

**PENGARUH PEMBERIAN NANOPARTIKEL KITOSAN - EKSTRAK
BATANG *J. multifida* L TERHADAP JUMLAH ERITROSIT *M. musculus*
YANG TERINFESI *P. berghei***

Arsela Eko Listiono¹, M. Lutfi Firdaus², Agus Sundaryono³

Universitas Bengkulu^{1,2,3}

aelistiono@unib.ac.id¹

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel kitosan–ekstrak batang *Jatropha multifida* L. terhadap jumlah eritrosit *Mus musculus* yang terinfeksi *Plasmodium berghei* serta hasil karakterisasinya. Metode yang digunakan adalah pembuatan nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. dengan metode gelasi ionik. Hasil karakterisasi menggunakan *Particle Size Analysis* (PSA) menunjukkan bahwa nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. memiliki ukuran partikel rata-rata sebesar 567,12 nm dengan nilai *polydispersity index* (PDI) sebesar 0,11, sedangkan hasil karakterisasi menggunakan *X-ray diffraction* (XRD) menunjukkan puncak tertinggi pada sudut $2\theta = 28,68^\circ$. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan pengaruh variasi konsentrasi pemberian nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. terhadap jumlah eritrosit. Simpulan penelitian ini adalah bahwa dosis nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. yang paling efektif adalah 0,028 g/KgBB, diikuti oleh pemberian ekstrak kasar batang *J. multifida* L. pada dosis yang sama.

Kata Kunci: Eritrosit, *Jatropha multifida* L., Kitosan, Nanopartikel, *Particle Size Analysis*, *Plasmodium berghei*, *X-ray Diffraction*

ABSTRACT

*This study aimed to determine the effect of administering chitosan nanoparticles loaded with *Jatropha multifida* L. stem extract on the erythrocyte count of *Mus musculus* infected with *Plasmodium berghei* as well as their characterization results. The method used was the preparation of chitosan nanoparticles loaded with *J. multifida* L. stem extract using the ionic gelation method. Characterization results using *Particle Size Analysis* (PSA) showed that the chitosan nanoparticles loaded with *J. multifida* L. stem extract had an average particle size of 567.12 nm with a *polydispersity index* (PDI) value of 0.11, while characterization using *X-ray diffraction* (XRD) showed the highest peak at a 2θ angle of 28.68° . The results indicated differences in the effects of varying concentrations of chitosan nanoparticles loaded with *J. multifida* L. stem extract on erythrocyte counts. The conclusion of this study is that the most effective dose of chitosan nanoparticles loaded with *J. multifida* L. stem extract was 0.028 g/kg body weight, followed by the administration of crude *J. multifida* L. stem extract at the same dose.*

Keywords: *Erythrocytes, Jatropha multifida L., Chitosan, Nanoparticles, Particle Size Analysis, Plasmodium berghei, X-ray Diffraction*

PENDAHULUAN

J. multifida L. merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh di Indonesia dan termasuk dalam famili *Euphorbiaceae*. Tanaman ini termasuk ke dalam jenis tanaman jarak (*Jatropha*) dan dikenal secara tradisional sebagai tanaman obat luka. Batang dan daun tanaman betadin mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin, sedangkan bijinya mengandung ricin. Secara empiris, tanaman betadin banyak dimanfaatkan sebagai obat penyembuh luka, serta digunakan untuk mengatasi bengkak akibat benturan, terkilir, tulang patah, dan sakit gigi (Hanifa & Soleha, 2024).

Nanopartikel merupakan material dengan ukuran partikel pada skala nanometer. Beberapa bahan alam telah berhasil disintesis dalam bentuk nanopartikel dengan ukuran partikel di atas 100 nm, antara lain kurkumin, paclitaxel, dan praziquantel dengan ukuran partikel masing-masing sebesar 450 nm, 147,7 nm, dan >200 nm. Oleh karena itu, nanopartikel juga dapat didefinisikan sebagai sistem koloid submikronik dengan ukuran partikel kurang dari 1 μm (Rismana et al., 2013). Secara umum, sintesis nanopartikel dapat dilakukan melalui metode *top-down* (fisika) dan *bottom-up* (kimia). Penggunaan nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat memiliki beberapa keunggulan, antara lain ukuran partikel dan karakteristik permukaan yang dapat dimodifikasi sesuai dengan target terapi. Selain itu, nanopartikel mampu mengatur dan memperpanjang pelepasan obat selama proses transportasi menuju sasaran, serta dapat diaplikasikan pada berbagai target pengobatan karena nanopartikel dapat masuk ke dalam sistem peredaran darah dan didistribusikan menuju lokasi target (Iswandana et al., 2013).

Infeksi *P. berghei* merupakan model yang banyak digunakan dalam penelitian malaria murine dan menjadi alat yang penting untuk studi genetik serta patogenesis malaria. *P. berghei* strain ANKA mampu menginfeksi darah tikus yang rentan dan dapat dikultur dalam berbagai kondisi penelitian (Jambou et al., 2011).

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan pemanfaatan tanaman obat dan sistem nanopartikel sebagai pendekatan terapi, kajian mengenai penggunaan nanopartikel kitosan yang memuat ekstrak batang *J. multifida* L. serta pengaruhnya terhadap jumlah eritrosit pada model malaria murine masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki kebaruan (*novelty*) pada penerapan nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. sebagai sistem penghantaran berbasis bahan alam serta evaluasi pengaruhnya terhadap jumlah eritrosit *M. musculus* yang terinfeksi *P. berghei*.

Berdasarkan latar belakang tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. terhadap jumlah eritrosit *M. musculus* yang terinfeksi *P. berghei* serta melakukan karakterisasi nanopartikel yang dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Penanganan Sampel

Sebanyak 3.000 g batang *J. multifida* L. segar dibersihkan menggunakan air mengalir, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di dalam ruangan yang tidak terkena sinar matahari langsung. Sampel yang telah kering kemudian dimaserasi menggunakan 10 L etanol teknis 96% di dalam toples kaca dan disimpan di tempat terlindung dari sinar matahari selama 7 hari sambil sesekali dikocok. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol pekat (ekstrak kasar).

Penyediaan Mencit (*M. musculus*)

M. musculus diperoleh dari peternakan *M. musculus* di SBIH Bengkulu. Dalam penelitian ini digunakan *M. musculus* jantan dengan pertimbangan tidak mengalami siklus estrus sehingga kondisi hormonal lebih stabil. Kandang mencit dibuat dari nampan plastik yang diberi sekam padi sebagai alas dan ditutup menggunakan kawat kasa. Nampan kemudian disusun pada rak yang tersedia di SBIH Ruyani.

Penentuan Dosis

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini disesuaikan dengan dosis efektif ekstrak batang *J. multifida* L. untuk meningkatkan kadar eritrosit *M. musculus* berdasarkan penelitian terdahulu. Dosis yang digunakan meliputi ekstrak batang *J. multifida* L. sebesar 0,028 g/KgBB, nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. sebesar 0,028 g/KgBB, serta variasi dosis 0,014 g/KgBB ($\frac{1}{2}$ dosis efektif), 0,007 g/KgBB ($\frac{1}{4}$ dosis efektif), dan 0,0028 g/KgBB ($\frac{1}{10}$ dosis efektif).

Perlakuan *Gavage*

Hewan percobaan yang digunakan adalah *M. musculus* jantan dewasa berumur 5–7 pekan. Perlakuan diberikan selama 14 hari. Mencit dibagi ke dalam tujuh kelompok, yaitu kontrol positif, kontrol negatif, kontrol P0, serta kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4. Masing-masing kelompok terdiri atas lima ekor mencit, sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengelompokan Perlakuan Penelitian Sains

Kelompok	Hari 0	Hari 1-4	Hari 5-7	Hari 8-14
K(-)	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Pemberian aquades	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia
K(+)	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Pemberian klorokuin	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia

Kelompok	Hari 0	Hari 1-4	Hari 5-7	Hari 8-14
P1	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Pemberian ekstrak batang <i>J. multifida L</i> dosis 0,028g/kgbb	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia
P2	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Nanopartikel kitosan-ekstrak batang <i>J. multifida L</i> dosis 0,028g/kgbb	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia
P3	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Nanopartikel kitosan-ekstrak batang <i>J. multifida L</i> dosis 0,014g/kgbb	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia
P4	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Nanopartikel kitosan-ekstrak batang <i>J. multifida L</i> dosis 0,007g/kgbb	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia
P5	Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i>	Pemeriksaan parasitemia	Nanopartikel kitosan-ekstrak batang <i>J. multifida L</i> dosis 0,0028g/kgbb	Pengambilan darah dan pemeriksaan parasitemia

Berdasarkan Tabel 1, terlihat bahwa setiap kelompok menerima perlakuan yang berbeda, sehingga memungkinkan analisis efektivitas masing-masing perlakuan terhadap perubahan parasitemia.

Pembuatan Nanopartikel kitosan-ekstrak batang *J. multifida L*

Pembuatan nanopartikel kitosan-ekstrak batang *J. multifida L* dilakukan dengan metode gelasi ionik. Menurut (Mardiyati. E, Sjaikhurizal E.M, 2012) konsentrasi optimal kitosan dan tripolifosfat (TPP) yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel kitosan adalah 0,2% dan 0,1%. Larutan kitosan 0,2% dibuat dari 200 mg kitosan dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat 1% dengan menggunakan pengaduk *magnetic stirer*. Kitosan larut dalam pelarut organik, asam asetat encer, HCl encer, HNO₃ encer, dan H₃PO₄ 0,5%, tetapi tidak larut dalam asam dan basa kuat. Menurut (Arifin et al., 2022) pelarut kitosan yang baik dan umum digunakan adalah asam asetat 1%-2%. TPP 0,1% yang digunakan, dibuat dari 40 mg natrium tripolifosfat yang dilarutkan dalam 40 mL aquades dengan menggunakan pengaduk *magnetic stirer*. Nanopartikel yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan XRD dan PSA. Setelah dikarakterisasi dilakukan uji aktivitas nanopartikel tersebut pada mencit

Teknik analisa data

Teknik analisa data untuk eksperimen laboratorium menggunakan analisa rancangan acak kelompok (RAK). Dengan rumus umum ditunjukkan pada persamaan (1) berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij} \quad (1)$$

Keterangan: Y_{ij} = Nilai tengah pengamatan dari kelompok ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i
 μ = Nilai tengah populasi
 α_i = Pengaruh perlakuan ke-i
 β_j = Pengaruh kelompok ke-j
 ϵ_{ij} = Galat dari kelompok ke-j yg memperoleh perlakuan ke-i (Harlan, 2011).

Persamaan (1) ini menunjukkan bahwa setiap pengamatan (Y_{ij}) dipengaruhi oleh efek perlakuan (α_i), efek kelompok (β_j), serta galat pengukuran (ϵ_{ij}).

HASIL PENELITIAN

Maserasi Batang *J. multifida* L. Menggunakan Pelarut Etanol

Sampel batang tanaman *J. multifida* L. terlebih dahulu dibuat dalam bentuk simplisia dengan cara memotong sampel segar menjadi bagian kecil, kemudian dikeringkan tanpa paparan sinar matahari langsung atau dengan metode pengeringan udara. Pengeringan tanpa sinar matahari langsung bertujuan untuk menurunkan kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, mencegah pertumbuhan jamur, serta menjaga stabilitas senyawa aktif agar tidak mengalami kerusakan. Pemotongan sampel menjadi ukuran kecil dilakukan untuk memperluas permukaan kontak, sehingga interaksi antara sampel dan pelarut meningkat dan senyawa organik yang terkandung di dalam sampel dapat terekstraksi secara optimal.

Simplisia kering selanjutnya diekstraksi melalui metode maserasi dengan cara merendam sampel dalam pelarut etanol 98% selama 10 hari sambil sesekali dikocok. Metode maserasi bertujuan untuk melarutkan senyawa aktif yang berada di dalam rongga sel, sehingga senyawa tersebut terdorong keluar dari sel dan larut ke dalam pelarut (Fakhrusy et al., 2020). Etanol 98% dipilih sebagai pelarut karena alkohol alifatik hingga tiga atom karbon atau campurannya dengan air memiliki daya ekstraksi tinggi terhadap senyawa bahan alam berbobot molekul rendah, seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid. Selain itu, berdasarkan farmakope, etanol merupakan pelarut yang umum digunakan dalam pembuatan ekstrak cair, kental, maupun kering yang masih banyak diaplikasikan dalam formulasi sediaan farmasi. Etanol memiliki sifat selektif, mampu menembus jaringan tanaman, mengendapkan protein, menghambat aktivitas enzim, serta meningkatkan stabilitas senyawa aktif yang terlarut, sehingga sesuai digunakan untuk ekstraksi tumbuhan obat dengan kandungan senyawa aktif yang belum sepenuhnya diketahui (Hakim & Saputri, 2020).

Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada tekanan rendah untuk menguapkan pelarut etanol hingga diperoleh ekstrak etanol pekat (ekstrak kasar). Prinsip kerja *rotary evaporator* adalah destilasi vakum, yaitu penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap di bawah titik didih normalnya. Dengan metode ini, suhu penguapan dapat dijaga

tetap rendah sehingga diharapkan tidak merusak kandungan senyawa aktif dalam ekstrak (Nwobodo et al., 2019).

Uji Fitokimia Awal Batang *J. multifida* L.

Uji fitokimia awal dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak batang *Jatropha multifida* L. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan, ekstrak batang *J. multifida* L. diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa tanaman *J. multifida* L. mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin (Yunitasari, 2011; Lokaria, 2012). Tabel 2 menyajikan hasil uji fitokimia awal pada batang *J. multifida* L, yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa metabolit sekunder utama seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid. Uji ini menggunakan reagen Mayer dan Wagner untuk alkaloid, serta pengujian standar untuk senyawa lainnya. Hasil ini penting untuk memahami potensi biologis batang *J. multifida* L sebelum digunakan dalam formulasi ekstrak atau nanopartikel.

Tabel 2. Uji Fitokimia Awal Batang *J. multifida* L

Sampel	Uji						
	Flafonoid	Alkaloid		Tanin	Saponin	Terpenoid	Steroid
Mayer		Wagner					
<i>J. multifida</i> L	√	√	√	√	√	-	-

Dari Tabel 2, terlihat bahwa batang *J. multifida* L mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin, yang masing-masing memiliki peran potensial sebagai antioksidan, antimikroba, atau penguat sistem imun. Sementara itu, senyawa terpenoid dan steroid tidak terdeteksi, menunjukkan bahwa aktivitas biologis batang ini kemungkinan lebih dominan berasal dari senyawa fenolik dan nitrogen. Hasil ini memberikan dasar untuk pengembangan ekstrak atau nanopartikel batang *J. multifida* L sebagai agen antimalaria.

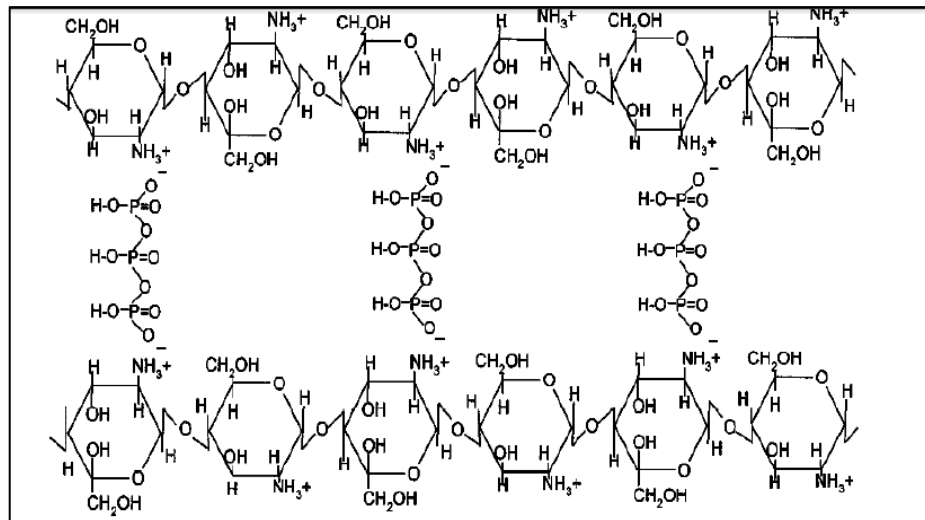
Karakterisasi Nanopartikel Kitosan–Ekstrak Batang *J. multifida* L.

Sintesis nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. dilakukan menggunakan metode gelasi ionik. Pada metode ini, mekanisme pembentukan nanopartikel kitosan didasarkan pada interaksi elektrostatis antara gugus amina bermuatan positif pada kitosan dan gugus bermuatan negatif dari polianion natrium tripolifosfat (NaTPP).

Kitosan yang digunakan pada sintesis nanopartikel merupakan kitosan yang berasal dari kulit kerang dan diperoleh dari toko bahan kimia. Proses sintesis nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. menggunakan NaTPP sebagai bahan penstabil dan agen pengikat silang (*crosslinking agent*). Penambahan NaTPP

berfungsi untuk memperkuat matriks nanopartikel kitosan sehingga nanopartikel yang terbentuk menjadi lebih stabil (Rismana et al., 2013).

Pada metode gelas ionik, kitosan terlebih dahulu dilarutkan dalam larutan asam encer untuk menghasilkan kation kitosan melalui protonasi gugus amina. Gugus amina yang bermuatan positif tersebut selanjutnya berikatan silang dengan gugus bermuatan negatif dari polianion NaTPP, sehingga terjadi kompleksasi antar muatan yang berlawanan. Interaksi elektrostatis ini menghasilkan pembentukan nanopartikel kitosan dengan stabilitas yang lebih baik. Mekanisme pembentukan ikatan silang antara kitosan dan NaTPP melalui metode gelas ionik ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.

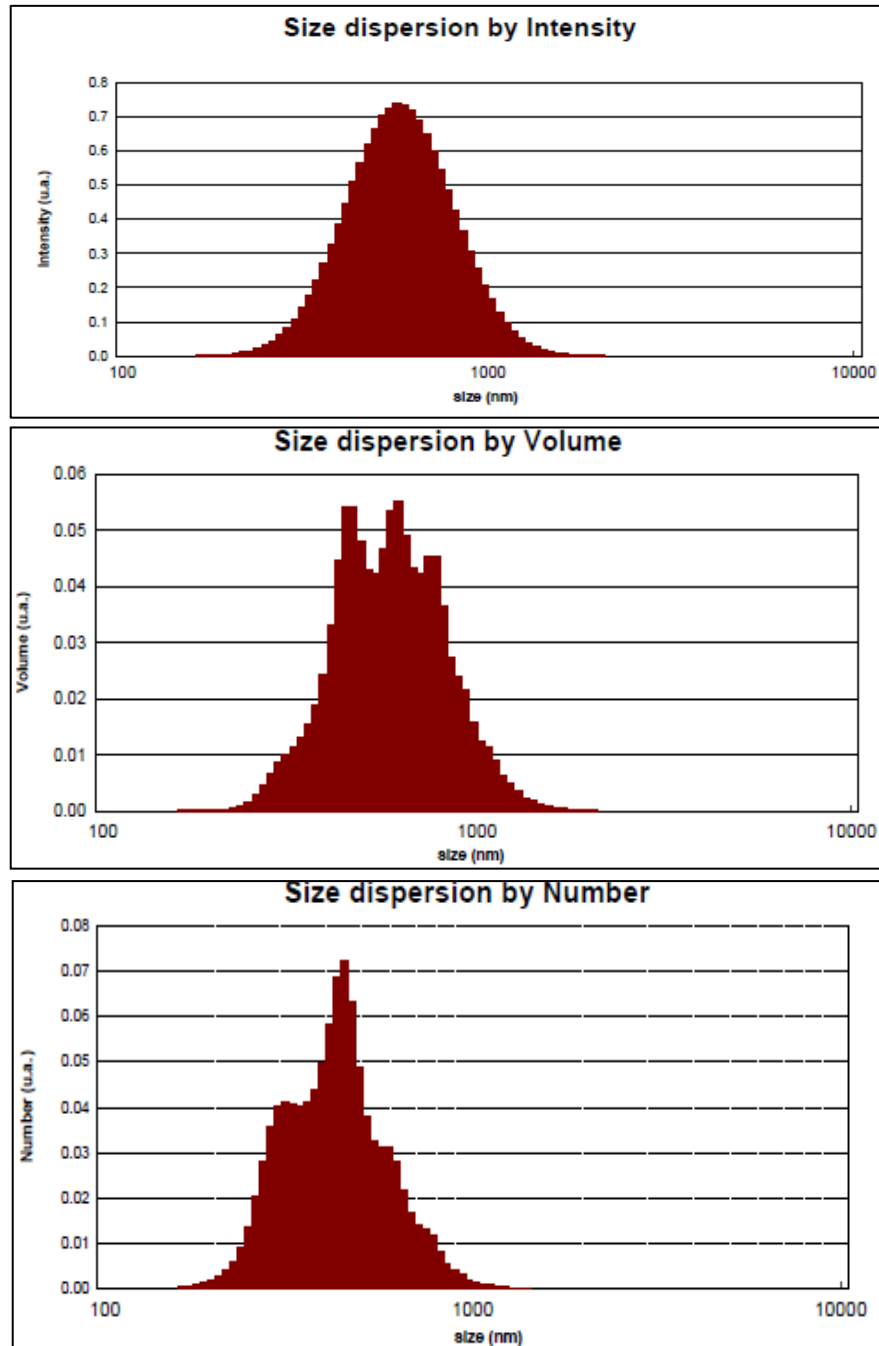


Gambar 1. Bentuk Crosslink Ionik dalam Derivat Kitosan-TPP

Pembentukan nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida.L* secara kualitatif dapat dilihat pada perubahan warna larutan yang menjadi lebih keruh dan menghasilkan koloid, sedangkan secara kuantitatif nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida.L* dapat diketahui dengan menggunakan uji karakterisasi PSA dan XRD.

Karakterisasi nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida.L* dengan Menggunakan *Particle Size Analysis* (PSA)

Karakterisasi PSA dilakukan untuk mengetahui ukuran partikel serta distribusinya di dalam larutan. Menurut Ristian (2013) PSA menggunakan metode *Dinamyc Light Scattering* (DLS) yang memanfaatkan hamburan inframerah. Hamburan inframerah ditembakkan oleh alat ke sampel sehingga sampel akan bereaksi menghasilkan gerak Brown. Gerak inilah yang kemudian di analisis oleh alat, semakin kecil ukuran molekul maka akan semakin cepat gerakannya. Jenis alat PSA yang digunakan adalah *Cordouan Technology Nano-Q*, besarnya rentang ukuran partikel yang dapat dianalisis oleh alat ini adalah 10 - 10.000 nm. Hasil PSA dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini:



Gambar 2. Diagram Persebaran Ukuran Partikel Berdasarkan Intensitas, Volume, dan Jumlah

Dari Gambar 2 terlihat bahwa distribusi partikel berbeda-beda tergantung pada parameter yang diukur. Berdasarkan intensitas, mayoritas partikel berada pada ukuran tertentu yang mendominasi sinyal, sedangkan analisis volume menunjukkan persebaran ukuran partikel yang lebih luas. Distribusi jumlah menekankan frekuensi partikel dengan ukuran kecil yang lebih banyak. Keseluruhan hasil ini mengindikasikan bahwa nanopartikel memiliki ukuran yang relatif homogen,

namun dengan sejumlah partikel lebih kecil yang tetap hadir, yang dapat memengaruhi sifat larutan dan efektivitas bioaktivitasnya.

Hasil Karakterisasi Ukuran Partikel Nanopartikel Kitosan–Ekstrak Batang *J. multifida* L. (PSA)

Hasil karakterisasi menggunakan *Particle Size Analysis* (PSA) menunjukkan distribusi ukuran partikel nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. yang disajikan dalam tiga grafik, yaitu berdasarkan intensitas, volume, dan jumlah partikel. Berdasarkan grafik intensitas, ukuran partikel terdistribusi pada kisaran sekitar 195–1.600 nm dengan diameter rata-rata sebesar 604,38 nm. Pada grafik volume, ukuran partikel berada pada rentang 281–851 nm dengan diameter rata-rata sebesar 616 nm. Sementara itu, berdasarkan grafik jumlah, ukuran partikel berada pada kisaran 223–813 nm dengan diameter rata-rata sebesar 442 nm. Rata-rata ukuran partikel secara keseluruhan yang diperoleh dari analisis PSA adalah sebesar 567,12 nm.

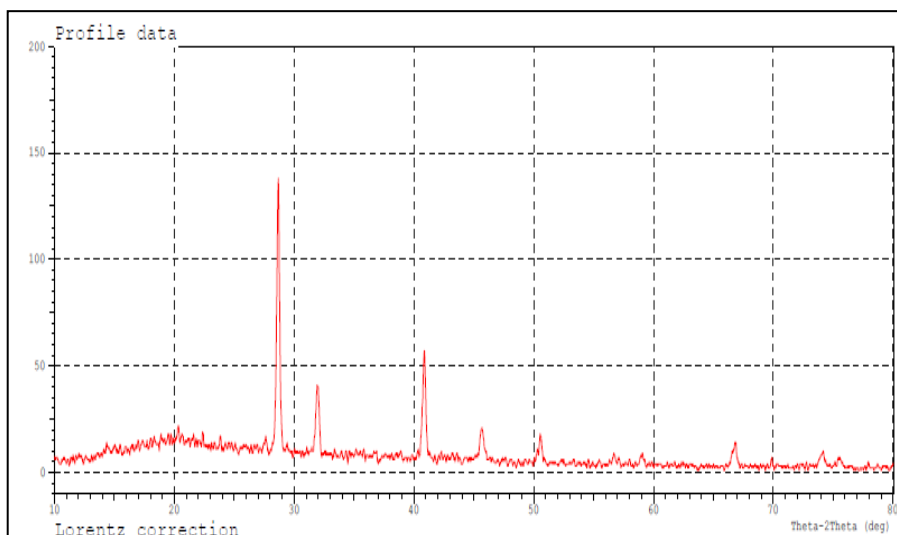
Selain ukuran partikel, PSA juga memberikan informasi mengenai nilai *polydispersity index* (PDI) nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. Nilai PDI menunjukkan tingkat homogenitas ukuran partikel. Nanopartikel dengan nilai PDI antara 0,01–0,7 dikategorikan sebagai sistem dengan distribusi ukuran yang homogen (*monodispers*), sedangkan nilai PDI di atas 0,7 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang luas atau kurang homogen (Nidhin et al., 2008). Pada penelitian ini, nilai PDI yang diperoleh sebesar 0,11, yang menunjukkan bahwa nanopartikel yang dihasilkan memiliki tingkat homogenitas yang baik. Meskipun demikian, masih terdapat variasi ukuran dan bentuk partikel yang diduga disebabkan oleh terjadinya agregasi nanopartikel. Agregasi tersebut dapat terjadi akibat terlampauinya waktu optimum pembentukan nanopartikel pada saat pengukuran PSA, sehingga terbentuk agregat yang menyebabkan ukuran partikel terdeteksi menjadi lebih besar (Sun et al., 2014).

Hasil Karakterisasi Struktur Kristal Nanopartikel Kitosan–Ekstrak Batang *J. multifida* L. (XRD)

Karakterisasi nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. menggunakan *X-ray diffraction* (XRD) dilakukan untuk mengetahui fase kristal yang terkandung dalam sampel serta menentukan derajat kristalinitas dan ukuran kristalin. Analisis XRD didasarkan pada pelebaran puncak difraksi sinar-X yang terbentuk. Perlu diketahui bahwa metode XRD memprediksi ukuran kristalin dalam suatu material, bukan ukuran partikel secara langsung. Namun, pada partikel berukuran nanometer, umumnya satu partikel hanya mengandung satu kristalin, sehingga ukuran kristalin yang diprediksi dapat merepresentasikan ukuran partikel.

Berdasarkan data hasil analisis XRD, diperoleh derajat kristalinitas nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. sebesar 52,86%. Puncak difraksi tertinggi teridentifikasi pada sudut $2\theta = 28,68^\circ$ dengan nilai λ sebesar 3,10 Å, diikuti

oleh puncak pada sudut $2\theta = 31,97^\circ$ dengan nilai λ sebesar $2,20 \text{ \AA}$, serta sudut $2\theta = 40,85^\circ$ dengan nilai λ sebesar $2,79 \text{ \AA}$. Pola difraksi XRD nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. ditunjukkan pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Pola Sampel Nanopartikel Kitosan-Ekstrak *J. multifida* L.

Pola menunjukkan bahwa nanopartikel memiliki bentuk relatif bulat dan ukuran seragam, dengan sedikit aglomerasi partikel. Karakter ini mengindikasikan kestabilan fisik yang baik dan potensi distribusi bioaktif yang merata saat digunakan dalam formulasi.

Aktivitas Nanopartikel Kitosan–Ekstrak Batang *J. multifida* L. terhadap Jumlah Eritrosit *Mus musculus* Jantan

Nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. yang telah melalui tahap karakterisasi selanjutnya diuji aktivitas biologisnya pada hewan uji, yaitu *M. musculus* jantan galur Swiss Webster. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. terhadap jumlah eritrosit pada mencit jantan yang telah terinfeksi parasit malaria *Plasmodium berghei*.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan (*M. musculus*) berumur 7–12 minggu dengan berat badan 20–35 g, sebanyak 35 ekor. Mencit dibagi secara acak ke dalam tujuh kelompok perlakuan. Pemilihan mencit jantan didasarkan pada pertimbangan bahwa mencit jantan tidak mengalami siklus estrus maupun kehamilan, sehingga kondisi hormonal lebih stabil dan metabolisme obat relatif lebih cepat dibandingkan mencit betina, yang memungkinkan diperolehnya hasil penelitian yang lebih konsisten.

Sebelum digunakan sebagai hewan uji, mencit diadaptasikan selama satu minggu. Mencit jantan sehat selanjutnya diinfeksi dengan *P. berghei* melalui inokulasi darah mencit donor yang telah terinfeksi dan dicampur dengan

antikoagulan EDTA, kemudian diberikan secara intraperitoneal. Setelah proses infeksi, mencit dibiarkan selama beberapa hari untuk memungkinkan perkembangan *P. berghei* di dalam tubuh. Pemeriksaan parasitemia dilakukan pada hari ke-3 pascainfeksi, karena pada waktu tersebut *P. berghei* telah berkembang dan menginfeksi eritrosit mencit (Otun et al., 2024).

Apabila tingkat parasitemia telah mencapai minimal 20% atau telah terjadi kerusakan eritrosit, perlakuan selanjutnya diberikan. Perlakuan meliputi kontrol negatif berupa pemberian akuades, kontrol positif berupa pemberian klorokuin, pemberian ekstrak batang *J. multifida* L. dengan dosis 0,028 g/KgBB, serta pemberian nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. dengan empat variasi dosis, yaitu 0,028 g/KgBB, 0,014 g/KgBB ($\frac{1}{2}$ dosis efektif), 0,007 g/KgBB ($\frac{1}{4}$ dosis efektif), dan 0,0028 g/KgBB ($\frac{1}{10}$ dosis efektif). Seluruh perlakuan diberikan secara oral. Pemberian perlakuan dilakukan selama tiga hari berturut-turut, dengan pertimbangan bahwa pada hari ke-3 pascainfeksi, parasitemia *P. berghei* umumnya telah mencapai 30–40%, meskipun tingkat infeksi dapat bervariasi antarindividu mencit (Ukratalo et al., 2023). Pemberian perlakuan lebih dari tiga hari dikhawatirkan dapat memicu resistensi parasit terhadap senyawa yang diberikan.

Setelah pemberian perlakuan, parasitemia dalam darah mencit diamati selama tujuh hari berturut-turut. Pengamatan ini mengacu pada ketentuan Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 1995 untuk menilai potensi suatu bahan sebagai kandidat obat antimalaria. Sebelum diberikan secara *gavage*, nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. terlebih dahulu diencerkan untuk mempermudah proses pemberian secara oral. Pengamatan parasitemia dilakukan melalui pemeriksaan apusan darah kering mencit menggunakan mikroskop. Eritrosit normal tampak berbentuk cakram bikonkaf, berwarna kekuningan, dan tidak berinti, sedangkan eritrosit yang terinfeksi *P. berghei* tampak lebih pucat, bertitik-titik, serta berukuran lebih besar dibandingkan eritrosit normal. Gambaran mikroskopis eritrosit mencit ditunjukkan pada Gambar berikut.



Gambar 4. Pengamatan Mikroskopik Sel Darah Merah pada Mencit yang Terinfeksi *Plasmodium Berghei*

Pada setiap harinya dilihat persentasinya dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 x dengan bantuan minyak emersi yang dilakukan selama 7 hari dengan 5 kali pengulangan. Pengamatan sel darah merah ini dibuat dalam preparat apusan tipis yang menggunakan larutan giemsa 10% untuk pewarnaannya sehingga bisa membedakan antara sel darah normal dan sel darah yang terinfeksi. sehingga diperoleh variasi rata-rata parasitemia pada tiap kelompok perlakuan.

Tabel 3 menyajikan rata-rata persentase parasitemia pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* selama 7 hari, dengan perlakuan berbeda pada setiap kelompok. Kelompok kontrol negatif (K-) hanya menerima aquadest, sedangkan kontrol positif (K+) menerima klorokuin. Kelompok perlakuan (P1–P5) diberikan ekstrak batang atau nanopartikel kitosan-ekstrak batang *J. multifida* L dengan dosis bervariasi, untuk mengevaluasi efek antimalaria masing-masing perlakuan.

Tabel 3. Rata-Rata Persen Parasitemia

Perlakuan	Pengulangan	% parasitemia \pm SD						
		Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7
K (-)	5	27,62 \pm 5,49	35,56 \pm 8,62	36,56 \pm 8,44	32,68 \pm 7,15	28,68 \pm 5,31	32,30 \pm 9,38	31,06 \pm 5,95
		31,64 \pm 4,65	32,48 \pm 4,88	30,16 \pm 8,38	31,10 \pm 4,28	36,48 \pm 3,19	29,64 \pm 3,94	21,65 \pm 1,08
P1	5	33,18 \pm 7,53	28,86 \pm 6,47	28,00 \pm 6,51	25,16 \pm 6,91	20,00 \pm 7,65	16,58 \pm 7,08	14,06 \pm 7,74
		27,28 \pm 1,65	25,76 \pm 1,36	22,75 \pm 1,70	20,41 \pm 3,11	17,55 \pm 5,68	13,63 \pm 4,89	10,08 \pm 4,06
P2	5	26,70 \pm 2,84	25,97 \pm 3,00	25,72 \pm 3,03	25,16 \pm 2,98	24,93 \pm 3,24	24,11 \pm 3,51	23,49 \pm 3,13
		30,19 \pm 3,35	29,10 \pm 3,50	28,06 \pm 3,57	27,07 \pm 3,50	25,87 \pm 3,71	24,73 \pm 3,70	23,85 \pm 3,54
P3	5	29,54 \pm 0,61	30,56 \pm 1,94	30,54 \pm 2,32	30,38 \pm 1,88	29,27 \pm 1,24	27,26 \pm 1,43	23,64 \pm 1,56

Keterangan: K(+) : Diinfeksi *P. berghei* + Klorokuin
 K(-) : Diinfeksi *P. berghei* + aquadest
 P1 : Diinfeksi *P. berghei* + ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,00084 gr/KgBB
 P2 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,00084 gr/KgBB
 P3 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,00042 gr/KgBB
 P4 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,00021 gr/KgBB
 P5 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,00084 gr/KgBB

Berdasarkan Tabel 3, persentase parasitemia meningkat pada kelompok kontrol negatif, menunjukkan proliferasi *P. berghei* tanpa pengobatan. Kelompok kontrol positif (K+) menunjukkan penurunan parasitemia mulai hari ke-7 akibat pemberian klorokuin. Kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan parasitemia secara signifikan, dengan P2 (nanopartikel dosis tinggi) menunjukkan efektivitas paling besar. Kelompok P3–P5 menampilkan penurunan parasitemia yang lebih lambat seiring penurunan dosis nanopartikel, menunjukkan hubungan dosis–respons yang jelas. Hasil ini mengindikasikan bahwa nanopartikel kitosan-ekstrak batang *J. multifida* L efektif menurunkan parasitemia, terutama pada dosis tinggi.

Tabel 4 menyajikan persentase pertumbuhan dan persentase penghambatan parasitemia *Plasmodium berghei* pada mencit yang diberi perlakuan berbeda. Persentase pertumbuhan menunjukkan perubahan parasitemia dibandingkan hari awal, sedangkan persentase penghambatan mencerminkan efektivitas masing-masing perlakuan dalam menekan perkembangan parasit.

Tabel 4. Persen Pertumbuhan dan Persen Penghambatan Tiap Perlakuan

Perlakuan	% Pertumbuhan	% Penghambatan
K(-)	0,57	0,00
K(+)	-1,67	5,00
P1	-3,16	26,08
P2	-2,87	38,73
P3	-0,53	21,52
P4	-1,06	15,81
P5	-0,98	10,32

Keterangan: K(+) : Diinfeksi *P. berghei* + Klorokuin
 K (-) : Diinfeksi *P. berghei* + aquadest
 P1 : Diinfeksi *P. berghei* + ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,028 gr/KgBB
 P2 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,028 gr/KgBB
 P3 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,014 gr/KgBB
 P4 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,007 gr/KgBB
 P5 : Diinfeksi *P. berghei* + Nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. yang dilarutkan dalam aquadest dengan dosis 0,028 gr/KgBB

Berdasarkan Tabel 4, kelompok kontrol negatif (K-) menunjukkan pertumbuhan parasitemia positif, sedangkan kontrol positif (K+) mengalami sedikit penghambatan akibat klorokuin. Kelompok perlakuan P1 dan P2 menunjukkan penghambatan parasitemia yang paling tinggi, dengan P2 (nanopartikel dosis tinggi) mencapai 38,73%, menandakan efektivitas nanopartikel lebih besar dibanding ekstrak biasa. Kelompok P3–P5 yang menerima dosis lebih rendah menampilkan penghambatan lebih moderat, menunjukkan hubungan dosis–respons yang jelas. Hasil ini menguatkan bahwa nanopartikel kitosan-ekstrak batang *J. multifida* L berpotensi sebagai agen antimalaria dengan efektivitas bergantung pada dosis.

PEMBAHASAN

Berdasarkan data pada Tabel 2, kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan akuades menunjukkan kecenderungan peningkatan parasitemia pada hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-6. Kondisi ini disebabkan oleh tidak adanya pemberian agen antimalaria, sehingga *P. berghei* dapat berkembang secara optimal di dalam darah mencit. Mencit yang terinfeksi pada kelompok ini tampak mengalami penurunan kondisi fisik, seperti lesu, wajah pucat, bulu berdiri, serta penurunan nafsu makan dan minum. Kondisi tersebut berkontribusi terhadap terjadinya dehidrasi dan penurunan berat badan, yang mengindikasikan semakin melemahnya kondisi fisiologis mencit akibat infeksi tanpa adanya perlakuan terapeutik.

Pada kelompok kontrol positif yang diberikan klorokuin, terjadi penurunan parasitemia pada hari ke-2 dan ke-3, namun diikuti oleh peningkatan kembali pada hari ke-4 dan ke-5. Hal ini diduga berkaitan dengan respons sistem imun menciit, di mana parasit tetap dapat berkembang di dalam darah meskipun pertumbuhannya tidak maksimal karena adanya efek klorokuin. Pada penelitian ini, menciit diberikan perlakuan setelah tingkat parasitemia mencapai minimal 20%, karena pada kisaran 20–30% parasitemia menciit telah memenuhi kriteria untuk pemberian perlakuan antimalaria.

Pada kelompok perlakuan pertama, yaitu pemberian ekstrak batang *J. multifida* L. dengan dosis 0,028 g/KgBB secara gavage, terlihat adanya penurunan parasitemia sejak hari pertama hingga hari ketujuh pengamatan. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak batang *J. multifida* L. memiliki potensi sebagai agen antimalaria. Sementara itu, pada perlakuan kedua, yaitu pemberian nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. dosis 0,028 g/KgBB, terjadi penurunan parasitemia dari 27,28% pada hari pertama menjadi 10,08% pada hari ketujuh. Pola penurunan parasitemia juga terlihat pada pemberian nanopartikel dengan dosis 0,014 g/KgBB, yaitu dari 26,70% menjadi 23,49%, dosis 0,007 g/KgBB dari 30,19% menjadi 23,85%, serta dosis 0,0028 g/KgBB dari 29,54% menjadi 23,64% pada hari ketujuh.

Berdasarkan seluruh kelompok perlakuan, nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. dengan dosis 0,028 g/KgBB menunjukkan aktivitas antiplasmodial paling optimal dibandingkan dosis lainnya. Hal ini ditunjukkan oleh nilai persentase pertumbuhan parasitemia sebesar –2,87% dan persentase penghambatan sebesar 38,73%. Menurut Nguyen-Pouplin et al. (2007), suatu ekstrak dikategorikan memiliki aktivitas antiplasmodial apabila mampu menurunkan tingkat parasitemia lebih dari 30%. Dengan demikian, nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. pada dosis 0,028 g/KgBB memenuhi kriteria sebagai agen antiplasmodial.

Secara umum, peningkatan dosis nanopartikel yang diberikan berbanding terbalik dengan persentase pertumbuhan parasitemia dan berbanding lurus dengan persentase penghambatan. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif dalam nanopartikel kitosan–ekstrak batang *J. multifida* L. berperan dalam menghambat pertumbuhan *P. berghei*, sehingga semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin besar pula efek penghambatan terhadap parasitemia.

Berdasarkan Tabel 3, terlihat bahwa persentase penghambatan untuk perlakuan 2 (P2), yaitu nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. dengan dosis 0,028 g/KgBB yang diberikan secara gavage selama 3 hari, sebesar 38,73%. Nilai persentase penghambatan pada P2 lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif, kontrol negatif, serta perlakuan P1, P3, P4, dan P5. Hal ini membuktikan bahwa pemberian nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. dengan dosis 0,028 g/KgBB mampu menghambat pertumbuhan parasitemia paling baik dibandingkan perlakuan lainnya. Nanopartikel kitosan yang berperan sebagai agen

penghantar obat dapat membantu meningkatkan kinerja zat aktif, karena nanopartikel mampu membantu proses adsorpsi senyawa aktif. Dengan demikian, meskipun diberikan dalam dosis relatif kecil, obat tetap efektif sehingga reaksi dan adsorpsi obat berlangsung lebih cepat.

Selanjutnya, data perhitungan parasitemia yang dihitung setiap hari dianalisis menggunakan analisis varians satu jalur (ANOVA satu jalur). Perubahan nilai parasitemia dipengaruhi oleh dosis yang diberikan serta perubahan parasitemia setiap hari. Analisis ANOVA satu jalur dilakukan dengan membandingkan nilai F hitung pada taraf signifikansi 0,05 dengan nilai F tabel. Apabila nilai F hitung lebih besar ($>$) dari F tabel, maka hipotesis alternatif (H1), yaitu rata-rata persentase parasitemia mencit jantan yang diinfeksi *P. berghei* antar kelompok perlakuan berbeda nyata, dinyatakan diterima. Sebaliknya, apabila nilai F hitung lebih kecil ($<$) dari F tabel, maka hipotesis nol (H0), yaitu rata-rata persentase parasitemia mencit jantan yang diinfeksi *P. berghei* antar kelompok perlakuan tidak berbeda nyata, dinyatakan diterima. Pada hari pertama (H1) dan hari kelima (H5), nilai F hitung $<$ F tabel sehingga H0 diterima, sedangkan pada hari kedua (H2), hari ketiga (H3), hari keempat (H4), hari keenam (H6), dan hari ketujuh (H7) nilai F hitung $>$ F tabel sehingga H1 diterima.

Apabila hipotesis H1 diterima, maka dilakukan uji lanjutan berupa uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Hal ini didasarkan pada hasil perhitungan nilai koefisien keragaman (KK) yang diperoleh sebesar 16,42% pada H2, 19,19% pada H3, 25,85% pada H5, 30,84% pada H6, dan 28,83% pada H7. Apabila nilai $KK \geq 10\%$, maka uji lanjutan yang disarankan adalah uji Duncan karena memiliki tingkat ketelitian yang tinggi. Berdasarkan data yang diperoleh, dapat dinyatakan bahwa perlakuan 2 (P2) dengan dosis 0,028 g/KgBB menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan kelompok perlakuan lainnya, sehingga P2 merupakan dosis paling efektif dalam menghambat persentase parasitemia.

P. berghei memiliki siklus hidup yang sama dengan siklus hidup plasmodium penyebab malaria pada umumnya. Setelah darah mencit terinfeksi *P. berghei*, parasit akan memasuki sel-sel parenkim hati dan memulai stadium eksoeritrositik dari daur hidupnya. Di dalam sel hati, parasit tumbuh menjadi skizon dan berkembang menjadi merozoit. Sel hati yang mengandung parasit kemudian pecah dan merozoit dilepaskan, sebagian di antaranya akan difagositosis. Fase ini disebut stadium preeritrositik atau eksoeritrositik karena terjadi sebelum parasit memasuki eritrosit. Siklus eritrositik dimulai ketika merozoit memasuki sel darah merah. Parasit tampak sebagai kromatin kecil yang dikelilingi sitoplasma yang membesar dengan bentuk tidak teratur dan berkembang menjadi tropozoit, kemudian menjadi skizon muda, skizon matang, dan selanjutnya membelah menjadi merozoit. Pada akhir siklus ini, sel darah merah akan pecah dan merozoit, pigmen, serta sisa sel akan dilepaskan ke dalam plasma darah. Merozoit kemudian menginfeksi sel darah merah lainnya dan mengulangi siklus tersebut (Sucilestari et al., 2013).

Mekanisme kerja nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. sebagai antiplasmodium yang berperan dalam meningkatkan jumlah eritrosit belum diketahui secara pasti. Namun, secara umum mekanisme kerja obat antiplasmodium dalam menghambat pertumbuhan plasmodium dan meningkatkan jumlah eritrosit terjadi ketika obat antiplasmodium diberikan secara oral dan masuk ke dalam lambung, kemudian menuju usus halus untuk diserap oleh sel epitel. Sebelum mencapai sel target, obat terlebih dahulu didistribusikan ke jaringan seperti hati, otot, jantung, dan otak, kemudian menuju sumsum tulang sebagai aktivator pembentukan sel darah merah, selanjutnya ke jaringan hati dan pembuluh darah. Pada dasarnya, obat antiplasmodium bekerja di hati sebagai organ target yang berperan sebagai reseptor dan tempat terjadinya metabolisme obat. Di dalam hati terdapat enzim sitokrom P450 yang mengubah obat menjadi bentuk metabolitnya. Obat yang semula tidak aktif akan dimetabolisme menjadi bentuk aktif, kemudian berinteraksi dengan reseptor dan menghasilkan bioaktivasi. Metabolit aktif tersebut bersifat toksik terhadap parasit (biotoksifikasi).

Hemoglobin di dalam eritrosit menghasilkan asam amino yang menjadi nutrisi bagi parasit, serta menghasilkan zat toksik berupa ferriprotoporfirin IX (FP IX). Metabolit aktif yang bersifat toksik dari nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. akan berinteraksi dengan ferriprotoporfirin IX dan membentuk senyawa kompleks yang bersifat racun bagi vakuola makanan parasit. Kondisi ini menyebabkan terganggunya sumber nutrisi *P. berghei*, sehingga parasit mengalami kelaparan dan akhirnya mati (Pardede et al., 2024). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. menunjukkan aktivitas penghambatan parasitemia yang lebih baik dibandingkan dengan klorokuin.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa karakterisasi nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. menggunakan Particle Size Analysis (PSA) menunjukkan ukuran rata-rata nanopartikel sebesar 567,12 nm dengan nilai polydispersity index (PDI) sebesar 0,1150. Sementara itu, hasil karakterisasi menggunakan X-ray Diffraction (XRD) menunjukkan bahwa ukuran kristalin nanopartikel kitosan-ekstrak batang *J. multifida* L. sebesar 52,86%, dengan puncak tertinggi berada pada sudut $2\theta = 28,68^\circ$ dan nilai λ sebesar 3,10. Pengaruh pemberian nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. terhadap jumlah eritrosit mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* menunjukkan bahwa pemberian nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. pada dosis 0,028 g/KgBB menghasilkan persentase penghambatan paling besar dibandingkan dosis lainnya, yaitu sebesar 38,73%. Dengan demikian, dosis nanopartikel kitosan ekstrak batang *J. multifida* L. sebesar 0,028 g/KgBB merupakan dosis paling efektif dibandingkan dengan dosis 0,014 g/KgBB, 0,007 g/KgBB, dan 0,0028 g/KgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, M. F., Noviani, Y., Nafisa, S., & Sheilabel, A. (2022). Preparation, characterization, and optimization of ionic gelated nanoparticles dried extract of temulawak rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* R.) using a 2² factorial design. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 20(2), 272. <https://doi.org/10.35814/jifi.v20i2.1307>
- Fakhruzy, Kasim, A., Asben, A., & Anwar, A. (2020). Review: Optimalisasi metode maserasi untuk ekstraksi tanin rendemen tinggi. *Menara Ilmu*, 14(2), 38–41.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative review: Optimasi etanol sebagai pelarut senyawa flavonoid dan fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jism.v6i1.1641>
- Hanifa, A. Q., & Soleha, S. (2024). Identifikasi miskonsepsi tanaman Betadine hidup Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli*) dan pohon Yodium (*Jatropha multifida* Linn) pada masyarakat Desa Tambangan Kelekar, Gelumbang. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 4(1), 382–389.
- Iswandana, R., Jufri, M., & Anwar, E. E. (2013). Formulasi nanopartikel verapamil hidroklorida dari kitosan dan natrium tripolifosfat dengan metode gelasi ionik. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(4), 201–210.
- Jambou, R., El-Assaad, F., Combes, V., & Grau, G. E. (2011). In vitro culture of *Plasmodium berghei* ANKA maintains infectivity of mouse erythrocytes inducing cerebral malaria. *Malaria Journal*, 10, 346. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-10-346>
- Lokaria, E. S. (2012). *Isolasi dan uji aktivitas ekstrak Jatropha multifida L. terhadap leukosit Mus musculus diinduksi imunisasi serta aplikasinya pada pembelajaran kimia menggunakan modul* [Skripsi/Tesis tidak dipublikasikan].
- Mardliyati, E., Sjaikhurrizal, E. M., & Sumarno, D. (2012). Sintesis nanopartikel kitosan–tripolifosfat dengan metode gelasi ionik: Pengaruh konsentrasi dan rasio volume terhadap karakteristik partikel. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan*, 90–93.
- Nguyen-Pouplin, J., Tran, H., Phan, T. A., Dolecek, C., Farrar, J., Tran, T. H., Caron, P., Bodo, B., & Grellier, P. (2007). Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medicinal plants from South Vietnam. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(3), 417–427. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.08.011>
- Nidhin, M., Indumathy, R., Sreeram, K. J., & Nair, B. U. (2008). Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates. *Bulletin of Materials Science*, 31(1), 93–96. <https://doi.org/10.1007/s12034-008-0016-2>
- Nwobodo, N. N., Amin, A. F., John, D. E., & Ubhenin, A. (2019). Formulation and evaluation of elastic liposomes of decitabine prepared by rotary evaporation

- method. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, 4(3), 1–5. <https://doi.org/10.22270/ujpr.v4i3.267>
- Otun, S. O., Graca, R., Onisuru, O., & Achilonu, I. (2024). Evaluation of *Plasmodium berghei* models in malaria research. *Journal of Cellular Signaling*, 5(3), 96–113.
- Pardede, N., Hutasoit, H., & Situngkir, R. U. (2024). Penelusuran senyawa bioaktif daun sampare muda (*Glochidion* sp. var. *Biak*) sebagai kandidat obat antimalaria melalui studi *in silico*. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, 942–959.
- Rismana, E., Kusumaningrum, S., P., O. B., Rosidah, I., & Marhamah, M. (2013). Sintesis dan karakterisasi nanopartikel kitosan–ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*). *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14(3), 189–196. <https://doi.org/10.29122/jsti.v14i3.925>
- Sucilestari, R., Dj, D. S., & Bachtiar, I. (2013). Uji aktivitas antimalaria fraksi triterpenoid dari ekstrak metanol daun *Artocarpus camansi* terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vivo*. *Natural B*, 2(2), 196–199.
- Sun, Q., Cai, X., Li, J., Zheng, M., Chen, Z., & Yu, C. P. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.065>
- Ukratalo, A. M., Nindatu, M., Tuarita, N. A., & Kaliky, N. A. P. S. B. (2023). Gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) terinfeksi *Plasmodium berghei* setelah diberi ekstrak metanol kulit batang *Alstonia scholaris*. *Biofaal Journal*, 4(1), 49–57. <https://doi.org/10.30598/biofaal.v4i1pp49-57>
- Yunitasari, S. (2011). *Isolasi dan uji aktivitas senyawa aktif Jatropha multifida L. terhadap peningkatan trombosit Mus musculus dan pengembangan hasil penelitian sebagai sumber belajar* [Skripsi tidak dipublikasikan].