

# ANALISIS PERANAN TANAMAN HERBA MENIRAN SEBAGAI ANTIMALARIA TERHADAP PERTUMBUHAN *PLASMODIUM BERGHEI* DALAM KULTUR *IN VIVO* PADA MENCIT

I Nyoman Latra, dan Emil Amalia Fauzi  
Jurusan Statistika FMIPA, ITS Sukolilo Surabaya

**Abstract.** Malaria disease is a parasite's infection disease that can infect healthy human through Anopheles mosquito bite that contains parasite. In this modern century, traditional medicines has grown better whether in it's purpose or it's presentation. Meniran herb plant (*Phyllanthus Niruri* Linn) is one of plants that can be used tradisionally where it contains a compound from alkaloid's, flavonoid's, and lignan's group. Several researches show that the group compounds has an antimalaria activity. The objectives of this research are to detect the influence of dosages, and days factors and their interaction to parasitemia Plasmodium Berghei percentage in extract test of meniran herb plant with metanol solvent that experimented in "in vivo" culture on mice (*Mus Musculus*). The objectives is to determine optimal dosage (percentage) in diffusing parasitemia growth. From examination and discussion result that both factors are inspected with its dosages, days, and their interaction influence significantly to parasitemia percentage. Refer to diffusing percentage, the highest percentage in 800.128 mg/kg mouse WG dosage is 61.82%. So it can be explained that 800.128 mg/kg mouse WG dosage are optimal to diffusing 6182 parasitemia growth for every 10000 eritrosit in mouse's body.

**Keywords:** Factorial Design, Restriction.

## 1. PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan suatu hal yang sangat penting dari kehidupan manusia. Oleh karena itu kesehatan menjadi salah satu bagian penting dari pembangunan nasional. Penyakit malaria adalah penyakit infeksi parasit yang dapat menular kepada manusia sehat melalui gigitan nyamuk *Anopheles* yang mengandung parasit. Jelas pada penularan penyakit malaria yang berperan selain faktor parasit juga faktor manusia (*host*) dan nyamuk *Anopheles* (*vektor*) beserta lingkungan biologik dan lingkungan fisik [12].

Secara umum penyakit malaria masih merupakan salah satu masalah kesehatan di Indonesia, terutama di daerah pedesaan di luar Jawa-Bali. Masalah malaria diperkirakan akan menjadi kendala bagi keberhasilan program pembangunan yang saat ini sedang dilaksanakan, mengingat bahwa hal ini mengakibatkan kelemahan fisik bagi penderita.

Berdasarkan beberapa penelitian di bidang farmasi, tanaman alam Indonesia

dapat berperan sebagai obat-obatan tradisional dimana dalam kegunaan maupun penyajiannya mengalami perkembangan dari tahun ke tahun. Obat-obatan tersebut merupakan warisan nenek moyang yang digunakan secara turun temurun dan sudah begitu banyak beredar di masyarakat, meskipun penelitian mengenai tumbuhan alam Indonesia terus berlanjut namun sampai saat sekarang masih banyak tumbuhan yang belum diketahui khasiatnya, khususnya tumbuhan yang digunakan secara tradisional sebagai antimalaria.

Tanaman herba meniran merupakan salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat untuk mengobati berbagai macam penyakit, antara lain adalah sebagai obat sakit perut, penyakit empedu, obat penolak demam, dan antimalaria. Tanaman tersebut mengandung senyawa dari golongan alkaloid, flavonoid serta lignan [5]. Dari hasil penelitian ditunjukkan bahwa senyawa-senyawa dari golongan tersebut mempunyai aktivitas sebagai antimalaria, oleh karena itu dianggap perlu

untuk meneliti bagaimana pengaruh tanaman herba meniran dalam bentuk ekstrak dengan pelarut metanol terhadap pertumbuhan parasitemia pada mencit secara kultur *in vivo*. Data yang digunakan adalah data sekunder hasil penelitian mahasiswa jurusan farmasi UNAIR sehingga taraf (*level*) dosis dan hari telah ditetapkan mengikuti penelitian tersebut.

Secara umum hasil penelitian ini akan memberikan informasi ilmiah tentang tanaman herba meniran sebagai dasar pengembangan obat malaria, yang merupakan tanaman asli Indonesia.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

Dalam mempelajari atau memahami suatu fenomena yang terjadi diperlukan adanya penelitian ilmiah. Pelaksanaan penelitian dapat berupa survei, percobaan atau bahkan pengamatan saja. Untuk itu diperlukan perencanaan atau perancangan yang betul-betul memadai sehingga kesimpulan yang dihasilkan diharapkan dapat mewakili populasi yang diteliti [8]. Rancangan percobaan merupakan suatu rancangan atau prosedur dengan menempatkan perlakuan ke dalam satuan-satuan percobaan sehingga diperoleh data yang memenuhi persyaratan sesuai yang diinginkan, dengan harapan bisa menjawab tujuan penelitian.

### 2.1. Rancangan Faktorial

Rancangan faktorial merupakan percobaan yang mengikutkan dua faktor atau lebih dengan beberapa taraf pada setiap faktor dimana semua taraf tersebut disilangkan/ dikombinasikan dengan semua taraf dari faktor lain dalam percobaan. Faktor tertentu dikatakan berpengaruh jika ada perbedaan yang nyata antar taraf dalam faktor.

#### 2.1.1 Rancangan Faktorial-Dua Faktor

Ambil percobaan dalam rancangan faktorial dua faktor, terdiri atas faktor A yang memuat  $a$  taraf dan faktor B yang memuat  $b$  taraf. Untuk mempertajam anali-

sis diperlukan ulangan bagi setiap kombinasi perlakuan sebanyak  $n$  kali.

Rancangan faktorial dua faktor dapat dijelaskan dalam suatu model dengan interaksi sebagai berikut.

Model:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}, \quad (2.1)$$

dengan

$$i = 1, 2, \dots, a;$$

$$j = 1, 2, \dots, b;$$

$$n = 1, 2, \dots, n.$$

Dalam bentuk matriks, model (2.1) dapat ditulis sebagai

$$y = [X_1 X_2 X_3 X_4] \gamma + e, \quad (2.2)$$

dimana,  $X = [X_1 X_2 X_3 X_4]$  (matriks rancangan) dan  $\gamma = [\mu, \tau, \beta, (\tau\beta)]'$ .

Menduga parameter model dengan hasil yang tunggal dibutuhkan beberapa batasan (*restriction*) pada tiap parameter model sebagai berikut.

- a) Tidak ada batasan untuk  $\mu$  (rata-rata keseluruhan) karena  $X_1 = 1$  mempunyai rank penuh.
- b) Rank  $X_2 = a$ , sama dengan rank  $[X_1 X_2] = a$  sehingga perlu satu batasan agar orthogonal antara  $X_1$  dan  $X_2$  yaitu:

$$X_1' X_2 \tau = n \sum_{i=1}^a \tau_i = 0 \quad \text{atau} \quad \sum_{i=1}^a \tau_i = 0 \quad (2.3)$$

- c) Rank  $X_3 = b$ , akan tetapi rank  $[X_1 X_2 X_3] = (a+b-1)$  sehingga perlu satu batasan lagi untuk  $\beta$  yaitu:

$$\sum_{j=1}^b \beta_j = 0 \quad (2.4)$$

mengingat

$$[X_1 X_2] X_3 = \begin{bmatrix} an & an & \dots & an \\ n & n & \dots & n \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ n & n & \dots & n \end{bmatrix}$$

mempunyai rank = 1.

- d) Rank  $X_4$  adalah  $(ab)$  sedangkan rank  $X$  adalah  $(ab-1)$  sehingga batasan bagi interaksi  $(\tau\beta)$  ada sebanyak  $(a+b)$ .

Dari  $\gamma = [X_1 X_2 X_3]' X_4 (\tau\beta) = 0$  diperoleh batasan yaitu:

$$\sum_{i=1}^a (\tau\beta)_{ij} = \sum_{j=1}^b (\tau\beta)_{ij} = 0. \quad (2.5)$$

Dugaan parameter  $\gamma=[\mu,\tau,\beta,(\tau\beta)]$  diperoleh dari persamaan normal

$$(X'X)\gamma=X'y, \tag{2.6}$$

bersama-sama dengan semua batasan (*restriction*) yang diperoleh di atas memberikan hasil sebagai berikut.

$$\left. \begin{aligned} \hat{\mu} &= \bar{Y}_{...} \\ \hat{\tau}_i &= \bar{Y}_{i..} - \bar{Y}_{...} \\ \hat{\beta}_j &= \bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{...} \\ (\hat{\tau\beta})_{ij} &= \bar{Y}_{ij.} - \bar{Y}_{i..} - \bar{Y}_{.j.} + \bar{Y}_{...} \end{aligned} \right\} \tag{2.7}$$

**2.1.2. Pengujian Pengaruh Faktor A, Faktor B, dan Interaksinya**

a) *Pengujian Pengaruh Faktor A*  
 Untuk mengetahui apakah ada bagian keragaman pengamatan yang diakibatkan oleh faktor A, maka diambil hipotesis

$$H_0 : \tau_i = 0, \\ H_1 : \text{minimal ada satu } \tau_i \neq 0.$$

Statistik Uji:  $F_{hitung} = MS_A / MS_E$  menyebar  $F_{(a-1,ab(n-1))}$  non sentral.  
 Daerah Penolakan bagi  $H_0$  adalah

$$F_{hitung} > F_{tabel}(\alpha; (a-1); ab(n-1)).$$

b) *Pengujian pengaruh faktor B*  
 Dengan jalan serupa, untuk bagian keragaman pengamatan yang diakibatkan oleh faktor B, hipotesisnya adalah

$$H_0 : \beta_j = 0, \\ H_1 : \text{minimal ada satu } \beta_j \neq 0.$$

Statistik Uji:  $F_{hitung} = MS_B / MS_E$  menyebar  $F_{(b-1,ab(n-1))}$  non sentral.  
 Daerah Penolakan bagi  $H_0$  adalah

$$F_{hitung} > F_{tabel}(\alpha; (b-1); ab(n-1)).$$

c) *Pengujian pengaruh interaksi antara faktor A dan B*

Untuk mengetahui apakah ada interaksi antara faktor A dan faktor B dengan kata lain apakah ada keragaman pengamatan yang diakibatkan oleh faktor A dan faktor B secara bersama, maka diambil hipotesis

$$H_0 : (\tau\beta)_{ij} = 0, \\ H_1 : \text{minimal ada satu } (\tau\beta)_{ij} \neq 0.$$

Statistik Uji:  $F_{hitung} = MS_{AB} / MS_E$  menyebar  $F_{((a-1)(b-1),ab(n-1))}$  non sentral.

Daerah Penolakan bagi  $H_0$  adalah  $F_{hitung} > F_{tabel}(\alpha; (a-1)(b-1); ab(n-1)).$

**2.1.3 Analisis Sisaan**

Sisaan merupakan selisih antara nilai amatan dengan nilai dugaan bagi model yang diamati. Nilai sisaan dinyatakan secara matematis

$$\epsilon_i = Y_i - \hat{Y}_i ; i = 1,2,\dots,n.$$

Model yang baik sisaannya akan memenuhi asumsi identik, bebas dan menyebar normal dengan rata-rata 0 dan ragam  $\sigma^2$  [6].

Pemeriksaan asumsi identik dan bebas dilakukan dengan membuat plot antara sisaan ( $\epsilon_i$ ) terhadap nilai dugaan  $Y$  ( $\hat{Y}_i$ ). Sisaan dikatakan mempunyai ragam homogen dan bebas apabila data menyebar acak di sekitar rata-rata yang cenderung horizontal dalam selang yang hampir sama. Akan tetapi jika plot memberikan suatu pola tertentu seperti:

- a) berbentuk corong baik terbuka ke kiri maupun ke kanan atau terbuka kiri dan kanan maka asumsi kehomogenan ragam tidak terpenuhi,
- b) adanya tren (baik naik maupun turun) atau mengikuti pola dari suatu fungsi tertentu maka asumsi kebebasan sisaan tidak terpenuhi.

Asumsi kenormalan bisa dilihat dari hasil kurve plot normal. Jika plot ini cenderung membentuk garis lurus maka sisaan menyebar normal.

**2.2. Uji Perbandingan Rataan**

Uji perbandingan rata-rata dapat digunakan metode *Duncan*. Dalam metode ini, pengujian dilakukan dengan membandingkan selisih rata-rata mulai dari yang besar sampai dengan yang kecil terhadap tabel *Significant Ranges for Duncan's Multiple Range Test*.

Hipotesisnya adalah  $H_0 : \mu_i = \mu_j$  atau  $H_0 : \mu_i - \mu_j = 0,$   
 $H_1 : \mu_i \neq \mu_j$   $H_1 : \mu_i - \mu_j \neq 0 ; i > j.$   
 Statistik Uji hipotesis,

$$R_{hit} = \bar{y}_i - \bar{y}_j, \quad i > j.$$

Dengan daerah penolakan bagi  $H_0$ , adalah

$$R_{hit} > R_p,$$

$$\text{dimana, } R_p = r_{\alpha(p,f)} \sqrt{\frac{MS_e}{n}}. \quad (2.8)$$

### 2.3. Pendugaan Data Percobaan Yang Hilang

Seringkali dalam percobaan yang dilakukan terdapat pengamatan yang hilang dan tidak bisa diperoleh karena rusak, mati atau karena hal lain. Untuk mengatasi hal ini, maka data diganti dengan pendugaannya [6].

Jika yang hilang satu nilai (data) pengamatan katakanlah dalam factor A untuk yang ke- $i$ , dalam factor B untuk yang ke- $j$  maka

$$\hat{y}_{ij} = \frac{a \sum_{j=1}^b y_{ij} + b \sum_{i=1}^a y_{ij} - \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b y_{ij}}{(a-1)(b-1)}. \quad (2.9)$$

Apabila terdapat lebih dari satu nilai yang hilang maka untuk menduganya harus digunakan prosedur berulang sebagai berikut.

- 1) Menetapkan nilai dugaan untuk semua unit yang hilang kecuali satu unit.
- 2) Nilai satu unit ini dihitung dengan menggunakan persamaan (2.9).
- 3) Kemudian dihitung nilai untuk unit lain yang hilang.

### 2.4. Penyakit Malaria

Malaria adalah penyakit infeksi dengan demam berkala yang disebabkan oleh parasit bersel tunggal yaitu protozoa dan termasuk dalam genus *Plasmodium* yang ditularkan oleh sejenis nyamuk *Anopheles* ([13],[4])

### 2.5. Plasmodium Berghei

*Plasmodium Berghei* merupakan parasit penyebab malaria pada rodensia. Penelitian aspek parasitologi, kemoterapi, dan imunologi atau pengembangan vaksin penyakit malaria banyak menggunakan malaria pada rodent sebagai model. Hal ini diperkuat dengan adanya analisis molekuler yang menemukan persamaan antara malaria pada rodent tersebut dengan *Plasmodium Falciparum* yang menyerang manusia. Atas dasar inilah peneliti mengguna-

kan parasit pada rodensia sebagai model untuk pengujian aktivitas obat.

Dalam darah rodensia ada beberapa bentuk parasit yang bisa ditemukan yaitu: bentuk cincin, *tropozoit*, *skizon* dan *gametosit* ([11];[9]).

### 2.6. Tanaman Herba Meniran

Tanaman Herba Meniran secara morfologi mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: Perawakannya berupa semak yang tumbuh tegak dimana tingginya antara 50-100 cm. Batangnya berbentuk bulat, licin, tidak berambut dengan diameter  $\pm 3$  mm yang berwarna hijau pucat. Daunnya tunggal, berseling, dan berbentuk bulat telur atau bulat memanjang dengan panjang daun antara 5-10 mm, lebar daun 2,5-5 mm, ujung daunnya berbentuk bundar atau runcing, permukaan daun bagian bawah berbintik-bintik kelenjar yang berwarna hijau. Bunga keluar dari ketiak daun, dimana bunga jantan terletak di bawah ketiak daun, berkumpul antara 2-4 bunga, gagang bunga 0,5-1 mm, helaian bunga berbentuk bulat telur terbalik panjang antara 0,75-1 mm yang berwarna merah pucat sedangkan bunga betina letaknya di bagian atas ketiak daun dengan gagang bunga 0,75-1 mm, helaian mahkota bunga berbentuk bundar telur sampai bulat memanjang dengan tepi bunga berwarna hijau muda. Buahnya berbentuk bulat dan teksturnya licin dengan diameter 2-2,5 mm, warna hijau keunguan. Biji kecil keras berbentuk ginjal warna coklat. Akarnya tunggang, berwarna putih kotor.

Tanaman herba meniran tumbuh tersebar di seluruh Indonesia dengan ketinggian antara 1-1000 meter di atas permukaan laut. Penyebarannya luas meliputi: kawasan hutan bagian negara India, hutan Cina, Malaysia, Philipina, serta kawasan Australia.

Tumbuhan ini di Jawa lebih dikenal dengan nama meniran ijo, memeniran (di Sunda) sedangkan di Ternate lebih dikenal dengan nama gosau ma dungi dan di Malaka disebut sebagai dukung-dukung anak ([2];[5]).

## 2.7 Mencit

Mencit dengan nama latin *Mus Musculus* merupakan binatang percobaan yang banyak digunakan dalam penelitian biomedik modern, mengingat mencit memiliki ukuran yang cukup memadai, waktu persiapannya pendek dan mudah pemeliharaannya. Mencit peka terhadap penyakit-penyakit yang dialami manusia karena memiliki kemiripan struktur anatomi dengan manusia. Rataan hidup mencit adalah dua tahun, bahkan ada yang mencapai tiga tahun. Mencit sudah dewasa pada umur 35 hari. Berat badan mencit jantan dewasa antara 20–40 gram, sedangkan berat badan mencit betina dewasa antara 18–35 gram [5].

## 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1. Tempat, Bahan, dan Alat Penelitian

#### a) Tempat

Penelitian untuk pengumpulan data pengamatan dilakukan di Laboratorium Hewan Lantai 4 Jurusan Farmasi Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Februari hingga bulan Maret tahun 2003 oleh mahasiswa Jurusan Farmasi UNAIR, Veronika Sandra Lolita.

Sedangkan analisis data dilakukan di Lab. Komputasi Lantai 3 Jurusan Statistika FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya.

#### b) Bahan

Tanaman herba meniran, *Plasmodium Berghei*, mencit betina Balb C berbulu putih, pewarna giemsa, metanol, alcheiver, dapar fosfat (buffer), aqua bidestilata, oleum imersi, CMCNa 0,5%, DMSO 0,8 %

#### c) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi atas dua kelompok yaitu: alat milik Lab. Hewan Jurusan Farmasi Universitas Airlangga dan alat milik Lab. Komputasi Jurusan Statistika FMIPA ITS.

Alat milik laboratorium hewan Jurusan Farmasi UNAIR yang digunakan untuk penelitian ini, antara lain: gelas beker, erlenmeyer, timbangan, toples, gelas

ukur, rotavapor, batang pengaduk, maserator, penyaring buchner, mikroskop dengan gelas objek, tally counter, alat suntik 1 ml, gelas ukur, labu ukur, neraca analitik, lemari asam.

Alat milik Laboratorium Komputasi Jurusan Statistika FMIPA-ITS yang digunakan untuk penelitian ini, antara lain seperangkat komputer dengan menggunakan software statistika seperti minitab 13, SPSS 7.5 dan juga *microsoft office*.

### 3.2. Metode analisis

Penelitian ini mengikutkan dua faktor yaitu: faktor A (dosis) dengan enam taraf (50,008; 100,016; 200,032; 400,064; 800,128; dan 1000,16 mg/ kg BB mencit) dan faktor B (hari) dengan delapan taraf (hari ke-1, ke-2, ke-3, ke-4, ke-5, ke-6, ke-7, dan ke-8).

Adapun tahapan langkah penelitian adalah:

1. Pembuatan ekstrak metanol tanaman herba meniran
2. Menyiapkan sampel berupa Binatang Percobaan (mencit)
3. Penginfeksian ke mencit perlakuan dengan *Plasmodium Berghei*.
4. Penyiapan Suspensi Ekstrak Uji
5. Pembuatan Preparat Darah Tipis
6. Menghitung sediaan hapusan darah tipis dengan pembesaran 1000 kali
7. Pada bagian akhir juga dihitung prosentase parasitemia, yaitu sel darah merah atau eritrosit yang terinfeksi parasit malaria per jumlah eritrosit yang diamati.
8. Selain itu juga dihitung prosentase penghambatan, yaitu efektifitas ekstrak uji yang dapat dilihat melalui prosentase penghambatannya.

$$\text{Prosentase penghamb.} = \left[ 1 - \left( \frac{X_e}{X_k} \right) \right] \times 100 \%$$

dimana

$$X_e = \frac{\% \text{ rataaan pert. parasit dlm ekst. uji}}{\text{banyaknya ulangan}}$$

$$X_k = \frac{\% \text{ rataaan pert. parasit dlm kontrol}}{\text{banyaknya ulangan}}$$

#### 4. ANALISIS DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan dengan ulangan sebanyak tiga kali. Artinya setiap taraf dosis dikenakan pada tiga mencit yang dipilih secara acak dengan berat badan antara 20–30 gram. Sedangkan pada faktor hari dengan taraf sebanyak delapan diperlakukan pada mencit yang sama. Proses penyuntikan dosis terhadap mencit dilakukan tiap hari dengan operator yang berbeda.

Dalam bidang Farmasi, pengobatan yang dilakukan menjadi ideal apabila ada interaksi antara pemberian dosis dan lamanya waktu (hari) maka atas pertimbangan tersebut peneliti menganalisis pertumbuhan parasitemia dengan menggunakan rancangan percobaan factorial dua faktor yaitu dosis dan hari.

##### 4.1. Analisis Deskriptif Prosentase Parasitemia (Tiga Ulangan)

Rataan prosentase parasitemia adalah 16,719 artinya dengan pemberian ekstrak uji tanaman herba meniran dengan pelarut metanol, jumlah eritrosit yang terinfeksi sebanyak 16719 dari 100000 eritrosit dengan keragaman data yang cukup kecil yaitu 9,377. Rataan prosentase parasitemia terbesar jatuh pada dosis 50,008 mg/kg BB mencit, hal ini disebabkan oleh ukuran dosis pada perlakuan tersebut paling kecil yang mengakibatkan pertumbuhan parasitemianya menjadi besar, sedangkan rata-rata prosentase parasitemia yang paling kecil jatuh pada dosis 800,128 mg/kg BB mencit. Hal ini menjadi menarik untuk dianalisis selanjutnya karena dosis yang memberi prosentase parasitemia terkecil tidak pada ujung level dosis yang diamati.

Sedangkan untuk faktor hari terlihat bahwa semakin hari rata-rata prosentase parasitemia semakin bertambah.

##### 4.2. Analisis Ragam Dua Arah (Tiga Ulangan)

Hasil evaluasi untuk mengetahui pengaruh dosis pada ekstrak uji tanaman herba meniran dengan pelarut metanol terhadap pertumbuhan *Plasmodium Ber-*

*ghei* diperoleh nilai  $F_{hitung} = 359,69$  dengan  $P_{nilai} = 0$  lebih kecil dari taraf nyata  $\alpha$  yang digunakan dalam analisis ini yaitu sebesar 0,05. Artinya kita menolak hipotesis nol pada tingkat keyakinan 95 %. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa faktor dosis berpengaruh sangat nyata terhadap penghambatan tumbuhnya prosentase parasitemia. Serupa halnya untuk menganalisis apakah ada bagian ragam yang diakibatkan oleh faktor hari. Dari hasil perhitungan diperoleh  $F_{hitung} = 488,65$  dengan  $P_{nilai} = 0$  yang kelihatannya juga lebih kecil dari taraf nyata 5%. Artinya kita menolak hipotesis nol pada tingkat keyakinan 95 %, sehingga dapat disimpulkan bahwa faktor hari berpengaruh sangat nyata terhadap penghambatan tumbuhnya prosentase parasitemia.

Untuk menganalisis ada tidaknya pengaruh interaksi antara kedua faktor yaitu faktor dosis dan hari dengan  $F_{hitung} = 18,48$  dan  $P_{nilai} = 0$ , kelihatan masih lebih kecil dari taraf nyata  $\alpha = 5\%$  sehingga dapat disimpulkan bahwa interaksi faktor dosis dan faktor hari berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan parasitemia secara bersama-sama.

Berdasarkan hasil analisis ragam di atas dapat disimpulkan bahwa interaksi kedua faktor berpengaruh secara nyata. Demikian pula untuk masing-masing faktor baik dosis maupun hari berpengaruh sangat nyata terhadap prosentase pertumbuhan parasitemia dalam mencit dengan korelasi kuadrat sebesar 98,4 %.

##### 4.3. Pemeriksaan Asumsi Sisaan (Tiga Ulangan)

Namun sangat disayangkan bahwa dari analisis pemeriksaan asumsi sisaan untuk tiga ulangan kelihatannya tidak memenuhi ketiga asumsi yang disyaratkan (identik, bebas dan menyebar normal). Dengan melakukan observasi ulang pada data penulis menemukan banyak salah ukur untuk ulangan ketiga. Sehingga penulis mengindikasikan bahwa ada kesalahan yang dilakukan peneliti (*human error*)

yang kurang mendapat perhatian selama pemberian dosis antara lain:

Pada saat pemberian dosis, jarum suntik yang digunakan hanya satu untuk ketiga ulangan, hal ini sangat mungkin pada ulangan kedua dan ketiga berinteraksi dengan ulangan satu atau dua (sebelumnya), sehingga hal ini kurang menjamin kebebasan dosis antar ulangan. Di samping itu pada ulangan ketiga volume dosis paling sering tidak tepat, baik kekurangan atau kelebihan dari yang semestinya.

Atas dasar tersebut di atas peneliti menganulir ulangan ketiga. Dengan demikian proses berikutnya hanya dengan dua ulangan.

#### 4.4. Analisis Deskriptif Prosentase Parasitemia (Dua Ulangan)

Rataan prosentase parasitemia adalah 16,96 artinya dengan pemberian ekstrak uji tanaman herba meniran dengan pelarut metanol, jumlah eritrosit yang terinfeksi rataannya 1696 tiap 10000 eritrosit, dengan keragaman data yang cukup kecil yaitu 9,552. Di sini dapat dikatakan bahwa data polanya menyebar di sekitar garis rataannya. Rataan prosentase parasitemia terbesar jatuh pada dosis 50,008 mg/kg BB mencit. Hal ini disebabkan oleh volume pemberian dosis pada perlakuan pertama paling kecil sehingga mengakibatkan pertumbuhan parasitemianya menjadi besar, sedangkan rataannya prosentase yang paling kecil jatuh pada dosis 800,128 mg/kg BB mencit. Hasil ini relatif sama dengan yang tiga ulangan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pada dosis 800,12 mg/kg BB mencit menarik untuk dianalisis selanjutnya karena dosis yang memberi prosentase parasitemia terkecil tidak pada ujung level dosis yang diamati.

Pada faktor hari terlihat bahwa semakin hari rataannya prosentase parasitemianya semakin bertambah.

#### 4.4. Analisis Ragam Dua Arah (Dua Ulangan)

Hasil evaluasi untuk mengetahui pengaruh dosis dan hari pada ekstrak uji

tanaman herba meniran dengan pelarut metanol terhadap pertumbuhan *Plasmodium Berghei* dengan ulangan sebanyak dua kali terlihat besarnya  $F_{hitung} = 533,44$  dengan  $P_{nilai} = 0$  lebih kecil dari taraf nyata  $\alpha = 0,05$ , artinya menolak hipotesis nol pada tingkat keyakinan 95%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa faktor dosis berpengaruh sangat nyata terhadap prosentase pertumbuhan parasitemia. Dengan cara yang serupa dilakukan untuk menentukan apakah ada bagian ragam yang diakibatkan oleh faktor hari. Dari hasil perhitungan terlihat bahwa  $F_{hitung} = 723,85$  dengan  $P_{nilai} = 0$  lebih kecil dari taraf nyata 0,05. Dari sini dapat disimpulkan bahwa faktor hari berpengaruh sangat nyata terhadap prosentase pertumbuhan parasitemia.

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh interaksi antara kedua faktor yaitu faktor dosis dan hari, hasil perhitungan memperlihatkan bahwa  $F_{hitung} = 27,97$  dengan  $P_{nilai} = 0$  lebih kecil dari taraf nyata 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa interaksi faktor dosis dan hari berpengaruh secara nyata terhadap prosentase pertumbuhan parasitemia secara bersama-sama.

Berdasarkan hasil analisis ragam di atas dapat disimpulkan bahwa factor dosis, dan factor hari beserta interaksinya berpengaruh secara nyata terhadap prosentase pertumbuhan parasitemia dalam mencit. Kesimpulan ini sama dengan hasil analisis ragam untuk tiga ulangan.

Nilai korelasi kuadrat untuk dua ulangan (99,5%) lebih besar jika dibandingkan dengan nilai korelasi kuadrat pada tiga ulangan, artinya sekitar 99,5% keragaman data parasitemia (seluruh data ada sebanyak 96) dapat dijelaskan lewat model di atas.

#### 4.6. Pemeriksaan Asumsi Sisaan (Dua Ulangan)

##### a. Pemeriksaan Asumsi Identik

Salah satu cara untuk pemeriksaan asumsi identik dilakukan dengan membuat plot antara sisaan ( $\varepsilon_i$ ) terhadap nilai dugaan  $Y_i$  ( $\hat{Y}_i$ ). Untuk lebih meyakinkan keidentikan sisaan, maka dapat dilakukan pengu-

ujian dengan Uji *Bartlett*. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai statistik uji sebesar 52,231 dengan  $P_{\text{nilai}} = 0,278$  lebih besar dari taraf nyata  $\alpha = 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa sisaan memenuhi asumsi identik.

#### b. Pemeriksaan Asumsi Bebas

Asumsi lain yang harus dipenuhi oleh sisaan adalah asumsi bebas. Hal ini dapat diperiksa pada plot antara sisaan,  $(\varepsilon_i)$  dengan urutan data  $Y_i$ . Selain itu asumsi bebas dapat juga diperiksa lewat plot ACF, apabila ada urutan waktu pada pengamatan.

Dengan menggunakan plot ACF, terlihat bahwa ada dua nilai autokorelasi sisaan yang tepat sama dengan  $\frac{1,96}{\sqrt{96}} = 0,2$

dan tidak ada nilai autokorelasi yang melebihi 0,2 maka dapat disimpulkan bahwa sisaan memenuhi asumsi bebas atau tidak terjadi autokorelasi antar sisaan.

#### c. Pemeriksaan Sebaran Normal

Kenormalan data dapat diperiksa melalui tampilan *Normal Probability Plot*. Untuk lebih meyakinkan bisa melakukan pengujian atas kenormalan sisaan antara lain dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Dengan uji ini diperoleh hasil perhitungan

$D_{\text{hitung}} = 0,094 < D_{\text{tabel}} = 0,139$   
maka sisaan menyebar normal.

Dari analisis pemeriksaan asumsi sisaan di atas terlihat bahwa data memenuhi ketiga asumsi yaitu identik, bebas dan menyebar normal. Namun dari setiap plot sisaan terlihat ada dua data amatan yang menyimpang jauh dari titik nol. Kedua data tersebut terjadi pada dosis 100,016 mg/kg BB mencit pada hari ke-5. Hal ini bisa dipastikan bahwa pada hari tersebut penyuntikan dosis pada mencit tertukar, mengingat hasil pada nilai prosentase parasitemia yang satu sebesar 27,43 % dan yang satu lagi 20,62 %. Kedua nilai ini selisihnya cukup besar, sangat dimungkinkan penyuntikan dosis tertukar pada mencit ulangan kesatu dan kedua.

#### 4.7. Uji Perbandingan Rataan

Mengingat kedua factor dan interaksinya berpengaruh terhadap amatan percobaan maka perlu dilanjutkan dengan mencari perlakuan mana yang paling baik (optimum) untuk menjadi perhatian selanjutnya.

Dengan menerapkan metode *Duncan* disimpulkan bahwa semua pasangan dosis mempunyai rataan yang berbeda. Dari hasil ini terlihat bahwa dosis optimum pada dosis 800.128 mg/kg BB mencit, dengan kata lain pada dosis 800.128 mg/kg BB mencit prosentase parasitemia terkecil. Hal ini ditunjang pula oleh kenyataan bahwa pada dosis tersebut prosentase penghambatan pertumbuhan parasitemia terbesar.

Untuk factor hari, semua pasangan rataan terurut mulai dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-8, rataannya berbeda satu dengan yang lain. Dari semua pasangan tersebut, yang memiliki selisih paling tinggi adalah pasangan rataan hari ke-1 dengan hari ke-2, hal ini disebabkan oleh karena perlakuan baru dicobakan pada hari ke-2 sedangkan pada hari ke-1 mencit belum diberi pengobatan.

### 5. KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil analisis dan pembahasan yang telah dilakukan di atas dapat disimpulkan antara lain:

1. Pada ekstrak uji tanaman herba meniran, kedua faktor yang diamati yaitu dosis dan hari beserta interaksinya berpengaruh sangat signifikan terhadap prosentase pertumbuhan parasitemia penyakit malaria yaitu *Plasmodium Berghei* yang diuji cobakan pada mencit dalam kultur *in vivo*.
2. Dilihat dari prosentase penghambatannya dosis optimum pada 800,128 mg/kg BB mencit dengan nilai penghambatan sebesar 61,82 %.

## 5.2. Saran

Dari hasil pembahasan di atas, penulis menyarankan beberapa hal antara lain:

1. Semua mencit yang digunakan pada percobaan, sebelumnya harus dilakukan pengujian laboratorium guna mengetahui kondisi kehomogenan mencit baik secara eksternal (fisik seperti: berat badan, usia dan jenis makanan) maupun internal (kekebalan mencit terhadap zat-zat yang masuk seperti: dosis obat, dan kondisi sedang sakit), karena hal ini akan berpengaruh pada kondisi kehomogenan pada data prosentase parasitemia mencit yang diujikan secara *in vivo*.
2. Pada saat penelitian, jarum suntik yang digunakan harus berbeda untuk setiap mencit.
3. Penelitian lanjutan hendaknya dilakukan menggunakan metode campuran dengan mengikutsertakan faktor yang acak akibat kelengahan operator atau dengan menggunakan metode perlakuan berulang.
4. Mengingat pemilihan taraf untuk dosis, selangnya terlalu lebar dan tidak sama maka dianjurkan dan jika mungkin selang antar dosis lebih sempit dan sama sehingga bisa diselesaikan dengan lebih sederhana.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim, (1992), *Pedoman Rasionalisasi Komposisi Obat Tradisional*, Depkes RI: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- [2] Boesri, H., (1994), *Pemanfaatan Tanaman Dalam Penanggulangan Malaria*, Media Litbangkes, **4**(1): 20-21.
- [3] Depkes, (1995), *Materi Medika Indonesia*, Jilid V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- [4] Gandahusada, S. (1998), *Parasitologi Kedokteran*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal. **3**.
- [5] Lolita, V.S., (2003), *Uji Aktivasi Antimalaria Ekstrak Metanol Herba Meniran (Phyllanthus Niruri Linn) Pada Mencit Terinfeksi Plasmodium Berghei*, Skripsi, UNAIR, Surabaya.
- [6] Montgomery, D. C. (2001), *Design and Analysis of Experiment*, 5<sup>th</sup>, John Wiley And Sons, USA.,
- [7] Nasrullah, (1994), *Penggunaan Metode Statistika Untuk Ilmu Hayati*, Gadjah Mada University PRESS, Yogyakarta.
- [8] Safitri, I., Pusarawati, S., (2000), *Variasi Genetik Gen MSA 1 Blok 2 Plasmodium Falciparum di Daerah Endemis Malaria Propinsi Nusa Tenggara Timur*, Jurnal Penelitian Unair, Surabaya.
- [9] Siegel, S., (1992), *Statistik Non Parametrik*, P.T. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- [10] Sinden, R.E. (1997), *Infection of Mosquitoes with Rodent Malaria*, Chapman and Hall, London.
- [11] Soejoeti, S.Z., (1995), *Persepsi Masyarakat Mengenai Penyakit Malaria Hubungannya Dengan Kebudayaan dan Perubahan Lingkungan*, Media Litbangkes, **5**(2): 12-14.
- [12] Sudomo, M., (1994), *Perusakan Hutan Mangrove Dan Penularan Malaria*, Media Litbangkes, **4**(4): 16-19.