a	2.86 ±1.35 ^a	8.67 ±2.89 ^a	4.68 ±1.40 ^a
DHP	64.33 ±9.37 ^b	54.75 ±8.06 ^a	61.65 ±8.25 ^b	31.33 ±10.46 ^b	37.25 ±9.81 ^a	35.63 ±8.02 ^b	4.33 ±1.63 ^a	8.00 3.37 ^a	2.73 ±2.03 ^a
DBC	48.00 ±6.22 ^a	60.00 ±9.64 ^a	66.15 ±13.49 ^{bc}	46.57 ±7.25 ^{ab}	34.60 ±8.82 ^a	32.43 ±13.13 ^b	4.86 ±2.90 ^a	5.60 ±3.13 ^a	1.43 ±0.53 ^{acf}
DSC	48.67 ±13.54 ^{ab}	58.75 ±2.87 ^a	76.98 ±10.70 ^{bc}	48.67 ±13.72 ^{ab}	36.13 ±2.95 ^a	22.63 ±10.49 ^b	2.67 ±1.37 ^a	5.13 ±0.83 ^a	0.40 ±0.26 ^{de}
DKC	46.71 ±12.22 ^{ab}	61.75 ±3.92 ^a	69.28 ±18.25 ^{bc}	49.57 ±13.24 ^{ab}	34.63 ±5.83 ^a	30.33 ±18.40 ^{ab}	3.71 ±1.60 ^a	5.88 ±1.25 ^a	0.40 ±0.24 ^{ef}
DBP	56.57 ±12.18 ^{ab}	57.75 ±4.20 ^a	73.53 ±3.11 ^c	38.86 ±12.75 ^{ab}	36.75 ±4.50 ^a	25.38 ±3.78 ^b	4.57 ±1.62 ^a	5.50 ±0.93 ^a	1.10 ±0.71 ^f

Ket: Huruf yang berbeda pada hari yang sama menyatakan perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$)

Dari Tabel 2 terlihat bahwa pada awal infeksi nilai monosit masih dalam rentang normal, kemudian terjadi sedikit pola naik dan turun setelah hari pertama infeksi, dan pada akhir nya dihari ke-14 infeksi nilai persen monosit masih berada dalam rentang normal.

Pada semua kelompok, jumlah monosit hari pertama nilainya masih normal. Pada hari ke-5, nilai monosit meningkat dan pada hari ke-14 mulai menurun.

Monosit merupakan jenis sel fagosit yang akan menghancurkan antigen dengan cara menelannya. Monosit mampu mengadakan gerakan dengan jalan membentuk pseudopodia sehingga dapat bermigrasi menembus kapiler untuk masuk ke dalam jaringan pengikat. Dalam jaringan pengikat, monosit berubah menjadi sel makrofag atau sel-sel lain yang diklasifikasikan sebagai sel fagositik. Di dalam jaringan, sel ini masih membelah diri. Selain berfungsi fagositosis, makrofag dapat berperan dalam menyampaikan antigen kepada limfosit. Meningkatnya jumlah sel monosit yang cukup tinggi pada menci yang diinfeksi menunjukkan terjadinya fagosit parasit sebagai mekanisme pertahanan tubuh.¹⁶

Dalam penelitian ini kenaikan jumlah monosit yang tinggi pada kelompok yang diberi ekstrak, terutama dosis sedang,

menunjukkan terjadinya respon imun. Sel makrofag berperan menyampaikan antigen kepada limfosit untuk bekerjasama dalam sistem imun. Tingginya rata-rata persentase ini dapat disebabkan oleh senyawa flavonoid yang terkandung di dalam kulit batang pulai dan meniran. Flavanoid berpotensi bekerja terhadap sistim imunitas sehingga akan merangsang sel-sel fagosit (monosit) untuk melakukan respon fagositosis.¹⁷ Dengan adanya flavonoid, jumlah monosit di dalam tubuh akan meningkat. Monosit tersebut akan memfagosit parasit yang ada sehingga jumlah parasit di dalam tubuh dapat menurun.

Monosit merupakan salah satu sel yang berperan penting dalam respon imun, baik berperan fungsional dalam fagositosis maupun sebagai *antigen presenting cells* (APC).¹⁸ Dengan demikian, pemberian ekstrak dapat meningkatkan jumlah monosit di dalam tubuh.

KESIMPULAN

Pemeriksaan toksisitas akut campuran dengan formula ekstrak kulit batang pulai dan meniran (1:1) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak hingga dosis 14285 mg/kg bb tidak menimbulkan kelainan dan kematian.

Campuran dengan formula ekstrak kulit batang pulai dan meniran (1:1) dosis 147,78 mg/kg bb yang diberikan pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* setiap hari selama 14 hari menunjukkan efektivitas penurunan persen parasitemia dan nilai diferensial leukosit, baik itu limfosit, monosit maupun granulosit memperlihatkan nilai yang hampir sama dengan kelompok DHP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Ani Isnawati, M.Kes, Apt dan Dr. Drs. Amrul Munif, M.Sc. APU sebagai pembina Risbinkes 2015, serta tim teknis Risbinkes 2015 atas masukan dan nasehat selama melakukan penelitian. Penulis juga berterima kasih atas bantuan teman-teman tim di laboratorium hewan coba Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes Kemenkes RI. Penelitian ini terlaksana atas pendanaan dari Risbinkes Badan Litbangkes Kemenkes RI 2015.

DAFTAR RUJUKAN

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar Tahun 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI; 2013.
2. Sumaha LHM, Nindatu M, Kakisina P. Efek pemberian ekstrak metanol kulit batang pohon Pulai (*Alstonia Scholaris* L. R. Br.) terhadap hasil diferensiasi leukosit mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *Plasmodium berghei* Anka. *Molucca Medica*. 2012;5(1):39-53.
3. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Departemen Kesehatan RI. Pedoman penatalaksanaan kasus malaria di Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2008.
4. Suhirman S, Winarti C. Prospek dan fungsi tanaman obat sebagai imunomodulator. *Jurnal Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*. 2010:123-31.
5. Republik Indonesia. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. No. 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis secara *In Vivo*. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan; 2014.
6. Moll K, Ljungström I, Perlmann H, Scherf A, Wahlgren M, editors. *Methods In Malaria Research*. Fifth Edition. Glasgow: EVIMalaR; 2008.
7. Tripathy S, Prasad S, Chakraborty, Roy S. Superoxide radical generation mediated *Plasmodium berghei* infection in Swiss Mice. *Al Ameen Journal Of Medical Science*. 2012;5(1):69-81.
8. Simamora D, Fitri LE. Resistensi obat malaria: Mekanisme dan peran obat kombinasi obat antimalarial untuk mencegah. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2007;23(2):82-91.
9. Christina C, Kumar SP, Beula JM, Lekha NC, Jeyaraj N, Ravikumar S. Innovative *in vitro* antiplasmodial activity of Kani herb *Alstonia scholaris* against *Plasmodium falciparum*. *Innovative Journal of Medical and Health Science*. 2015;5(4):166-9.
10. XinMao, Ling-Fang Wu, Hong-Ling Guo, Wen-Jing Chen. The Genus *Phyllanthus*: An ethnopharmacological, phytochemical, and pharmacological review. evidence-based complementary and alternative medicine. 2016:1-36.
11. Sanjeev Kumar, Nagaraj M. Gowda, Xianzhu Wu, Ranjita N. Gowda, and D Channe Gowda. CD36 modulates proinflammatory cytokine responses to *Plasmodium falciparum* glycosylphosphatidyl inositols and merozoites by dendritic cells. *Parasite Immunol*. 2012;34(7):372-82.
12. Cyril-Olutayol MC, Omonkhua AA, Akanbi OM. Effects of *Anogeissus leiocarpus* on haematological parameters of mice infected with *Plasmodium berghei*. *Journal of Plant Studies*. 2013;2(2):13-21.
13. Ganong WF. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Ke-24. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran; 2015.
14. Tizard I. *Veterinary Immunology*. 9th Edition. W. B. Saunders co. 2013.
15. Hafizhiah NH. Total leukosit dan diferensiasinya pada kambing peranakan Etawa (*Capra Aegagrus Hircus*) di Cariu, Bogor dan Cipanas-Cianjur, Jawa Barat. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor; 2008.
16. Jiyeon Yang, Lixiao Zhang, Caijia Yu, Xiao-Feng Yang and Hong Wang. Monocyte and macrophage differentiation:

- circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomarker Research*. 2014;2(1):1-9. <http://www.biomarkerres.org/content/2/1/1>
17. Eric Gershwin, Bruce German and Keen CL. *Nutrition and Immunology Principles and Practice*. Springer Science+Business Media, LLC. 2000.
 18. Bratawidjaja Gg. *Imunologi Dasar*. Ed Ke11. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI; 2014.