



Terapi Ekstrak Etil Asetat Daun Baru Laut Terhadap Pertumbuhan Parasit Pada *Mus Muculus* Terinfeksi *Plasmodium Berghei*

Ois Nurcahyanti^{1*}, Kartika Rahma²

¹Teknologi Laboratorium medik, Fakultas Ilmu Kesehatan Dan Teknologi, Universitas Binawan, Jakarta Timur, Indonesia

²Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Dan Teknologi, Universitas Binawan, Jakarta Timur, Indonesia
e-Mail : ois@binawan.ac.id

Abstract

Malaria is a disease caused by parasitic infection, namely Protozoa of the genus Plasmodium which is transmitted to humans by the bite of the Anopheles mosquito. Indonesia is a tropical country with malaria cases increasing every year. One type of plant used as malaria drug therapy by the community is Thespesia populnea (L.) Soland ex correa commonly know as Portiatree. The purpose of this study was to determine the effect of ethyl acetate extract of Portiatree Leaves on growth and inhibition of parasites in male Mus Muculus infected with Plasmodium Berghei. This study used extraction and fractionation methods to obtain ethyl acetate extract from the leaves of Portiatree, to see the types of active compounds contained in the extract, phytochemical tests were carried out. then in vivo testing was carried out using male Mus Muculus test animals infected with Plasmodium Berghei with various doses of treatment. The ethyl acetate extract obtained from the Portiatree leaves is 120 gram. The phytochemical result showing flavonoids, phenolics, tannins, saponins, terpenoids from the Ekstrak of Portiatree. Malaria therapy using male Mus Muculus infected with Plasmodium Berghei obtained ethyl acetate extract by giving an effective dose of 0.056 g/KgBb to reduce parasites well by showing an increase in the percentage of inhibitors well until the six day of observation after the extract was administered. Therapy with ethyl acetate extract of Portiatree leaves at a dose of 0.056 g/KgBb can reduce parasites well until the six day of observation after administration of the extract by increasing the % inhibition and decreasing the % growth.

Keywords: Portiatree, Malaria, Mus_Muculus, Plasmodium_Berghei.

Abstrak

Malaria merupakan penyakit akibat infeksi parasit yaitu Protozoa dari genus Plasmodium yang ditular pada manusia oleh gigitan nyamuk Anopheles. Indonesia merupakan Negara tropis dengan kasus malaria yang meningkat setiap tahunnya. Salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai obat malaria oleh masyarakat adalah Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*. Tujuan penelitian ini untuk melihat pengaruh terapi ekstrak etil asetat Daun Baru Laut Terhadap %pertumbuhan dan %penghambatan Parasit Pada *Mus Muculus* jantan Terinfeksi *Plasmodium Berghei*. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dan fraksinasi untuk memperoleh ekstrak etil asetat dari daun Baru Laut, untuk melihat jenis senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak tersebut dilakukan uji fitokimia. selanjutnya dilakukan pengujian secara invivo dengan menggunakan hewan uji *Mus Muculus* jantan yang

Terinfeksi *Plasmodium Berghei* dengan berbagai dosis perlakuan. Ekstrak etil asetat yang diperoleh dari daun Baru laut ini adalah sebanyak 120gram, setelah dilakukan pengujian fitokimia maka ekstrak etil asetat ini mengandung metabolit sekunder berupa senyawa metabolit yaitu flavonoid, fenolik, tanin, saponin, terpenoid. Terapi malaria menggunakan Mus Muculus jantan yang Terinfeksi Plasmodium Berghei didapat ekstrak etil asetat dengan pemberian Dosis efektif 0,056 g/KgBb dapat menurunkan parasit secara baik dengan memperlihatkan peningkatan persen penghambat secara baik hingga pengamatan hari ke-6 setelah pemberian ekstrak

Kata Kunci : Baru laut, malaria, etilasetat, *mus muculus*, *plasmodium berghei*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara megadiversiti dunia menyimpan potensi keanekaragaman hayati yang tidak ternilai harganya. Secara etnobotani tanaman tanaman di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai obat dan solusi beberapa penyakit. Propinsi Bengkulu merupakan propinsi yang memiliki kondisi geografis dan keadaan wilayah yang masih banyak hutan dan sangat dimungkinkan banyak ditemukan berbagai jenis tanaman yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, baik digunakan secara langsung maupun diolah terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai obat. Salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat adalah Baru Laut *Thespesia populnea (L.) Soland ex correa*, dimana secara etnobotani daun baru laut ini digunakan sebagai terapi malaria dan juga digunakan untuk diabetes¹. *Thespesia populnea* ditemukan di daerah tropis yang hangat dan daerah subtropis di sepanjang pantai. Spesifik skrining fitokimia *populnea* mengungkapkan bahwa Daunnya kaya akan protein, terpenoid, dan flavonoid. Protein berkontribusi pada pembentukan dan fungsi sel hidup, terpenoid berperan dalam anti-inflamasi dan fungsi analgesik. Flavonoid telah terbukti memiliki berbagai macam zat yang bermanfaat, termasuk zat inflamasi, estrogenik, penghambatan enzim, zat antimikroba²⁻³.

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan infeksi parasit yaitu Protozoa dari genus *Plasmodium*. Malaria merupakan problem kesehatan pada wilayah subtropis juga tropis. Pada tahun 2019 insiden malaria di dunia mencapai 228 juta dengan prakiraan jumlah kematian mencapai 405.000⁴. Pemanfaatan

bahan alam sebagai terapi penyembuhan malaria merupakan solusi yang baik untuk masyarakat namun belum terdapat kajian dan pembuktian sebagai upaya meyakinkan masyarakat bahwa bahan alam tersebut dapat digunakan sebagai terapi penyembuhan penyakit malaria. Salah satu cara membuktikan hal tersebut dengan melakukan percobaan secara *invivo* dengan menggunakan *Mus musculus* jantan yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Mus musculus* merupakan hewan uji yang biasa digunakan dalam percobaan sebab hewan ini memiliki karakteristik dan imunologi yang mudah diamati. Mencit jantan dipilih karena mencit jantan tidak mempunyai hormon estrogen, jika ada jumlahnya pun relatif sedikit serta kondisi hormonal pada mencit jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina karena pada mencit betina mengalami perubahan hormonal pada masa-masa estrus, masa menyusui, dan kehamilan dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu penelitian⁵.

Adapun Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak daun baru laut Terhadap Pertumbuhan Parasit Pada *Mus Muculus* Terinfeksi *Plasmodium Berghei*.

BAHAN DAN METODE

Ekstaksi Baru Laut

Daun Baru Laut (5 kg) dihaluskan kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Ekstrak etanol yang dihasilkan, diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan tekanan dari vakum pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol. Ekstrak ini kemudian dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat *n*-heksana (60 g), etil asetat (120 g) dan etanol (80 g).

Pengujian fitokimia

Ekstrak etil asetat daun baru laut dilakukan uji fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, dan steroid.

Uji alkaloid

Sebanyak 4 mL ekstrak etanol Baru Laut dimasukan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan 5 mL amoniak 10 %, lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2 M untuk memperjelas pemisahan terbentuknya 2 fase yang berbeda. Bagian atas dari fase yang terbentuk diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer. Keberadaan alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan merah.

Uji Flavonoid

Ekstrak ekstrak etanol Baru laut sebanyak 1 mL diambil ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes asam klorida pekat. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga.

Uji Steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol Baru Laut diambil dan ditambahkan dengan 2 mL kloroform. Setelah itu campuran dikocok. Kemudian filtrat ditambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat masing-masing sebanyak 2 tetes. Reaksi positif ditunjukkan pada perubahan warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.

Penyediaan Mencit (*M. Musculus*)

Sebelum diberi perlakuan maka mencit tersebut diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 1 minggu, dimana Kandang mencit dibuat dari nampan plastik yang diberi sekam padi sebagai alas dan ditutup dengan ram kawat. Mencit dipelihara di dalam kandang dan diberikan penerangan, selama pemeliharaan mencit rata-rata suhu ruangan minimum 23,6°C dan maksimum 26°C, serta kelembapan 80,6%., pakan dan pergantian sekam dilakukan secara terus menerus. Proses inokulasi atau transfer *P. Berghei* dengan cara menyediakan mencit donor atau mencit yang telah terinfeksi *Plasmodium*

berghei. Tiga ekor mencit yang telah terinfeksi atau mencit donor ini diambil darahnya dari dari jantung dengan spuit 1 mL yang telah diinjeksi EDTA terlebih dahulu 0,1 mL, kemudian disuntikkan kepada mencit target sekitar 0,2mL/mencit melalui intraperitoneal.

Terapi pemberian ekstrak terhadap hewan uji

Mencit yang sudah diadaptasikan selanjutnya diinfeksi dengan *Plasmodium berghei* yang berasal dari mencit donor. Mencit donor diambil darahnya melalui jantung dan disuntikkan secara intraperitoneal kepada mencit yang lain sebanyak 2mL. kemudian diberi perlakuan :

P0 = diinfeksi *P. berghei*

P1 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi klorokuin

P2 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,028 g/KgBb

P3 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,056 g/KgBb

P4 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,084 g/kgBb

Diamati dari awal hingga hari ke-6, pengamatan dilakukan dengan cara membuat apusan tipis dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X, sehingga hasil dari mikroskop ini didapat persen pertumbuhan dan persen penghambatan tiap hari parasit, dengan rumus

$$\%pertumbuhan = \frac{P(d_1 - d_0) + \dots + P(d_6 - d_5)}{6}$$

Ket : P(dx-dx-1) % parasetemia hari x dikurangi %parasetemia hari Sebelumnya

$$\%penghambat = 100\% - \left[\frac{Xe}{Xk} \times 100\% \right]$$

Ket : Xe = % pertumbuhan rata-rata parasit pada tiap kelompok uji

Xk = % pertumbuhan rata-rata parasit pada kontrol negatif ⁶.

HASIL

Uji fitokimia dilakukan untuk dapat mengetahui keberadaan senyawa

metabolit sekunder pada daun baru laut. Berikut hasil uji fitokimia daun baru laut.

Tabel 1. Uji Fitokimia fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol

Metabolit sekunder	Fraksi		
	Etil asetat	n -Heksan	Etanol
Favonoid	+++	-	+
Fenolik	+++	-	+
Tanin	+++	-	+
Alkaloid	+	-	+
Saponin	++	-	+
Steroid	-	-	-
terpenoid	++	-	+

Uji fitokimia pada tabel di atas menunjukkan bahwa fraksi etanol mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa golongan fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid dibandingkan dengan fraksi etil asetat maka fraksi etil asetat mengandung lebih banyak senyawa metabolit yaitu flavonoid, fenolik, tanin, saponin, terpenoid.

Terapi ekstrak etil asetat terhadap *Mus musculus* jantan yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*. Pada kelompok perlakuan 1 (F0) hanya diinfeksi *Plasmodium berghei* sedangkan pada perlakuan 2 (F1) diinfeksi dan diberi obat malaria yaitu klorokuin. Perlakuan (F3) - (F5) diberikan dosis ekstrak daun Baru Laut yang telah ditentukan berdasarkan berat badan mencit tersebut. Berikut **Table 2** merupakan persentase pertumbuhan dan penghambatan pemberian ekstrak etil asetat terhadap *Mus musculus* jantan yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*.

Tabel 2. Pertumbuhan dan penghambatan pemberian ekstrak etil asetat

perlakuan	%pertumbuhan H0-H3	%penghambat H0-H3	%pertumbuhan H4-H6	% penghambatan H4-H6
F0	32,09	0,00	43,18	0,00
F1	24,44	23,83	17,38	59,75
F2	24,62	23,27	31,63	26,74
F3	28,70	10,58	18,84	56,36
F4	29,62	7,70	33,04	23,46

Keterangan:

F0 = diinfeksi *P. berghei*

F1 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi klorokuin

F2 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,028 g/KgBb

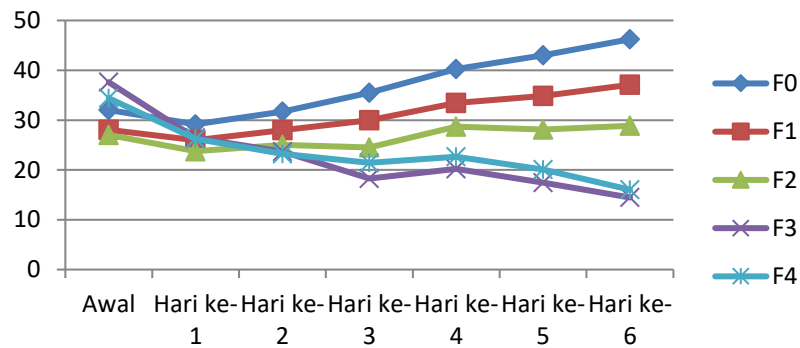
F3 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,056 g/KgBb

F4 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,084 g/kgBb

Persen penghambatan parasit dengan pemberian ekstrak pada H0-H3 dapat dilihat bahwa F2 memiliki persen penghambat paling besar yang menyatakan bahwa pada dosis ini penghambatan parasit lebih bagus dari perlakuan yang lain pada hari ke-1 hingga hari ke-3, tetapi setelah pengamatan parasetimia diperpanjang hingga hari ke-6 terlihat bahwa perlakuan 3(F3) memiliki nilai penghambat paling besar yaitu 56,36% dengan melihat perbandingan persen penghambat pada H0-H3 dan H4-H6 khususnya untuk dosis pemberian ekstrak F2, F3, F4 terdapat perbedaan dimana untuk F2 persen penghambatan hanya bagus pada saat pemberian ekstrak, ketika ekstrak tidak diberikan lagi hingga hari ke-6, maka parasit kembali naik. Pada F3 dan F4 penurunan parasit berlangsung terlihat secara baik hingga hari ke-6 tetapi yang memiliki persen penghambat yang paling besar yaitu F3 56,36%. Dari data diatas maka ekstrak pada perlakuan F3 dengan pemberian Dosis efektif 0,056 g/KgBb dapat menurunkan parasit secara baik hingga pengamatan hari ke-6 setelah pemberian ekstrak.

DISKUSI

Uji fitokimia ketiga ekstrak daun baru laut yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol maka, ekstrak etil asetat daun baru laut baru laut mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, fenolik, tanin, saponin, dan terpenoid. Hasil tersebut merupakan data kualitatif yang menunjukkan kandungan kimia dari daun Baru Laut secara umum. Hasil uji ini hampir serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh ⁷. akar dan bunga dari tanaman *baru laut* mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, terpenoid, dan glikosida. Pemberian terapi ekstrak etil asetat daun baru laut bertujuan untuk menurunkan % pertumbuhan parasite dan menaikkan % penghambatan parasite. Sebelum pemberian ekstrak mencit diinfeksi parasit terlebih dahulu sampai 5-7 hari, setelah itu diperiksa darahnya untuk melihat berapa persen jumlah darah yang telah diinfeksi. Pengamatan apusan darah mencit di bawah mikroskop menunjukkan perbedaan karakteristik eritrosit normal dan terinfeksi. Eritrosit normal berbentuk cakram bikonkaf, berwarna kekuningan dan tidak berinti, sedangkan eritrosit yang terinfeksi parasit lebih pucat, bertitik-titik dan lebih besar dibanding eritrosit normal. perlakuan F3 dengan pemberian Dosis efektif 0,056 g/KgBb dapat menurunkan parasit secara baik hingga pengamatan hari ke-6 setelah pemberian ekstrak. Keberhasilan terapi malaria tidak hanya dapat dilihat dari nilai persen penghambatan parasit saja, namun juga dapat dilihat dari profil pertumbuhan parasit selama tujuh hari pengamatan seperti Grafik pertumbuhan parasit setiap kelompok uji pada setiap harinya berikut ini:



Gambar 1. Grafik

Keterangan gambar :

F0 = diinfeksi *P. berghei*

F1 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi klorokuin

F2 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,028 g/KgBb

F3 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,056 g/KgBb

F4 = diinfeksi *P. Berghei* dan diberi ekstrak dengan dosis 0,084 g/kgBb

Dari data grafik diatas dapat dilihat bahwa pada F0 jumlah parasit meningkat hingga terus menerus sampai hari keenam. Pada kontrol positif diberi klorokuin jumlah parasit berkurang hingga hari keenam, hal ini berarti bahwa klorokuin dapat mengurangi jumlah parasit sehingga dapat menyembuhkan penyakit malaria. Pada perlakuan F2 dengan pemberian ekstrak kasar Dosis efektif 0,028 g/Kgbb untuk mencit, parasit menurun dan pada hari keempat tanpa gavage maka parasit naik kembali sedikit dan pada hari ke-6 nya parasit menurun kembali dan tidak stabil. Jika dibandingkan dengan kontrol positif (F1) maka perlakuan yang baik untuk antimalaria apabila persen penghambatan parasit selalu meningkat baik setelah di beri ekstrak maupun sebelum pemberian ekstrak, hal ini tidak ditemukan pada F2. Pada perlakuan F3 dan F4 persen penghambatan selalu meningkat, tetapi F3 lebih terlihat peningkatan persen penghambatannya dan ini berarti pada perlakuan ini dapat dengan baik menurunkan pertumbuhan parasit. *P. berghei* adalah hemaprotzoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia,

terutama pada rodensia kecil. Dasar biologi *Plasmodium* yang menyerang rodensia sama dengan *Plasmodium* yang menyerang manusia pada siklus hidup maupun morfologinya, genetik dan pengaturan genomnya, fungsi dan struktur pada kandidat vaksin antigen target sama. Seperti parasit malaria pada manusia, *P. berghei* ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* dan dapat menginfeksi hepar setelah masuk pembuluh darah akibat gigitan nyamuk betina. Setelah mengalami multiplikasi dan perkembangan selama beberapa hari, parasite meninggalkan hepar dan menginvasi eritrosit. Multiplikasi parasit di darah menyebabkan keadaan patologis seperti anemia dan merusak organ-organ penting dalam tubuh, seperti paru-paru, hepar⁸.

KESIMPULAN

Terapi Ekstrak etil asetat daun Baru laut dengan dosis 0,056 g/KgBb dapat menurunkan parasit secara baik hingga pengamatan hari ke-6 setelah pemberian ekstrak dengan menaikkan % penghambatan dan menurunkan % pertumbuhan

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada LPPM Universitas Binawan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

World Health Organization. 2020. World Malaria Report, 2019. WHO. Switzerland.

Sai Koteswar Sarma D, Venkata Suresh Babu A. Pharmacognostic and phytochemical studies of *Thespesia populnea* linn. J Chem Pharm Res. 2011;3(4):237-44. 7.

- O Nurcahyanti, A Sudaryono, ML Firdaus.2014. Uji aktivitas antimalaria ekstrak daun baru laut (*thespesia populnea (l.) Soland ex correa*) pada *mus musculus* terinfeksi *plasmodium berghei* dan karakterisasi hasil isolasinya. Unib-Press
- Muthukumar S, Sami Veerappa N. Phytochemical analysis in the root and leaf of *Thespesia populnea* (Linn) Soland ex correa. J Pharmacogn Phytochem. 2018;7(1):414-1.
- Nugroho, Rudy Agung. 2018. Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium. Mulawarman University Press. Samarinda
- Hafid, fuad Achmad, Maharani Wahyuningtiyas, Aty Widyawaruyanti. 2011. *Model Terapi Kombinasi Ekstrak Etanol 80% Kulit Batang Cempedak (Artocarpus Champeden Spreng) dan Artesunat pada Mencit Terinfeksi Parasit Malaria*. Jurnal Indonesia Media Assoc. Volume 61. Nomor 4 April.2011. Departemen Farmakognosi dan Fitokimia. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Utami PD, Setianingsih H, Syafitri IF, Wiyono RP. The Anti-Malarial Effect of *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa Extract Using Malaria Mice Model Infected with *P. Phcogj.com berghei*.. Pharmacog J. 2021;13(2): 585-90.
- Baeti, devi nurul. 2010. *Efek terapi kombinasi klorokuin dan serbuk lumbricus rubellus terhadap ekspresi gen icam-1 pada mencit swiss Yang diinfeksi plasmodium berghei* anka.FK universitas sebelas maret. Surakarta (skripsi)
- Nyandwaro K, Oyweri J, Kimani F, Mbugua, A. Evaluating antiplasmodial and antimalarial activities of soybean (*Glycine max*) seed extracts on *P. falciparum* parasite cultures and *P. berghei* -infected mice. J. Pathog. 2020;2020:1-8.
- Parthasarathy R, Singh A, Bhowmik D. *In vitro* antioxidant activity of bark and leaf of *Thespesia populnea*. Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2016;8(1):1-5.
- Widyawaruyanti A, Astrianto D, Ilmi H, Tumewu L, SetyawanWidiastuti E, et al. Antimalarial activity and survival time of *Andrographis paniculata* fraction (AS202-01) on *Plasmodium berghei* infected mice. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2017;8(479):49-54.
-