



**Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Jumlah Eritrosit Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan BALB/c yang Diinokulasi *Plasmodium Berghei* Anka**

**AZARINE NEIRA AVISHA, PRAWESTY DIAH UTAMI**

*Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya  
Korespondensi: Azarine Neira Avisha, Fakultas Kedokteran Universitas  
Hang Tuah Surabaya, Jalan Gadung No. 1 Surabaya  
60244,neira.avisha@gmail.com*

## ABSTRAK

Malaria masih menjadi salah satu penyakit infeksi yang paling penting di negara tropis karena dapat menyebabkan anemia berat dan kematian. Dewasa ini, penatalaksanaan untuk malaria sendiri semakin terbatas karena adanya resistensi. Oleh sebab itu, diperlukan adanya penemuan senyawa baru untuk menanggulangnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan desain *post-test only control group* dengan menggunakan lima kelompok mencit. Satu kelompok mencit dibiarkan normal sedangkan empat kelompok lain diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA, dimana satu kelompok diberi aquades dan tiga kelompok diterapi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 150 mg/KgBB, 100 mg/KgBB, dan 50 mg/KgBB selama empat hari. Pada hari kelima dilakukan pemeriksaan darah untuk mengetahui jumlah eritrosit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 150 mg/KgBB dan 50 mg/KgBB menurun secara tidak bermakna. Sedangkan rerata jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 100 mg/KgBB menurun bermakna ( $p=0,004$ ).

**Kata Kunci:** Malaria, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), Eritrosit, *Plasmodium berghei* ANKA.

## **ABSTRACT**

Malaria is still one of the most important infectious diseases in tropical countries because it can cause severe anemia and death. Nowadays, the choice for treatment of malaria is increasingly limited due to drug resistance. Hence, require the invention of new compounds to overcome them. The objective of this research was to perceive the effect of curcuma (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) rhizome extract to the amount of erythrocytes in male BALB/c mice (*Mus musculus* L.) inoculated by *Plasmodium berghei* ANKA. This research was conducted experimentally with post-test only control group design using five groups of mice. One group was left normal while the other four groups were inoculated with *Plasmodium berghei* ANKA. From the groups inoculated with *Plasmodium berghei* ANKA, one group was given aquades and three other groups treated with curcuma (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) extract with dose of 150 mg/KgBB, 100 mg/KgBB and 50 mg/KgBB for four days. On the fifth day, a blood test is performed to determine the amount of erythrocytes. The results of this study indicate that the amount of erythrocytes in male BALB/c mice (*Mus musculus* L.) inoculated by *Plasmodium berghei* ANKA and given rhizome extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) at doses of 150 mg/KgBB and 50 mg/KgBB were insignificantly decreased. Whereas the amount of erythrocytes in male BALB/c mice (*Mus musculus* L.) inoculated by *Plasmodium berghei* ANKA and given rhizome extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) at doses of 100 mg/KgBB were significantly decreased.

**Keywords:** Malaria, Curcuma (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), Erythrocytes, *Plasmodium berghei* ANKA.

## PENDAHULUAN

Malaria adalah penyakit menular yang disebabkan *Plasmodium*, yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. *Plasmodium* yang terbawa masuk tersebut akan berkembang biak dalam sel darah merah. Malaria adalah penyakit menular utama di 91 negara endemis, yakni pada negara yang beriklim tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Secara global, angka mortalitas malaria diperkirakan telah menurun sebesar 62% antara tahun 2000-2015 dan sebesar 29% antara tahun 2010 dan 2015. Meskipun demikian, masih ada lebih kurang 3,2 miliar jiwa atau hampir separuh penduduk dunia yang berisiko tertular penyakit Malaria (Depkes, 2016; WHO, 2016).

Malaria disebabkan oleh infeksi *Plasmodium* yang masuk bersama air liur nyamuk yang mengandung parasit tersebut ketika menggigit manusia. *Plasmodium* yang menyebabkan malaria pada manusia yaitu *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, dan *P. falciparum*. Dari keempat species yang disebutkan di atas, *P. falciparum* merupakan parasit manusia yang dapat menimbulkan gejala paling serius dibandingkan yang lainnya. Hal ini disebabkan *P. falciparum* mampu membuat sel darah merah yang terinfeksi memiliki kemampuan sitoadherensi dan melekat pada sel endotel pembuluh darah. Akibatnya, sel darah yang mengalami perlekatan pada pembuluh darah ini tidak beredar kembali dalam sirkulasi dan parasit yang menempel pada sel darah merah tersebut terhindar dari proses

fagositosis di dalam lien. Apabila perlekatan eritrosit tersebut terjadi pada pembuluh darah yang kecil, maka dapat menyebabkan terjadinya peningkatan resistensi pembuluh darah dan dapat mengakibatkan arus mikrosirkulasi terhambat. Selain itu, *P. falciparum* dapat menginfeksi semua jenis eritrosit. Akibatnya jumlah eritrosit yang rusak oleh karena infeksi parasit akan meningkat (CDC, 2012; Dondorp *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2002).

Gejala utama yang muncul pada malaria diantaranya; malaise, sakit kepala, fatigue, rasa tidak nyaman pada perut, dan nyeri otot, kemudian diikuti oleh demam dan menggigil, splenomegali, serta anemia (Depkes, 2008).

Reaksi inflamasi pada malaria dipicu oleh pecahnya eritrosit yang terinfeksi dan mengeluarkan hemozoin, debris seluler, dan sisa metabolisme dari parasit menuju sirkulasi. Pecahnya eritrosit ini diikuti dengan munculnya demam yang hebat dan tersinkronisasi kecuali pada serangan primer (Bogitshet *al.*, 2013).

Anemia yang terjadi pada malaria disebabkan oleh rusaknya eritrosit akibat pemecahan hemoglobin yang kemudian menghasilkan heme bebas yang bersifat toksik bagi eritrosit sebagai inang *plasmodium*. Selain itu, jumlah eritrosit juga dapat mengalami penurunan pada kasus malaria dan menimbulkan anemia oleh karena terjadinya peningkatan penghancuran eritrosit oleh makrofag serta terjadinya penurunan produksi

eritrosit yang disebabkan adanya supresi produksi eritropoietin dan ketidakseimbangan sitokin (Chang & Stevenson, 2004; Menendez *et al.*, 2000).

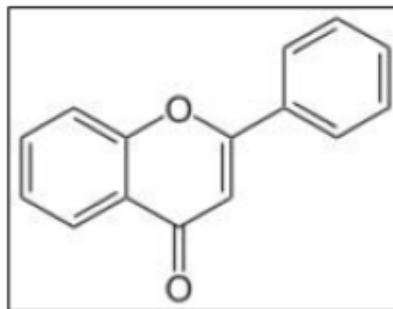
Terapi malaria diterapkan untuk mengurangi efek gejala klinis yang ditimbulkan oleh parasit *plasmodium* yang berada di dalam eritrosit. Banyak obat-obat antimalaria yang bekerja terutama ketika parasit berada dalam fase eritrositik. Masalah yang dihadapi saat ini adalah resistansi terhadap terapi malaria mulai muncul hampir di seluruh dunia. Oleh karena itu, pencarian antimalaria baru, baik itu sintetis maupun alami penting untuk membunuh parasit malaria (Somsak *et al.*, 2016).

Penggunaan ekstrak tanaman obat untuk terapi malaria sudah banyak dilakukan, baik itu secara *in vitro* maupun *in vivo* pada hewan coba dan menunjukkan hasil yang baik. Hal ini menjelaskan mengapa banyak penelitian saat ini fokus pada produk alami karena mudah didapat, tersedia secara lokal, dan dipilih atas dasar penggunaan farmakologisnya. Meskipun demikian, penerapan terapi ekstrak tanaman obat sebagai antimalaria pada manusia belum dilakukan (Somsak *et al.*, 2016).

*Curcuma xanthorrhiza* Roxb. atau yang umumnya dikenal sebagai temulawak merupakan tanaman famili *Zingiberaceae* yang banyak ditemukan terutama di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, DI Jakarta, Yogyakarta, Bali, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Kalimantan Barat dan Kalimantan Timur, Sulawesi Utara dan Sulawesi Selatan. Rimpang temulawak mengandung bahan aktif yang potensial untuk kesehatan

antara lain flavonoid, xanthorrhizol, kurkuminoid dan minyak atsiri. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa rimpang temulawak mempunyai efek antioksidan dan antimalaria (Rahardjo, 2010; Rosidi *et al.*, 2014).

Kandungan kimia dari temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) diantaranya adalah flavonoid dan kurkumin mempunyai peran sebagai antitumor, antioksidan, dan antiplasmodia. Flavonoid telah terbukti memiliki banyak zat-zat yang berguna, termasuk anti-inflamasi, estrogenic, enzim inhibisi, antimikroba, antialergi, antioksidan, dan antitumor sitotoksik (Savithramma, Rao & Bhumi, 2011).



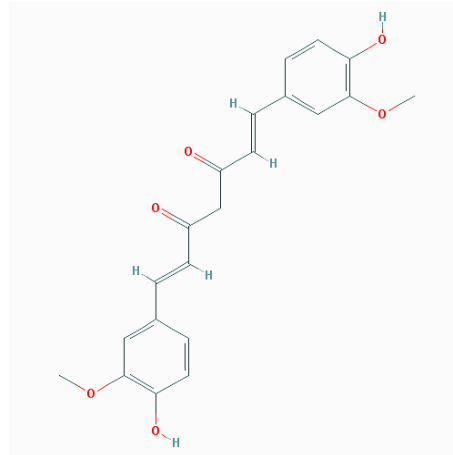
**Gambar 1 Struktur Dasar Flavonoid**

Flavonoid memiliki kemampuan antioksidan yang kuat karena dalam struktur kimianya terdapat lebih dari satu gugus fenol dan juga memiliki ikatan ganda yang terkonjugasi, dimana struktur ini diperlukan dalam mengikat radikal bebas. Mekanisme flavonoid dalam bertindak sebagai antioksidan yaitu karena flavonoid memiliki ikatan ganda yang berusaha distabilkan dengan cara mengambil atom hidrogen dari radikal

bebas ( $R\bullet$ ) yang ada dan membentuk flavonoid fenoksil ( $FIO\bullet$ ). Kemudian dapat menyerang radikal bebas yang lain dan menghilangkan ikatan ganda pada flavonoid, menstabilkan strukturnya dan menetralisasi radikal bebas (Aulanni'am, 2012; Setianingtyas, 2012).

Adanya kemampuan mengikat radikal bebas dan mencegah pembentukan radikal bebas mengindikasikan bahwa selain dapat digunakan sebagai antioksidan, flavonoid dapat digunakan sebagai antiinflamasi. Senyawa flavonoid sebagai antimikroba mampu menghambat pembentukan protein sehingga menghambat pertumbuhan mikroba. Flavonoid juga mampu merusak dinding sel sehingga menyebabkan kematian sel (Dermawaty, 2015).

Kurkumin merupakan senyawa sekunder dari kelompok fenol yang dapat ditemukan dalam temulawak. Ferulic acid dan caumaric acid merupakan precursor kurkumin. Kedua senyawa ini merupakan senyawa flavonoid yang berbeda dengan senyawa flavonoid lain yang prekursornya terdiri atas asam sinamat, stilbenes dan xanthone (Vickery and Vickery, 1981, disitasi dalam Wardiyati *et al.*, 2012).



**Gambar 2** Struktur Kimia Kurkumin

(Sumber: PubChem-NCBI, 2004)

Gugus kimia penting yang terdapat pada kurkumin yakni gugus hidroksi fenolik dan  $\beta$  diketon. Terdapat 2 gugus hidroksi fenolik pada senyawa kurkumin yang berperan menangkap radikal bebas pada fase pertama mekanisme antioksidatif. Sedangkan gugus  $\beta$  diketon berfungsi sebagai penangkap radikal bebas pada fase berikutnya (Reddy *et al.*, 2005).

Disebutkan dalam Haddad *et al.* (2011) bahwa kurkumin bermanfaat sebagai antiplasmodial dengan meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif yang menghambat aktivitas *plasmodial histone acyltransferase*.

Dalam penelitian Reddy *et al.* (2005) disebutkan bahwa kemungkinan kurkumin dan artemisinin bertindak melalui mekanisme serupa. Kurkumin tampaknya merupakan molekul antimalaria yang ideal terutama untuk digunakan dalam kombinasi dengan antimalaria seperti



artemisinin, tidak hanya untuk mengatasi masalah biaya tinggi, namun juga untuk mengatasi resistensi obat (Reddy *et al.*, 2005).

Selain dua kandungan tersebut, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) juga mengandung zat-zat lain seperti pati, protein, abu, minyak atsiri, tanin, turmerol, borneol, dan xanthorizol (Dermawaty, 2015).

Pada penelitian yang dilakukan Murnigsih *et al.*(2005) secara *in vitro*, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. memiliki efek inhibisi terhadap *Plasmodiumfalciparum* sebesar 89,6% sampai 100%. Reddy *et al.* (2005) membuktikan bahwa pemberian kurkumin 100mg/KgBB/hari secara oral selama 5 hari pada mencit yang terinfeksi parasit malaria (*Plasmodium berghei* ANKA) mengurangi parasitemia darah sebesar 80-90% dan meningkatkan kelangsungan hidup mencit yang terinfeksi.

Berdasarkan informasi yang didapat mengenai *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. sebagai terapi malaria maka penulis melakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA.

## **METODE**

### **Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan data pada penelitian ini hanya diambil satu kali pada akhir penelitian sehingga rancangan penelitian yang digunakan yakni *Post test Only Control Group Design*. Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* L.)

jantan BALB/c yang diperoleh dan dirawat di Laboratorium *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga. Strain *Plasmodium berghei* ANKA yang akan diinokulasikan pada hewan coba juga didapat dari *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga. Uji kelayakan etik pada penelitian ini diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Universitas Hang Tuah Surabaya (No. 1/HC/EC/KEPUHT/2017).

### **Karakteristik Sampel**

Sampel yang dipakai adalah mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c berumur 7-9 minggu dikarenakan mencit dikatakan dewasa ketika mencapai  $\pm 50$  hari. Mencit dewasa memiliki kondisi tubuh yang lebih baik dibandingkan dengan mencit dengan usia  $< 7$  minggu (49 hari) atau  $> 9$  minggu (63 hari). Berat rata-rata mencit usia 7-9 minggu berkisar antara 18-30 gram. Dipilih mencit jantan dengan alasan kondisi biologisnya stabil bila dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi masa siklus estrus.

*Plasmodium berghei* ANKA adalah *Plasmodium* yang dapat menyebabkan malaria pada rodensia. *P. berghei* ANKA digunakan pada penelitian ini karena memiliki kesamaan sifat dasar biologis dan sensitifitas terhadap obat-obatan dengan spesies malaria yang menginfeksi manusia, terutama *Plasmodium falciparum*.

### **Besar Sampel**

Dalam penelitian digunakan 5 kelompok, besar sampel yang digunakan untuk masing-masing kelompok adalah minimal 5 ekor mencit

sehingga besar sampel yang digunakan pada seluruh kelompok adalah 25 ekor sampel mencit.

### **Pembuatan ekstrak rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.**

Rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dicuci bersih, kemudian dipotong-potong kecil, kemudian dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven untuk mempercepat pengeringan. Pembuatan sediaan ekstrak rimpang temulawak dilakukan dengan cara maserasi.

Maserasi simplisia kering rimpang temulawak dilakukan dengan menggunakan etanol 96%. Perendaman dilakukan selama selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Ekstrak yang dihasilkan disaring dengan sehingga diperoleh filtrat. Residu dimaserasi ulang dengan cara yang sama sebanyak empat kali.

Ekstrak etanol temulawak yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam oven agar etanol menguap dan yang lebih banyak tertinggal adalah senyawa yang terkandung di dalam temulawak seperti kurkumin, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri (Rosidi *et al.*, 2014; Fitrianda, 2015).

### **Pembuatan larutan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.**

Pembuatan larutan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dilakukan dengan cara mencampurkan ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dengan larutan Tween 80 1% sebagai pelarut. Pemberian larutan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. per haridilakukan dengan cara disondekan dengan sonde intragastrik.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Reddy *et al.*, (2005) menggunakan mencit yang diinokulasi *P.berghei* dengan dosis 100mg/KgBB, menunjukkan bahwa kurkumin dapat menurunkan kadar parasitemia darah sebesar 80-90%. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan dosis *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. sebesar 150 mg/KgBB mencit/hari, 100 mg/KgBB mencit/hari, dan 50 mg/KgBB mencit/hari dengan harapan semakin tinggi dosis yang digunakan, akan tercapai hasil yang signifikan.

1. Cara pembuatan larutan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.  
(Yasmine, 2009)

**a. Dosis 150 mg/KgBB**

$$\frac{20 \text{ gram mencit}}{1000 \text{ gram mencit}} \times 150 \text{ gram larutan} = 3 \text{ mg larutan uji}$$

Ket: 3mg larutan tersebut untuk 1 ekor mencit dgn BB  
20 gram

Untuk 6 ekor mencit yang diterapi sehari sekali selama empat hari, dibutuhkan bahan uji sebanyak:

$$6 (\text{ekor}) \times 4 \text{ hari} \times 3 \text{ mg} = 72 \text{ mg bahan uji}$$

Volume larutan uji yang harus dibuat untuk 6 ekor mencit yang diterapi seharisekali selama empat hari (diasumsikan 20 gram mencit akan disonde 200 $\mu$ l) adalah:

$$6 (\text{ekor}) \times 4 \text{ hari} \times 200 \mu\text{l} = 4800 \mu\text{l} = 4,8 \text{ ml}$$

Dalam penelitian ini, dibuat larutan uji sebanyak 10 ml, sehingga diperlukan bahan uji sebanyak:

$$\frac{10 \text{ ml}}{4,8 \text{ ml}} \times 72 \text{ mg bahan uji} = 150 \text{ mg} = 0,15 \text{ gram}$$

#### **b. Dosis 100 mg/KgBB**

Dengan cara perhitungan yang sama, maka untuk dosis ini, diperlukan bahan uji sebanyak 100 mg atau 0,10 gram.

#### **c. Dosis 50 mg/KgBB**

Dengan cara perhitungan yang sama, maka untuk dosis ini, diperlukan bahan uji sebanyak 50 mg atau 0,05 gram.

2. Kadar larutan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. yang diinginkan adalah 0,2 cc untuk disondekan pada tiap mencit dengan BB 20 gram. Kadar ini disesuaikan dengan kapasitas lambung mencit yang berkisar antara 1 ml. Pemberian larutan secara intragastrik sebaiknya tidak melebihi setengah dari kapasitas lambung mencit. Hal ini dilakukan untuk mencegah adanya reflux karena mencit juga membutuhkan ruang pada lambungnya untuk makanan dan minuman (Moriwaki *et al.*, 1994).

### **Tahap Inokulasi**

Mencit yang dipakai terdiri dari 5 kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c berumur 7-9 minggu yang sudah diaklimatisasi sebelumnya. Dari 5 kelompok tersebut, satu kelompok tidak diinfeksi sedangkan empat kelompok lainnya diinokulasi parasit *Plasmodium berghei* ANKA sehingga terinfeksi (dianggap sebagai hari ke-0) dan kemudian dikelompokkan secara acak. Malaria diinduksi dengan menyuntikkan darah donor dari mencit yang menderita malaria dan mengandung parasit *Plasmodium berghei* ANKA secara intraperitoneal sebanyak 0.5 ml. Setelah itu, dilakukan pemeriksaan kadar parasitemia dalam darah mencit setiap hari hingga ditemukan adanya parasit pada hapusan darah mencit yang menunjukkan parasit positif. Setelah itu dilakukan penimbangan untuk menentukan dosis ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang akan diberikan.

## Tahap Perlakuan

Perlakuan pada kelima kelompok pada penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut :

1. **Kelompok pertama (Kontrol negatif)** terdiri dari 5 mencit (*Mus musculus* L.) BALB/c yang normal dan diberi pakan dan minum standard serta sonde aquades.
2. **Kelompok kedua (Kontrol positif)** terdiri dari 5 mencit (*Mus musculus* L.) BALB/c yang diinokulasi *P. berghei* ANKA yang diberi pakan dan minum standart serta sonde aquades.
3. **Kelompok ketiga (kelompok perlakuan 1)** terdiri dari 5 mencit (*Mus musculus* L.) BALB/c yang diinokulasi *P. berghei* ANKA diberi pakan dan minum standard dan mendapatkan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 150 mg/KgBB/hari secara sonde intragastrik setiap hari selama 4 hari berturut-turut.
4. **Kelompok keempat (kelompok perlakuan 2)** terdiri dari 5 mencit (*Mus musculus* L.) BALB/c yang diinokulasi *P. berghei* ANKA diberi pakan dan minum standard dan mendapatkan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 100 mg/KgBB/hari secara sonde intragastrik setiap hari selama 4 hari berturut-turut.
5. **Kelompok kelima (kelompok perlakuan 3)** terdiri dari 5 mencit (*Mus musculus* L.) BALB/c yang diinokulasi *P. berghei* ANKA

diberi pakan dan minum standard dan mendapatkan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 50 mg/KgBB/hari secara sonde intragastrik setiap hari selama 4 hari berturut-turut.

### **Tahap Pasca Perlakuan**

Pada hari kelima atau setelah 24 jam dari hari terakhir perlakuan, masing-masing mencit pada kelima kelompok tersebut dieuthanasia. Euthanasia dilakukan dengan anestesi menggunakan dietil ether kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan darah pada masing-masing mencit secara intrakardiak. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan darah untuk dilakukan perhitungan jumlah eritrositnya (Isbagio, 1992).

Setelah dilakukan pengambilan sampel darah menurut protokol, sisa tubuh hewan coba dibawa ke insenerator untuk dimusnahkan. Pemeriksaan darah untuk menghitung jumlah eritrosit mencit dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Hang Tuah Surabaya.

### **Cara Analisa Data**

Analisis statistik yang dilakukan adalah perbandingan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah eritrosit antara kelompok satu dengan yang lain.

Langkah analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



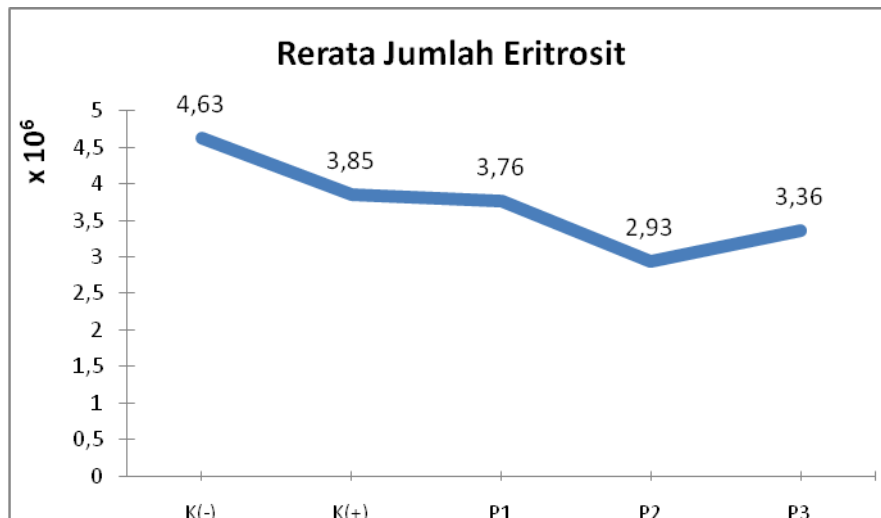
1. Analisis data penyebaran dan pemusatan data atau statistik deskriptif
2. Uji normalitas data dengan Saphiro Wilk untuk mengetahui apakah distribusi data normal.
3. Apabila datanya berdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji homogenitas varian.
4. Jika varian homogen maka dilakukan uji one-way ANOVA

Apabila pada uji normalitas data tidak berdistribusi normal dan pada uji homogenitas data tidak homogen, maka data tidak dapat dianalisa dengan uji one-way ANOVA, melainkan dengan uji non parametrik, yaitu uji Kruskall-Wallis. Bila pada uji Kruskall-Wallis menghasilkan  $p < 0,05$  (terdapat perbedaan yang bermakna), maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney U. Tingkat kemaknaan  $\alpha$  yang dipakai adalah 5 %. Semua analisa data diolah menggunakan SPSS for Windows.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit pada Kelompok Hewan Coba**

Hasil pemeriksaan rerata jumlah eritrosit masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada grafik 1.



**Grafik 1 Rerata Jumlah Eritrosit**

**Keterangan:**

- K(-) : Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diberi pakan standard dan mendapatkan sonde aquades (kontrol negatif).
- K(+): Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades (kontrol positif).
- P1 : Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 150 mg/KgBB/hari selama 4 hari berturut-turut.
- P2 : Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 100 mg/KgBB/hari selama 4 hari berturut-turut.
- P3 : Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 50 mg/KgBB/hari selama 4 hari berturut-turut.

## Analisa Data

Analisa data yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *One Way Anova*. Sebelum melakukan uji tersebut, perlu dipastikan bahwa data telah memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One Way Anova*.

## Uji Normalitas

Berdasarkan uji normalitas, nilai signifikansi (p) pada variabel jumlah eritrosit adalah 0,285. Dari nilai tersebut dapat terlihat bahwa nilai  $p > \alpha$ , dimana  $\alpha = 0,05$ , sehingga  $H_0$  diterima. Artinya, data berdistribusi normal.

### **Uji Homogenitas Varian**

Berdasarkan uji homogenitas varian, nilai signifikansi ( $p$ ) adalah 0,050. Dari nilai tersebut dapat terlihat bahwa nilai  $p \geq \alpha$ , dimana  $\alpha = 0,05$ , sehingga  $H_0$  diterima. Artinya, tidak ada varian data yang berbeda atau data homogen.

Karena kelompok yang digunakan lebih dari 2, data memiliki distribusi normal, dan memiliki varian data yang homogen, maka data tersebut memenuhi syarat uji statistika *One Way Anova*.

### **Uji One Way Anova**

Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai *asymptotic significances* ( $p$ ) = 0,001.

### **Uji Post Hoc**

Uji *Post Hoc* dilakukan untuk mengetahui adakah perbedaan bermakna pengaruh pemberian ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/C yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA. Hasil uji *Post Hoc* dapat dilihat dalam Tabel 1.

**Tabel 1 Hasil uji Post Hoc**

<i>P</i>					
Kelompok	K(-)	K(+)	P1	P2	P3
K(-)					
K(+)	0,011				
P1	0,005	0,756			
P2	0,001	0,004	0,008		
P3	0,001	0,097	0,169	0,143	

### **Pembahasan**

Berdasarkan data dalam Tabel 1, rerata jumlah eritrosit kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diberi pakan standard dan aquades ( $p=0,011$ ). Rerata jumlah eritrosit kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 150mg/KgBB juga menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diberi pakan standard dan aquades ( $p=0,005$ ).

Pada kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan yang diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 100mg/KgBB, rerata jumlah eritrositnya menurun secara bermakna

dibandingkan dengan kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diberi pakan standard dan aquades ( $p=0,001$ ). Pada kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 50mg/KgBB, rerata jumlah eritrositnya juga menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diberi pakan standard dan aquades ( $p=0,001$ ).

Pada hasil pemeriksaan jumlah eritrosit dari Grafik 1, secara deskriptif dapat diketahui bahwa rerata jumlah eritrosit pada kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades ( $3,85 \times 10^6$  per  $\text{mm}^3$ ) merupakan yang paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 150mg/KgBB ( $3,76 \times 10^6$  per  $\text{mm}^3$ ), kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 100mg/KgBB ( $2,93 \times 10^6$  per  $\text{mm}^3$ ), dan kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 50mg/KgBB ( $3,36 \times 10^6$  per  $\text{mm}^3$ ).

Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades tidak memiliki perbedaan rerata jumlah eritrosit yang bermakna dengan kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi

ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 150mg/KgBB, dibuktikan secara statistik pada uji *Post Hoc* dengan nilai  $p=0,756$ . Namun demikian, rerata jumlah eritrosit pada kelompok dosis 150mg/KgBB menurun.

Kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades juga tidak memiliki perbedaan rerata jumlah eritrosit yang bermakna dengan kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 50mg/KgBB dibuktikan secara statistik pada uji *Post Hoc* dengan nilai  $p=0,097$ . Rerata jumlah eritrosit pada kelompok yang diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 50mg/KgBB ini juga menurun.

Sedangkan jika dibandingkan antara kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades dengan kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 100mg/KgBB, terdapat perbedaan rerata jumlah eritrosit yang bermakna dengan nilai  $p=0,004$ . Meskipun demikian, rerata jumlah eritrosit kelompok mencit yang diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dosis 100mg/KgBB juga menurun.

Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) tidak dapat menaikkan rerata jumlah eritrosit pada mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA.

Mencit yang terinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA, di dalam eritrositnya terdapat parasit dalam bentuk merozoit yang menginvasi sel darah merah mengambil nutrisi dan merusaknya, kemudian melepaskan merozoit lainnya dan melanjutkan pertumbuhannya dengan merusak sel darah merah yang lain (CDC, 2012; Miller *et al.*, 2002).

Banyaknya sel darah merah yang rusak dapat mengakibatkan penurunan jumlah eritrosit. Penurunan jumlah eritrosit pada malaria dapat disebabkan oleh karena eritrosit yang terserang parasit hancur saat sporulasi. Fase sporulasi ini terjadi berulang-ulang karena eritrosit yang terinfeksi akan pecah dan melepaskan merozoit yang terkandung di dalamnya ke dalam aliran darah. Merozoit yang berada dalam aliran darah ini dapat menginfeksi eritrosit yang belum terinfeksi sehingga makin banyak eritrosit yang rusak dan terinfeksi (Dondorp *et al.*, 2000; Marthianti, 2006).

Penurunan jumlah eritrosit yang dapat bermanifestasi sebagai anemia ini dapat disebabkan oleh dua faktor utama yakni peningkatan destruksi eritrosit dan penurunan produksi eritrosit. Peningkatan penghancuran eritrosit disebabkan oleh: (1) *rupturnya pRBC (parasitized RBC)*; (2) *fagositosis dari eritrosit*, baik itu eritrosit yang mengandung parasit di dalamnya ataupun eritrosit yang belum terinfeksi; (3)

*hipersplenisme*, berkontribusi pada fase awal malaria akut dengan menghilangkan parasit dari eritrosit tanpa lisis atau ingesti dari eritrosit dengan konsekuensi masa hidup eritrosit tersebut menjadi lebih pendek; dan (4) *autoimmune extravascular hemolysis* (Menendez *et al.*, 2000).

Penurunan produksi eritrosit disebabkan oleh: (1) *erythroid hypoplasia*, selama parasitemia malaria akut, seperti pada inflamasi lainnya, pelepasan retikulosit tertunda, menunjukkan penekanan sementara terhadap respons normal eritropoietin. Efeknya mungkin dimediasi oleh faktor serum yang menekan pertumbuhan prekursor awal eritrosit, *burst-forming unit-erythron* (BFU-E) dan *colony forming unit-erythron* (CFU-E); (2) *supresi dari sintesis erythropoietin (EPO)*, kemungkinan disebabkan mediator inflamasi seperti *tumor necrosis factor* (TNF) yang menekan sintesis EPO pada orang dengan malaria; (3) *ketidakseimbangan sitokin*, kelebihan sitokin yang diinduksi oleh *T helper cell 1* (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) dan *nitric oxide* (NO) terlibat dalam patogenesis *cerebral malaria*, dan juga mekanisme depresi sumsum tulang, misal dengan terjadinya defek pada produksi eritrosit yang ditandai dengan kelainan morfologis (*diserythropoiesis*), dan *eritrophagocytosis* atau ingesti eritrosit oleh makrofag, yang apabila terjadi secara terus-menerus dapat menyebabkan anemia; (4) *infeksi yang bersamaan*, infeksi oleh *P. falciparum* dan infeksi sekunder sering terjadi sehingga menekan sistem kekebalan tubuh dan anemia berat dapat terjadi (Menendez, Fleming & Alonso, 2000).



Jika dibandingkan dengan seluruh kelompok mencit yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA, jumlah eritrosit pada kelompok mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA dan mendapatkan terapi aquades masih lebih tinggi. Pada Heinrich (2009) yang disitasi dalam Dermawaty (2015), sebagai antimikroba, disebutkan bahwa flavonoid ternyata juga memiliki kemampuan merusak dinding sel yang menyebabkan kematian sel, juga menghambat pembentukan protein sehingga menghambat pertumbuhan mikroba. Hal ini mungkin terjadi karena kelompok kontrol positif tidak mendapatkan efek dari bahan uji yakni ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang mengandung flavonoid yang juga memiliki kemampuan merusak dinding sel yang menyebabkan kematian sel. Selain flavonoid kandungan senyawa lain seperti senyawa tanin dalam temulawak juga dapat merusak membran sel, sehingga pada kelompok kontrol positif (K+) yang tidak diberi ekstrak temulawak ini tidak banyak eritrosit yang rusak oleh karena efek terapi(Dermawaty, 2015).

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil uji analisa data statistik dan interpretasi hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Infeksi *Plasmodium berghei* ANKA dapat menurunkan jumlah eritrosit pada mencit (*Mus musculus*L.) jantan BALB/c secara bermakna.

2. Pemberian ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 150mg/KgBB pada kelompok mencit menurunkan jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA secara tidak bermakna dengan nilai  $p=0,756$ .
3. Pemberian ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 100mg/KgBB pada kelompok mencit menurunkan jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA secara bermakna dengan nilai  $p=0,004$ .
4. Pemberian ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan dosis 50mg/KgBB pada kelompok mencit menurunkan jumlah eritrosit mencit (*Mus musculus* L.) jantan BALB/c yang diinokulasi *Plasmodium berghei* ANKA secara tidak bermakna dengan nilai  $p=0,097$ .

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Bland, J.M. (2000) An Introduction to Medical Statistics, 3rd edition. Oxford: Oxford University Press. 137–155.
- Bogitsh, B.J., Carter, C.E. & Oeltmann, T.N. (2013) *Human Parasitology 4th Edition*. Elsevier.
- Cambos, M. & Scorza, T. (2011) Robust erythrophagocytosis leads to macrophage apoptosis via a hemin-mediated redox imbalance: role in hemolytic disorders. *Journal of leukocyte biology*. [Online] 89 (January), 159–171. Available from: doi:10.1189/jlb.0510249.
- CDC (2012) CDC --- Malaria --- About Malaria --- Biology --- Malaria Parasites. USA Government. [Online]. Available from: <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/parasites.html>.
- Chang, K.H. & Stevenson, M.M. (2004) Malarial anaemia: Mechanisms

and implications of insufficient erythropoiesis during blood-stage malaria. *International Journal for Parasitology*. [Online] 34 (13–14), 1501–1516. Available from: doi:10.1016/j.ijpara.2004.10.008.

Depkes (2016) *InfoDatin Malaria 2016*.

Depkes (2008) *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*.pp.1–37.

Dermawaty, D.E. (2015) Potential Extract Curcuma ( Curcuma xanthorrhizal , Roxb ) As Antibacterial. *Majority*. 4, 5–11.

Dondorp, A.M., Kager, P.A., Vreeken, J. & White, N.J. (2000) Abnormal blood flow and red blood cell deformability in severe malaria. *Parasitology today (Personal ed.)*. [Online] 16 (6), 228–232. Available from: doi:10.1016/S0169-4758(00)01666-5.

Fitrianda, E. (2015) Aktivitas Anti Diabetes dan Anti Dislipidemia Dari Kombinasi Ekstrak Buah Rimbang (*Solanum torvum swartz*) dan Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) pada Mencit Diabetes yang diinduksi Aloksan. *Scientia*. [Online] 5 (2), 122–127. Available from: <http://www.jurnalscientia.org/index.php/scientia/article/view/33/40>.

Haddad, M., Sauvain, M. & Deharo, E. (2011) Curcuma as a parasitocidal agent: A review. *Planta Medica*. [Online] 77 (6), 672–678. Available from: doi:10.1055/s-0030-1250549.

Isbaggio, D.W. (1992) *Euthanasia.Pdf*.

Marthianti, A. (2006) Pengaruh Pemberian Ekstrak Batang *Tinospora crispa* Dibandingkan Dengan Kloroquin Terhadap Jumlah Eritrosit Mencit Swiss Yang Diinfeksi Plasmodium berghei. *Universitas Diponegoro Semarang*.

Menendez, C., Fleming, A.F. & Alonso, P.L. (2000) Malaria-related anaemia. *Parasitology Today*. [Online] 16 (11), 469–476. Available from: doi:10.1016/S0169-4758(00)01774-9.

Miller, L.H., Baruch, D.I., Marsh, K. & Doumbo, O.K. (2002) The pathogenic basis of malaria. *Nature*. [Online] 415 (6872), 673–679. Available from: doi:10.1038/415673a.

Moriwaki, K., S., T. & Y., H. (1994) *Genetics in Wild Mice*.

Murnigsih, T., Subeki, Matsuura, H., Takahashi, K., et al. (2005) Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *The Journal of veterinary medical science / the*

- Japanese Society of Veterinary Science*. [Online] 67 (June 2016), 829–831. Available from: doi:10.1292/jyms.67.829.
- Purba, E.R. & Martosupono, M. (2009) Kurkumin sebagai senyawa antioksidan. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains*. IV (No.3), 607–621.
- Rahardjo, M. (2010) Penerapan SOP Budidaya Untuk Mendukung Temulawak Sebagai Bahan Baku Obat Potensial. *Perspektif*. [Online] 9 (2), 78–93. Available from: doi:ISSN : 1412-8004.
- Reddy, R.C., Vatsala, P.G., Keshamouni, V.G., Padmanaban, G., et al. (2005) Curcumin for malaria therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. [Online] 326 (2), 472–474. Available from: doi:10.1016/j.bbrc.2004.11.051.
- Rosidi, A., Khomsan, A., Setiawan, B., Riyadi, H., et al. (2014a) Potensi Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) sebagai Antioksidan. *Prosiding hasil-hasil Seminar Nasional*. (1995).
- Rosidi, A., Khomsan, A., Setiawan, B., Riyadi, H., et al. (2014b) POTENSI TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) SEBAGAI ANTIOKSIDAN. *Prosiding hasil-hasil Seminar Nasional*. (1995).
- Savithramma, N., Rao, M.L. & Bhumi, G. (2011) *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 3 (5), 28–34.
- Somsak, V., Polwiang, N. & Chachiyo, S. (2016) In Vivo Antimalarial Activity of *Annona muricata* Leaf Extract in Mice Infected with *Plasmodium berghei*. *Journal of pathogens*. [Online] 2016, 3264070. Available from: doi:10.1155/2016/3264070.
- Tjitra, E. (2005) Pengobatan Malaria dengan Kombinasi Artemisinin. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 33 (2), 53–61.
- Wardiyati, T., Kuswanto, K. & Azizah, N. (2012) Yield and Curcumin Content Stability of Five UB Clones of Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *AGRIVITA*. 34 (3).
- WHO (2016) *Malaria*. [Online]. 2016. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/> [Accessed: 8 March 2017].
- Yasmine, R. (2009) *Pengaruh Ekstrak Buah Merah (Pandanus Conoideus Lam.) terhadap Penurunan Kadar SGPT Plasma Darah Tikus Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus L.) yang diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl4)*. Universitas Maranatha.