

EFEK DEKOKTA DAUN *Urena lobata* TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN PERSENTASE BENTUK ERITROSIT ABNORMAL PADA *Danio rerio* JUVENILE YANG DIPAPAR MALATHION SECARA KRONIS

Iqbal Aziz Pamungkas*, Nugroho Wibisono **, Yudi Purnomo**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

e-mail: Iqbalazizpamungkas@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Malathion memiliki efek *acetylcholinesterase inhibitor* dan radikal bebas yang dapat mempengaruhi eritrosit dan Hb. Dekokta daun *Urena lobata* memiliki potensi sebagai antioksidan, anti-inflamasi, dan membran stabilisator, namun penelitian tentang efek daun *Urena lobata* terhadap eritrosit masih jarang dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh dekokta daun *Urena lobata* terhadap kadar Hb dan persentase bentuk eritrosit abnormal *Danio rerio* yang dipapar malathion kronis.

Metode: Eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain *control group post-test only* menggunakan *Danio rerio* usia 45 hari dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan ($n=5$). Paparan malathion diberikan selama 40 hari pada semua kelompok kecuali kontrol negatif. Dekokta daun *Urena lobata* diberikan 40 hari pada P1 (125 mg/l), P2 (250 mg/l), dan P3 (500 mg/l). Kadar Hb diukur dengan Hb meter komersial dan gambaran eritrosit abnormal diamati pada hapusan darah dengan teknik pewarnaan giemsa kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400x. Analisa data menggunakan *one way ANOVA* dan *LSD* dengan tingkat signifikansi $p<0,05$.

Hasil: Dekokta daun *Urena lobata* pada dosis 125mg/l, 250mg/l dan 500mg/l menghambat penurunan kadar Hb berturut-turut sekitar 10%, 40% dan 20% dibandingkan kontrol positif, sedangkan peningkatan eritrosit abnormal dihambat secara berturut-turut sekitar 40%, 70%, 50% dibandingkan kontrol positif ($p<0,05$). Paparan malathion secara kronik menurunkan kadar Hb sekitar 20% dan persentase eritrosit abnormal 30 kali dibandingkan dengan kontrol normal ($p<0,05$).

Kesimpulan: Pemberian dekokta daun *Urena lobata* mampu menghambat penurunan kadar Hb dan peningkatan bentuk eritrosit abnormal pada *Danio rerio* juvenile yang dipapar malathion kronis.

Kata Kunci: *Urena lobata*, malathion, eritrosit, hemoglobin

EFFECT OF *Urena lobata* LEAF WATER EXTRACT ON HEMOGLOBIN LEVEL AND PERCENTAGE OF ABNORMAL ERYTHROCYTE FORM IN THE JUVENILE *Danio rerio* EXPOSED MALATHION CHRONICALLY

Iqbal Aziz Pamungkas*, Nugroho Wibisono **, Yudi Purnomo**

*Student of Faculty of Medicine, Islamic Malang University

** Lecturers of Faculty of Medicine, Islamic Malang University

e-mail: Iqbalazizpamungkas@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Malathion has the effect of *acetylcholinesterase inhibitors* and free radicals that can affect erythrocyte and Hb level. *Urena lobata* water extract has potential as an antioxidant, anti-inflammatory, and membrane stabilisator, but research on the *Urena lobata* leaf effect to erythrocyte is still rare. This study aims to prove the effect of *Urena lobata* water extract on hemoglobin levels and the percentage of erythrocyte abnormal form in the juvenile phase of *Danio rerio* exposed to chronic malathion.

Method: Experimental laboratory *in vivo* with posttest only control group design using *Danio rerio* aged 45 day divided into 2 control groups and 3 treatment groups ($n=5$). Malathion exposure was given for 40 days to all groups except negative control. *Urena lobata* leaf water extract is given at P1 (125 mg/l), P2 (250 mg/l), and P3 (500 mg/l) for 40 days. Hb levels are observed with a commercial Hb meter and abnormal erythrocyte images were observed on blood smear with giemsa staining technique then observed in a microscope with 400x magnification. Data analysis using *oneway ANOVA* and *LSD* with a significance level of $p<0.05$.

Result: *Urena lobata* leaf water extract at doses of 125mg/l, 250mg/l, and 500mg/l inhibited Hb levels depression approximately 10%, 40%, and 20% compared to positive control, while abnormal erythrocytes enhancement inhibited respectively about 40%, 70%, 50% compared to positive control ($p<0.05$). Chronic malathion exposure decreased Hb level approximately 20% and abnormal erythrocyte percentage 30 fold compared to normal control ($p<0,05$).

Conclusion: *Urena lobata* leaf water extract inhibited the depression of Hb level and enhancement of erythrocyte abnormal form in the juvenile *Danio rerio* exposed to malathion chronically.

Keywords: *Urena lobata*, malathion, erythrocyte, hemoglobin.

PENDAHULUAN

Malathion adalah pestisida yang termasuk dalam golongan organofosfat berwujud cairan yang tidak berwarna dan memiliki tingkat toksisitas ringan berdasarkan nilai *Lethal Dose-50* (LD-50) 1.400 mg/kg serta mudah didegradasi sehingga sering digunakan pada sektor pertanian^{1,2}. *Malathion* masuk ke dalam tubuh melalui rute oral, topikal, dan inhalasi. *Malathion* di dalam tubuh dimetabolisme menjadi senyawa malaoxon dan produk samping senyawa radikal bebas. Malaoxon merupakan senyawa aktif *malathion* yang memiliki efek *acetylcholinesterase inhibitor*. Akumulasi asetilkolin akan menghasilkan overstimulasi reseptor muskarinik dan nikotinik sehingga menimbulkan gejala seperti kejang, paralisis otot, sesak nafas, diare, bahkan koma¹. Senyawa *malathion* dapat mempengaruhi struktur dan fungsi eritrosit secara langsung dan tidak langsung. Penurunan asetilkolinesterase berhubungan dengan peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang menimbulkan kondistres oksidatif bila tidak diimbangi antioksidan³. Stres oksidatif akan menginisiasi peroksidasi lipid pada membran sel. Hal tersebut membuat membran eritrosit mudah pecah sehingga menurunkan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah⁴. Kadar hemoglobin dan gambaran histologi eritrosit dapat dipakai untuk mengukur gangguan fungsi dan struktur eritrosit.

Pulutan (*Urena lobata*) adalah herbal yang mempunyai potensi dalam pengobatan. Tumbuhan ini dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk mengatasi malaria, muntah darah, pendarahan, trauma, sakit gigi, dan demam⁵. Pada uji pre klinik didapatkan bahwa flavonoid herbal *Urena lobata* memiliki mekanisme antioksidan, *scavenger* ROS dan menghambat stres oksidasi⁶. Hal ini ditunjukkan dengan kemampuan *Urena lobata* dalam penghambatan aktivitas radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yang hampir sama dengan asam askorbat⁷. Senyawa flavonoid seperti rutin, quercetin, dan kaempferol merupakan zat aktif yang mempunyai kemampuan untuk menurunkan hemolisis⁸. Hingga saat ini belum ada riset mengenai potensi daun *Urena lobata* dalam menghambat kerusakan eritrosit akibat paparan *malathion*.

Ikan zebra (*Danio rerio*) merupakan model hewan coba yang biasa digunakan dalam penelitian kesehatan⁹. *Danio rerio* memiliki kemiripan genom dengan manusia sekitar 75%¹⁰. Menurut Kuelkeaw dan Sugiyama (2015), *Danio rerio* memiliki gen eritropoesis yang mirip dengan manusia, termasuk gen yang berperan pada biosintesis heme, membran eritrosit, dan globin¹¹. Keunggulan lainnya adalah tubuh ikan yang transparan, siklus hidupnya yang singkat, serta memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi. *Juvenile* merupakan fase dimana makhluk hidup mengalami pertumbuhan dan perkembangan yang pesat. Pada fase ini, organisme rentan terhadap senyawa xenobiotik yang dapat mengganggu proses tumbuh kembangnya karena organ metabolisme yang belum

matur¹². Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian mengenai efek ekstrak daun *Urena lobata* terhadap kadar hemoglobin dan gambaran eritrosit *Danio rerio* fase *juvenile* yang dipaparkan *malathion* kronis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain *control group post-test only*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, pada bulan Februari hingga April 2019. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 1074-KEP-UB tahun 2019.

Pemeliharaan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba ikan *Danio rerio* fase *juvenile* (usia 1-2 bulan) yang telah disertifikasi oleh Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga dengan nomor 005/ULMKILP/UA.FPK/03/2019. Jumlah *Danio rerio* yang digunakan adalah 25 ekor. *Danio rerio* dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. *Danio rerio* diberi pencahayaan 14 jam terang dan 10 jam gelap, suhu air sekitar 26°C, dan dipasang aerator. Pemberian pakan pada hewan coba dilakukan setiap hari sekali dengan dosis pemberian 4% BB/hari

Pemaparan Malathion

Malathion Rider® 500 g/l diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 2,5 mg/l dan dipaparkan selama 40 hari pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Dosis mengacu pada penelitian Cooket *al.* (2005) dengan sedikit modifikasi¹³.

Pembuatan Dekokta Daun Urena lobata

Simplisia daun *Urena lobata* yang telah disertifikasi dari UPT Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur dengan nomor 074/096A/102.7/2019. Simplisia *Urena lobata* seberat 5g dimasukkan ke dalam panci dekok berisi 500 ml air yang sudah dipanaskan pada suhu 90°C selama 30 menit. Setelah dingin dekokta diperas ke dalam labu Erlenmeyer. Kemudian diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 125 mg/l, 250 mg/l, dan 500 mg/l dan diberikan pada kelompok perlakuan selama 40 hari. Penentuan dosis berdasarkan dari penelitian Purnomo *et al.* (2015) dengan sedikit perubahan¹⁴.

Pengambilan Sampel Darah

Air dalam bejana didinginkan hingga suhu 17°C kemudian ikan dimasukkan ke dalam bejana. Es ditambahkan secara perlahan hingga ikan terbius¹⁵. Ikan diambil menggunakan jaring kemudian ditaruh di atas nampan. Ekor ikan dipotong lalu darah ikan diambil sekitar 1 tetes untuk pemeriksaan kadar Hb dan 1 tetes untuk membuat hapusan darah.

Pengukuran Kadar Hemoglobin

Darah diambil dari *Danio rerio* kemudian diteteskan pada Hb meter komersial *Easy Touch*® yang sudah diatur. Kemudian nilai Hb dicatat dalam satuan g/dl.

Pengecatan dan Pengamatan Gambaran Eritrosit

Darah *Danio rerio* diambil 1 tetes pada *object glass* kemudian dibuat hapusan darah dan dibiarkan sekitar 5 menit hingga hapusan kering. Hapusan ditetesi larutan methanol absolut dan dibiarkan selama 10-30 detik. Hapusan kemudian ditetesi Giemsa 5% sampai menutup seluruh objek dan dibiarkan selama 20-30 menit. Setelah kering preparat dibilas menggunakan air kemudian dikeringkan. Hasil dari hapusan darah diamati dibawah mikroskop perbesaran 400x. Jumlah sel darah abnormal dihitung dalam bentuk persentase.

$$\% \text{ bentuk eritrosit abnormal} = \frac{\sum \text{eritrosit abnormal}}{100 \text{ Eritrosit}} \times 100\%$$

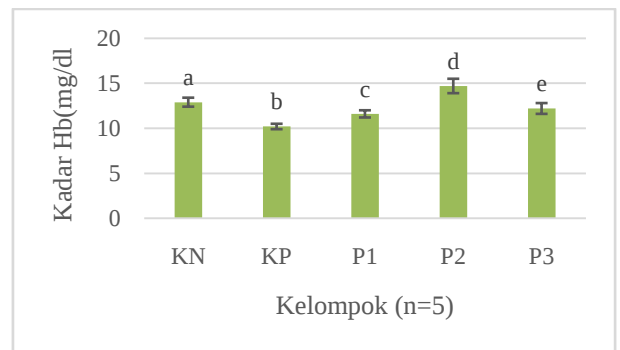
Analisa Data

Data yang dinyatakan normal dan homogen dianalisa dengan *One Way Analysis of Varian*, dilanjutkan dengan *Post Hoc test* yaitu *Least Significance Different* untuk menentukan perbedaan antar kelompok perlakuan. Data dinyatakan signifikan bila nilai $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Efek Dekokta Daun *Urena lobata* Terhadap Kadar Hemoglobin *Danio rerio* yang Dipapar *Malathion* Kronis

Efek dekokta daun *Urena lobata* terhadap kadar hemoglobin *Danio rerio* yang dipapar *malathion* secara kronis dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Histogram Kadar Hemoglobin *Danio rerio* Fase Juvenile yang Dipapar *Malathion* Kronis dan Dekokta Daun *Urena lobata*

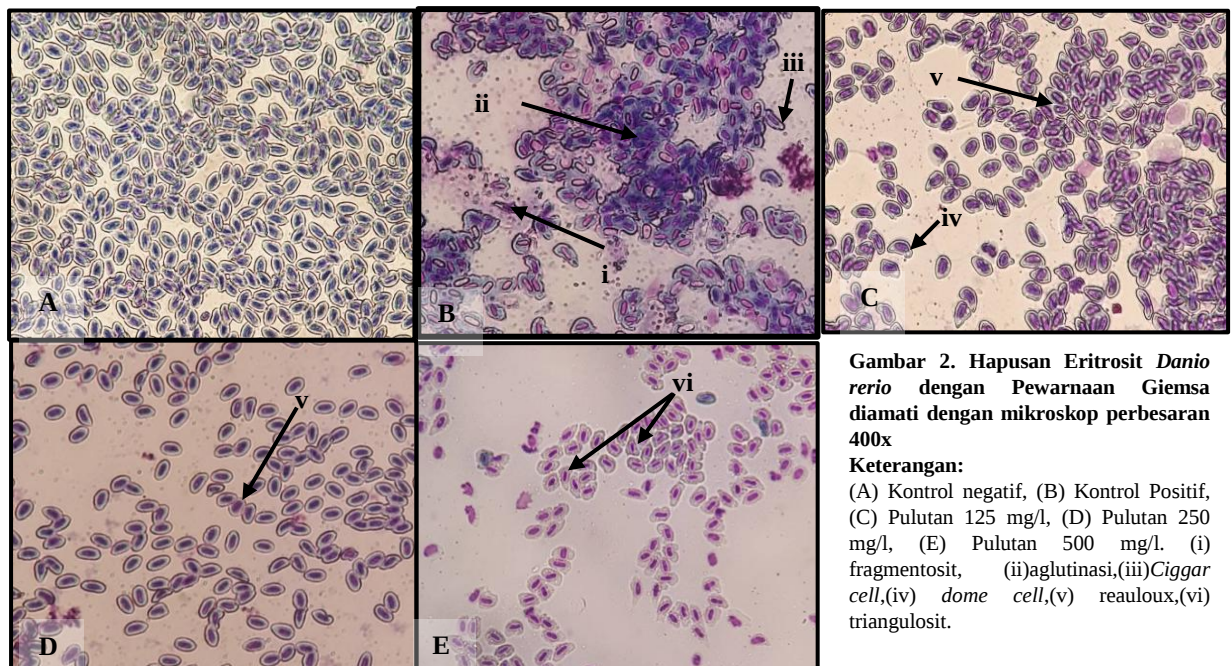
Keterangan:

a,b,c,...: notasi berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$).

Dekokta daun *Urena lobata* dosis 125 mg/l, 250 mg/l, dan 500 mg/l menghambat penurunan kadar Hb berturut-turut sekitar 10%, 40% dan 20% dibandingkan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Pemberian dekokta daun *Urena lobata* menghambat penurunan kadar Hb yang berbeda signifikan antar kelompok perlakuan dengan efek terkuat pada dosis 250 mg/l. Dekokta daun *Urena lobata* dosis 250 mg/l meningkatkan kadar Hb hingga lebih tinggi dibandingkan kontrol normal ($p < 0,05$). Paparan *malathion* secara kronis menurunkan kadar Hb sekitar 20% dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$).

Efek Dekokta Daun *Urena lobata* Terhadap Persentase Bentuk Eritrosit Abnormal *Danio rerio* yang Dipapar *Malathion* Kronis

Efek dekokta daun *Urena lobata* terhadap bentuk eritrosit abnormal *Danio rerio* terpapar *malathion* secara kronis ditunjukkan pada gambar 2 dan 3.

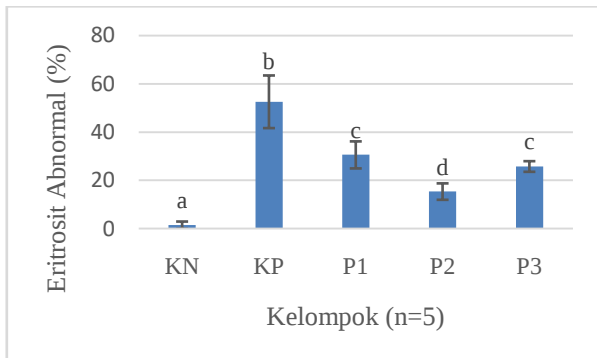


Gambar 2. Hapusan Eritrosit *Danio rerio* dengan Pewarnaan Giemsa diamati dengan mikroskop perbesaran 400x

Keterangan:

(A) Kontrol negatif, (B) Kontrol Positif, (C) Pulutan 125 mg/l, (D) Pulutan 250 mg/l, (E) Pulutan 500 mg/l. (i) fragmentosit, (ii) aglutinasi, (iii) Cigar cell, (iv) dome cell, (v) reuloux, (vi) triangulosit.

Kelompok normal menunjukkan gambaran sel eritrosit berbentuk elips dan berinti, sedangkan pada kelompok kontrol positif banyak ditemukan gambaran eritrosit abnormal berupa fragmentosit, *dome cell*, *cigar cell*, dan aglutinasi dan gambaran makrositer dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok dengan dekokta daun *Urena lobata* 125 mg/L dan 250 mg/L dan 500 mg/L menunjukkan penurunan jumlah eritrosit abnormal dan gambaran normokrom meskipun masih ditemukan sel abnormal seperti triangulosit, *dome cell* dan *rouleaux* dalam jumlah yang kecil.



Gambar 3. Histogram Persentase Bentuk Eritrosit Abnormal *Danio rerio* Fase Juvenile yang Dipapar *Malathion* Kronis dan *Urena lobata*.

Keterangan:

a,b,c,...: notasi berbeda menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$).

Pemberian dekokta daun *Urena lobata* dosis 125 mg/l, 250 mg/l, dan 500 mg/l menghambat peningkatan persentase bentuk eritrosit abnormal *Danio rerio* yang dipapar *malathion* kronis berturut-turut sekitar 40%, 70%, dan 50% dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$). Pemberian dekokta daun *Urena lobata* dosis 125 mg/l dan 500 mg/l memiliki potensi yang sama yang sama dalam menghambat peningkatan persentase bentuk eritrosit abnormal sedangkan dosis 250 mg/l memiliki efek lebih kuat dibanding dua dosis yang disebut sebelumnya ($p < 0,05$). Paparan *malathion* secara kronik meningkatkan persentase bentuk eritrosit abnormal sekitar 30 kali dibandingkan KN ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Efek Paparan *Malathion* Kronis Terhadap Persentase Bentuk Eritrosit Abnormal dan Kadar Hemoglobin *Danio rerio*

Pemberian *malathion* menurunkan kadar Hb dan meningkatkan persentase bentuk eritrosit abnormal. Efek tersebut diduga karena sifat *malathion* sebagai *acetylcholinesterase inhibitor* dan hasil metabolismenya berupa radikal bebas¹⁶.

Efek *acetylcholinesterase inhibitor* malaoxon menimbulkan stimulasi dari reseptor muskarinik dan nikotinik yang berlebihan. Pada pernafasan akan timbul Bradipneus sehingga terjadi keadaan hipoksia¹⁷. Deoksigenasi berkepanjangan memicu lepasnya ikatan

ankyrin dan *band 3 protein* sehingga terjadi pelepasan ikatan *spectrin* dan *actin* dari membran eritrosit. Hal ini diduga dapat meningkatkan hemolisis karena berkurangnya dukungan mekanik oleh sitoskeleton¹⁸. Peningkatan produksi ROS memiliki dampak buruk bagi eritrosit pada tingkat sub seluler. Membran eritrosit mengandung PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) dalam konsentrasi tinggi mengakibatkan membran eritrosit rentan terhadap peroksidasi lipid yang memicunya integritas membran eritrosit dan penurunan aktivitas enzim membran misalnya, *ATPase* dan *acetylcholinesterase*¹⁹. Hal ini memicu terjadinya perubahan bentuk eritrosit karena terjadi kerusakan pada membran sel atau bahkan hemolisis.

Konsekuensi utama dari hemolisis adalah pelepasan kandungan intraseluler eritrosit, khususnya Hb dan *arginase*. Pelepasan Hb menyebabkan pengambilan NO (*Nitric Oxide*). Peningkatan pengambilan NO akan menyebabkan terbentuknya senyawa radikal yang dapat menimbulkan peroksidasi lipid pada membran eritrosit. Selain itu Hb juga bereaksi dengan H_2O_2 yang dihasilkan selama kondisi inflamasi, memicu pembentukan *ferryl Hb* sehingga meningkatkan kadar ROS. Stres oksidatif mengaktifkan *Toll-like receptor 4* dan menginduksi faktor pro inflamasi *nuclear kappa-light-chain-enhancer* dari sel B¹⁹. Hal ini diduga menyebabkan reaksi inflamasi pada eritrosit dan memicu kerusakan membran eritrosit.

Efek Dekokta Daun *Urena lobata* Terhadap Persentase Bentuk Eritrosit Abnormal *Danio rerio* yang Dipapar *Malathion* Kronis

Pemberian dekokta daun *Urena lobata* menghambat peningkatan persentase bentuk eritrosit abnormal. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan zat aktif *Urena lobata* yang berperan sebagai antioksidan dan anti-inflamasi.

Dekokta daun *Urena lobata* mengandung *stigmaterol*, *quercetin*, *kaempferol*, *rutin*, *afzelin*, *astragalin*, *tiliroside*, dan *crenuloside*²⁰. Kandungan zat aktif daun *Urena lobata* yang paling banyak adalah *stigmaterol*, *mangiferin* dan *gossypetin*, *Chrysoeriol* β *Sitosterol*¹⁴. *Stigmaterol*, *mangiferin* dan *gossypetin* mampu menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan aktivitas katalase, SOD, dan glutathion^{21,22,23}. Mekanisme kerja senyawa tersebut sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektronnya pada senyawa radikal bebas dengan tujuan menstabilkannya^{24,25,26,27,28}. Dengan terstabilkannya senyawa oksidan maka reaksi peroksidasi lipid yang rentan dialami oleh membran eritrosit akan menurun. Hal ini membantu melindungi membran dari kerusakan oksidatif pada eritrosit yang menyebabkan gangguan integritas membran.

Selain efek antioksidan, daun pulutan juga memiliki efek anti-inflamasi. Kandungan flavonoid *Chrysoeriol* dan β *Sitosterol* merupakan zat aktif yang mampu menghambat aktivitas dari mediator inflamasi sehingga melindungi sel eritrosit dari reaksi inflamasi karena kondisi stres oksidatif dan peningkatan tahanan perifer pembuluh darah. *Chrysoeriol* dan β *Sitosterol* mampu menghambat peningkatan kadar IL 4, Ig-E dan histamin

sehingga menurunkan aktivitas mediator inflamasi yang menginduksi reaksi inflamasi^{29,30}. Hal ini mencegah sel eritrosit mengalami kelainan bentuk dan hemolisis³¹.

Penghambatan peningkatan persentase bentuk eritrosit abnormal dosis 125 mg/l memiliki efek lebih rendah daripada 250 mg/l. Hal ini sesuai dengan teori dosis dan efek dalam farmakologi, karena dosis yang diberikan lebih rendah sehingga efek yang diberikan lebih rendah dibandingkan dosis 250 mg/l dalam menghambat aktivitas *malathion* dalam menimbulkan kerusakan pada eritrosit. Sedangkan pada 500 mg/l memiliki efek lebih rendah dalam menghambat kerusakan eritrosit dibandingkan dengan dosis 250 mg/l. Hal ini diduga karena pemberian dosis lebih besar sehingga terjadi perubahan pada senyawa antioksidan menjadi pro-oksidan. Penggunaan antioksidan melebihi batas menyebabkan efek toksik pada tubuh sehingga penggunaannya harus dibatasi³². Disamping itu ikan *Danio rerio* fase juvenile diduga sangat rentan terhadap senyawa xenobiotik karena belum mengalami maturasi organ secara sempurna khususnya organ yang berperan dalam metabolisme^{12,14}.

Pada pengamatan bentuk eritrosit didapatkan gambaran berupa fragmentosit, aglutinasi, *cigar cell*, *dome cell*, *reauloux*, triangulosit. Fragmentosit adalah pecahan sel darah merah yang terjadi karena menabrak benang-benang fibrin dalam lumen kapiler. *Cigar cell* adalah sel darah merah yang bentuknya menyerupai rokok cerutu. *Dome cell* adalah sel darah merah dengan tonjolan seperti kulit yang terkena api, karena sebagian sitoplasmanya melepuh karena adanya defek membran. Formasi rouleaux terjadi karena perubahan zeta potensial dan perubahan susunan protein serum yang abnormal. Adanya fragmentosit menunjukkan adanya hemolisis. Eritrosit makrositik adalah ukuran eritrosit yang lebih besar dari ukuran biasanya. Hal ini ditimbulkan gangguan pada proses pematangan DNA pada inti eritrosit sehingga maturasi inti lebih lambat dan membuat kromatin lebih longgar³³. Adanya bentuk abnormal disebabkan oleh kerusakan membran karena efek *malathion*. Bentuk sel abnormal menurun dengan pemberian dekokta daun pulutan. Dari pengamatan dengan mikroskop, gambaran eritrosit yang paling mendekati normal adalah pada kelompok dosis kedua.

Eritrosit merupakan sel yang berperan sebagai transporter gas oksigen, karbondioksida dan berperan dalam menjaga kestabilan asam basa³⁴. Membran eritrosit terdiri dari lipid bilayer, integral protein membran dan membran skeleton. Sekitar 50% dari membran adalah protein, 20% fosfolipid, 20% molekul kolesterol dan hingga 10% adalah karbohidrat. Bentuk eritrosit dapat dipengaruhi oleh aktivitas fisik yang berlebihan, *shear stress*, dan konsumsi obat-obatan. Defek protein membran menimbulkan beberapa kelainan bentuk membran eritrosit seperti hereditary spherocytosis dan elliptocytosis. Perubahan komposisi lipid karena kelainan kongenital dalam kolesterol plasma atau fosfolipid dapat dikaitkan dengan kelainan

membran lain seperti achantocyte, stomatocyte, dan echinocyte³⁵.

Efek Dekokta Daun *Urena lobata* Terhadap Kadar Hemoglobin *Danio rerio* yang Dipapar *Malathion* Kronis

Pemberian dekokta daun *Urena lobata* menghambat penurunan kadar Hb *Danio rerio* yang dipapar *malathion* secara kronis. Efek tersebut berhubungan dengan kandungan zat aktif yang bekerja sebagai antioksidan dan anti-inflamasi seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Selain itu juga memiliki efek sebagai membran stabilisator.

Stigmasterol, *mangiferin* dan *gossypetin* merupakan zat aktif yang memiliki efek anti oksidan sehingga dapat menghambat radikal bebas yang ditimbulkan oleh *malathion* dengan mekanisme yang sama pada penjelasan sebelumnya yang mencegah ruptur pada membran eritrosit sehingga Hb tidak keluar dari dalam eritrosit^{21,22,23}. Flavonoid *Urena lobata* berinteraksi dengan membran sel dan mampu melindungi struktur membran sel. Pemberian dekokta daun *Urena lobata* tersebut mampu menstabilkan kondisi membran eritrosit dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Selain itu dengan terjaganya membran eritrosit potensi hemolisis akan menurun sehingga konten intraseluler seperti Hb tidak mengalami pelepasan dari eritrosit³⁶.

Pemberian dekokta daun *Urena lobata* 125 mg/l menghasilkan efek penghambat penurunan kadar Hb lebih rendah dibandingkan kelompok dosis 250 mg/l dan 500 mg/l. Hal ini sesuai dengan teori dosis dan efek yang telah dijelaskan sebelumnya, dimana dosis yang diberikan lebih rendah sehingga efek yang ditimbulkan lebih rendah dalam melindungi sel eritrosit dari kerusakan karena peningkatan ROS. Dekokta 500 mg/l memiliki efek lebih kecil dalam menghambat penurunan kadar Hb dibandingkan dengan 250 mg/l. Pemberian antioksidan dosis tinggi bisa berubah menjadi pro-oksidan seperti penjelasan sebelumnya. Pada penelitian Wilms *et al.* tahun 2008 tentang pemberian *quercetin* yang bertujuan untuk melindungi leukosit melawan kerusakan oksidatif DNA yang diinduksi *superoxide*. Konsentrasi 1-50 μM *quercetin* menurunkan tingkat kerusakan oksidatif DNA namun pada dosis 100 μM jumlah kerusakan meningkat³⁷. Dosis 250 mg/l mampu meningkatkan kadar Hb diatas kelompok normal. Hal ini diduga efek dari kandungan fitokimia daun pulutan seperti karbohidrat, flavonoid dan polifenolik yang meningkatkan aktivitas hematopoietik³⁸.

Beberapa faktor yang mempengaruhi efek dekokta *Urena lobata* adalah pengaruh antar senyawa aktif, lamanya paparan dan usia ikan. Setiap senyawa memiliki peranan berbeda-beda sehingga saling mempengaruhi antar satu sama lain¹⁴. Lamanya paparan juga dapat mempengaruhi organ yang berperan pada metabolisme senyawa pulutan dan *malathion*. Paparan oleh senyawa aktif dari tumbuhan dengan semakin lama dapat mempengaruhi perubahan kimia pada membran sel sehingga menyebabkan pecahnya membran sel³⁹. Ikan zebra usia *juvenile* belum mengalami maturasi organ

yang berfungsi untuk metabolisme senyawa xenobiotik secara sempurna sehingga lebih rentan mengalami efek toksik^{12,14}.

Hemoglobin adalah protein yang terdiri dari empat rantai polipeptida mengandung zat besi pada masing-masing polipeptida. Hemoglobin berfungsi untuk memuat dan melepas O₂ dari paru-paru menuju ke jaringan⁴⁰. Faktor yang mempengaruhi produksi Hb adalah Asupan zat besi, vitamin B12, asam folat, gangguan ginjal, dan perdarahan. Selain itu produksi Hb juga dipengaruhi oleh faktor eksternal seperti ketinggian. Penurunan kadar Hb bisa terjadi karena beberapa kondisi penyakit misalnya thalasemia, porfiria, anemia sel sabit, dan perdarahan. Sedangkan kadar Hb biasanya meningkat ketika tubuh berada pada keadaan dengan kadar oksigen yang rendah seperti pada saat berada pada ketinggian dan sedang berolahraga⁴¹.

KESIMPULAN

1. Pemberian dekokta daun *Urena lobata* menghambat penurunan kadar hemoglobin *Danio rerio* juvenile yang dipapar *malathion* secara kronis.
2. Pemberian dekokta daun *Urena lobata* menghambat peningkatan persentase bentuk eritrosit abnormal *Danio rerio* juvenile yang dipapar *malathion* secara kronis.

SARAN

Melakukan penelitian lebih lanjut pada organisme dengan tingkat lebih tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada pembimbing, penguji, ikatan orangtua mahasiswa (IOM).

DAFTAR PUSTAKA

1. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. *Malathion*, CID=4004, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4004> (accessed on Apr. 5, 2019).
2. Hamzah, A. H. *Tracer Pathway* dari Insektisida *Malathion* dan Pengaruhnya Terhadap Organ Hati dan Otak Tikus. *MAKARA, KESEHATAN*. 2009; **13**(2):69-73
3. Gupta, S. Belle, V. S. Kumbarakeri Rajashekhar, R. Jogi, S. Prabhu, R. K. Correlation of Erythrocyte Acetylcholinesterase Enzyme Activity with Various RBC Indices. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2017.
4. Hundekari, I. A. Suryakar, A. N. Rath, D. B. Acute Organo-phosphorus Pesticide Poisoning in North Karnataka, India: oxidative damage, haemoglobin level and total leukocyte. *African Health Sciences*. 2013; **13**(1): 129 – 136.
5. Islam, M. T. Uddin, M. A. A Revision on *Urena lobata* L. *International Journal of Medicine*. 2017; **5**(1). 126-131.
6. Ferreira, J.F.S., Luthria, D.L., Sasaki T., Heyerick A. Flavonoids from *Artemisia annua* L. As antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. *Molecules*. 2010; **15**(5):313570.
7. Ali, S. Faruq, K. O. Rahman, A. A. Hossain, A. Antioxidant and Cytotoxic Activities of Methanol Extract of *Urena lobata* (L) Leaves. *The Pharma Innovation Journal*. 2013; **2**(2).
8. Asgary, S. Naderi, G. Askari, N. Protective Effect of Flavonoids Against Erythrocyte Hemolysis by Free Radicals. *Experimental and Clinical Cardiology*. 2005; **10**(2): 88–90.
9. Reed, B. & Jennings M. Guidance on the housing and care of Zebrafish (*Danio rerio*). 2011; Pp 9-15
10. Vazquez, F.J.S., Terry, M.I., Felizardo, V.O., Vera, L.M. Daily Rhythms of toxicity and effectiveness of anesthetics (MS222 and Eugenol) in Zebrafish (*Danio rerio*). *Chronobiology International*. 2011; **28**(2):109-117.
11. Kulkeaw, K. and Sugiyama, D. Zebrafish erythropoiesis and the utility of fish as models of anemia. *Kulkeaw and Sugiyama Stem Cell Research & Therapy*. 2012; **3**(55): 1–11.
12. Parichy, D. M., Elizondo, M. R., Mills, M. G., Gordon, T. N., & Engeszer, R. E. Normal table of postembryonic zebrafish development: staging by externally visible anatomy of the living fish. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*. 2009; **238**(12): 2975–3015.
13. Cook, L. W., Paradise, C. J., & Lom, B. The Pesticide *Malathion* Reduces Survival and Growth in Developing Zebrafish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2005; **24**(7): 1745. doi:10.1897/04-331r.1
14. Purnomo, Y., Soeatmadji, D. W., Sumitro, S. B., & Widodo, M. A. Anti-diabetic potential of *Urena lobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2015; **5**(8), 645–649.
15. Collymore C, Tolwani A, Lieggi C, Rasmussen S. Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2014; **53**(2):198–203.
16. Bingham, E. Cohrssen, B. Powell, C.H. Patty's Toxicology Volumes 1-9 5th ed. *John Wiley & Sons*. New York, N.Y., 2001; **7**: 867
17. Mindukshev, I. V. Skverchinskaya, E. A. Khmelevskoy, D. A. Dobrylko, I. A., & Goncharov, N. V. Acetylcholinesterase Inhibitor Paraoxon Intensifies Oxidative Stress Induced in Rat Erythrocytes In Vitro. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2019; **13**(1): 85–91.
18. Grygorczyk, R. Orlov, S. N. Effects of Hypoxia on Erythrocyte Membrane Properties-Implications for Intravascular Hemolysis and Purinergic Control of

- Blood Flow. *Frontiers in physiology*. 2017;**8** Pp 1110.
19. Kuhn, V. *et al.* Erythrocyte Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. Antioxidants & redox signaling. 2017;**26**(13):718–742.
 20. N'danikou, S. Achigan-Dako, E.G. Oyen, L.P.A. Urenalobata L. [Internet] Record from PROTA4U. Brink, M. & Achigan-Dako, E.G. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. 2011
 21. Panda S, Jafri M, Kar A, Meheta BK. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia*. 2009.; **80**(2): 123-6
 22. Matkowski A, Kus P, Goralska E, Woźniak D. Mangiferin-abioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. *ini Rev Med Chem*. 2013; **13**(3): 439-55.
 23. Chen, A. Y., & Chen, Y. C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food chemistry*, 2013; **138**(4): 2099–2107.
 24. Li, Y., *et al.* Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*. 2016;**8**(3):167.
 25. Chen, A. Y., & Chen, Y. C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food chemistry*. 2013. **138**(4):2099–2107.
 26. Shin, S. W., Jung, E., Kim, S., Kim, J. H., Kim, E. G., Lee, J., & Park, D. Antagonizing effects and mechanisms of afzelin against UVB-induced cell damage. *PloS one*. 2013; **8**(4), e61971.
 27. Grochowski, D. M., Locatelli, M., Granica, S., Cacciagrano, F. and Tomczyk, M. A Review on the Dietary Flavonoid Tiliroside. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2018;**17**:1395-1421.
 28. Kozioł, E., & Skalicka-Woźniak, K. Imperatorin-pharmacological meaning and analytical clues: profound investigation. *Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 2016. **15**, 627–649.
 29. Saeidnia S, Manayi A, Gohari AR, Abdollahi M. The story of betasitosterol-a review. *Eur J Med Plants*. 2014; **4**(5): 590-609.
 30. Chahar MK, Sharma N, Dobhal MP, Joshi YC. Flavonoids: aversatile source of anticancer drugs. *Pharmacogn Rev*. 2011; **5**(9):1-12.
 31. Ramamoorthy S, Cidlowski JA. Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016;**42**(1):15–vii.
 32. Ningrum, D. I. L., & Abdulgani, N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus (*Channa Striata*) pada Struktur Histologi Hati Mencit Hiperglemik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2014; **2**(1): 2337-3520
 33. Valenciano, A.C., Cowell, R.L., Rizzi, T.E., & Tyler, R.D. Red Blood Cells. *Atlas of Canine and Feline Pheripheral Blood Smear*. 2014. Pp 23-109
 34. Guyton A.C, dan Hall, J.E. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Penerjemah: Ermita I, Ibrahim I. Singapura: Elsevier. 2014;**12**(33):445-452
 35. Hoffbrand, A. V., & Pettit, J. E. Essential haematology. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 2016;**7**(2):19-23
 36. Oteiza, P.I., Erleijman, A.G.1., Verstraeten, S.V.1., Keen, C.L., & Fraga, C. Flavonoid-Membrane Interactions: A Protective Role of Flavonoids at the Membrane Surface?. *Journal of Clinical & Developmental Immunology*. 2005;**12**(1): 19-25
 37. Wilms L.C., Kleinjans, J.C.S, Moonen, E.J.C., Briede, J.J. Discriminative Protection Against Hydroxyl and Superoxide Anion Radicals by Quercetin in Human Leucocytes *in vitro*. *Toxicology in vitro*. 2008; **22**(1):301-307
 38. Chaddha, S. Aman, M. Role of Flavonoid in The Treatment of Hemolytic Anemia-A Review. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 2016;**3**(5): 212-216
 39. Underwood J.C.E. Patologi Umum dan Sistemik. Jakarta: Penerbit EGC. 2001; Ed
 40. Sherwood, L. Human physiology: from cells to systems. Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning. 2014;**9**(11):363-364
 41. Farid Y, Lecat P. Biochemistry, Hemoglobin Synthesis. [Updated 2019 Jan 13]. In: StatPearls [Internet]. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; 2019 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53>