

Efek Dekokta Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Kadar Hemoglobin dan Persentase Sel Darah Merah Abnormal Ikan Zebra (*Danio rerio*) Dewasa yang Dipapar Malathion Secara Kronik

Mita Sofiani*, Dian Novita W.**, Yudi Purnomo**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

**Staff Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

e-mail: sofianimita11@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Malathion adalah satu jenis pestisida organofostat yang mengalami biotransformasi di dalam tubuh menjadi malaoson dan senyawa radikal bebas. Malaoson bekerja sebagai *acetylcholinesterase inhibitor* dan radikal bebas sehingga dapat menyebabkan krisis kolinergik dan mempengaruhi struktur serta fungsi sel darah merah. Dekokta daun pulutan memiliki potensi sebagai antioksidan, anti-inflamasi, dan mencegah perdarahan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh dekokta daun pulutan terhadap kadar hemoglobin dan persentase sel darah merah abnormal ikan zebra yang dipapar malathion secara kronik.

Metode : Eksperimental laboratorium secara in vivo dengan desain *control group post test only*. Ikan zebra dibagi ke dalam 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan dosis malathion 5 ppm dan dekokta daun pulutan 125 mg/L, 250 mg/L, dan 500 mg/L. Kadar Hb diukur dengan alat Hb meter komersial. Gambaran sel darah merah abnormal diamati dengan membuat hapusan darah dengan pewarnaan giemsa kemudian diamati pada mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X dan dipersentase. Analisa data menggunakan *one way ANOVA* dan *LSD* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Hasil : Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 125 mg/L, 250 mg/L dan 500 mg/L menghambat penurunan kadar hemoglobin secara berturut-turut kurang lebih 10%, 30% dan 20% dibandingkan kelompok kontrol positif, sedangkan pada perubahan bentuk abnormal eritrosit secara berturut-turut sekitar 60%, 80% dan 60% dibandingkan kelompok kontrol positif. Pemberian malathion dapat menurunkan kadar Hb sebesar 15 % dan meningkatkan perubahan bentuk abnormal eritrosit sebanyak 27 kali lebih besar dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Kesimpulan : Dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) menghambat penurunan kadar hemoglobin dan menghambat persentase bentuk abnormal eritrosit pada ikan zebra (*Danio rerio*) dewasa yang dipapar malathion secara kronik.

Kata Kunci : Malathion, *Urena lobata*, sel darah merah, ikan zebra (*Danio rerio*).

Effect of Pulutan Leaf (*Urena lobata*) Decoction on Hemoglobin Levels and Percentage of Abnormal Red Blood Cell in Adult Zebra Fish (*Danio rerio*) Exposed Malathion Chronically

Mita Sofiani*, Dian Novita W.**, Yudi Purnomo**

*Medical Students of the Faculty of Medicine of University of Islam Malang

** Teaching Staff of the Faculty of Medicine, University of Islam Malang

e-mail: sofianimita11@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Malathion is a type of organofostat pesticide that go through biotransformation in the body into malaoson and free radical compounds. Malaoson works as an inhibitor of *acetylcholinesterase* and free radicals so it can cause cholinergic crisis and affect the structure and function of red blood cells. Decoction of pulutan leaf has potential as an antioxidant, anti-inflammatory, and prevent bleeding. This study aims to prove the effect of pulutan decoction leaves on hemoglobin levels and the percentage of zebrafish red blood cells exposed to malathion chronically.

Method: Experimental laboratory in vivo with the control group post test design only. Fish are divided into 2 control groups and 3 treatment groups with 5 ppm malathion dosage and 125 mg/L, 250 mg/L and 500 mg/L of pulutan decoction leaves. Hb levels are seen with commercial Hb meters. The description of red blood cells observed by making blood smear with giemsa staining and then examined in a binocular microscope with 400X magnification and percentage. Data analysis using one-way ANOVA and LSD with a significance level of $p < 0,05$.

Findings: Decocated pulutan leaves at a dose of 125 mg / L, 250 mg / L and 500 mg / L inhibited a decrease in hemoglobin levels of approximately 10%, 30% and 20% compared to the positive control group, whereas in changes in the abnormal shape of erythrocytes in a row respectively 60%, 80% and 60% compared to the positive control group. The administration of malathion can reduce Hb levels by 15% and increase the abnormal deformation of erythrocytes by 27 times greater than the negative control group.

Conclusion: Pulutan decoct (*Urena lobata*) leaves inhibits the decrease in hemoglobin levels and inhibit the percentage of abnormal forms of erythrocytes in zebrafish (*Danio rerio*) adult exposed to malathion chronically.

Keywords: Malathion, *Urena lobata*, red blood cell, zebra fish (*Danio rerio*)

PENDAHULUAN

Malathion merupakan salah satu jenis pestisida organofostat yang memiliki kadar LD50 sebesar 1,375 mg/kg sehingga banyak digunakan pada sektor pertanian¹. Malathion dapat masuk ke dalam tubuh melalui lambung, kulit, dan inhalasi². Malathion memiliki mekanisme kerja utama sebagai asetilkolinesterase inhibitor sehingga asetilkolin dalam tubuh menumpuk dan menimbulkan krisis kolinergik dengan gejala mual, muntah, bronkospasme, miosis, penglihatan kabur, hipersalivasi dan paralisis otot. Gangguan tersebut dapat mengancam jiwa dan menyebabkan kematian³. Malathion dapat mempengaruhi struktur dan fungsi dari sel darah merah. Malathion akan mengalami biotransformasi di dalam tubuh oleh enzim sitokrom P450 menjadi malaoxon dan senyawa radikal bebas⁴. Peningkatan metabolit aktif tersebut akan menimbulkan kerusakan oksidatif pada jaringan target seperti sel darah merah sehingga akan menghasilkan perubahan morfologi serta jumlah sel. Peroksidasi lipid pada membran sel sering terjadi pada kondisi stress oksidatif khususnya bila terjadi dalam jangka waktu lama. Kondisi tersebut menimbulkan membran sel darah merah menjadi rapuh sehingga mudah mengalami lisis. Akibatnya kadar hemoglobin (Hb) dalam darah mengalami penurunan⁵.

Pulutan (*Urena lobata*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki efek terapi. Pulutan dimanfaatkan untuk pengobatan malaria, perdarahan dan radang⁶. Ekstrak methanol herbal pulutan memiliki salah satu kandungan aktif yakni flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan⁷. Pada uji pre-klinik yang dilakukan oleh Islam, et al menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun pulutan mampu menghambat stres oksidatif pada hewan coba. Hal tersebut ditunjukkan dengan kemampuan *Urena lobata* dalam penghambatan aktifitas radikal H₂O₂ yang lebih tinggi dibandingkan asam askorbat sebagai antioksidan standar⁸. Senyawa flavonoid seperti quercetin dan rutin dalam herbal merupakan zat aktif yang memiliki kemampuan untuk mencegah hemolisis sel darah merah⁹. Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian tentang efek dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) terhadap kadar hemoglobin dan struktur eritrosit yang dipapar oleh malathion.

Ikan zebra (*Danio rerio*) adalah salah satu hewan coba yang telah banyak digunakan dalam penelitian di bidang kesehatan. Ikan zebra memiliki sekitar 70% gen yang homolog dengan gen manusia¹⁰. Sistem hematopoiesis pada ikan zebra telah terbukti sangat mirip dengan mamalia dan vertebrata yang lebih tinggi. Beberapa penelitian telah menggunakan ikan zebra sebagai hewan coba model untuk penyakit hematologi, kardiovaskuler dan nefrologi¹¹. Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan pengujian efek dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) terhadap jumlah hemoglobin dan struktur eritrosit ikan zebra (*Danio rerio*) fase

dewasa jantan yang dipapar pestisida malathion secara kronik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode experimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain *control group post test only*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA), pada bulan Februari hingga April 2019. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya (*Ethical Clearance*) nomor : 1074-KEP-UB/2019.

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan ikan zebra (*Danio rerio*) usia dewasa yakni lebih dari 3 bulan yang diperoleh dari Sentra Pembiakan Ikan Zebra Tulungagung, Jawa Timur yang telah disertifikasi oleh Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga dengan nomor 005/ULMKILP/UA.FPK/03/2019. Ikan zebra dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Ikan zebra diberikan pencahayaan 14 jam terang dan 10 jam gelap dengan suhu air sekitar 26°C, dan dipasang aerator. Pemberian pakan dilakukan setiap hari sekali dengan dosis pemberian 4% BB/hari.

Pemberian Malathion

Malathion Rider® 500 g/L diencerkan sehingga didapatkan konsentrasi 5 ppm. Malathion diberikan pada kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan selama 40 hari. Pemberian dosis ini berdasarkan penelitian oleh Cook et al tahun 2005 dengan sedikit modifikasi¹².

Pemberian Dekokta Daun Pulutan (*Urena lobata*)

Simplisia daun pulutan (*Urena lobata*) yang telah disertifikasi dari UPT Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur dengan nomor 074/096A/102.7/2019. Simplisia ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan ke dalam panci dekok berisi 500 mL air yang sudah dipanaskan pada suhu 90°C selama 30 menit. Setelah dingin dekokta disaring kemudian diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 125 ppm (P1), 250 ppm (P2), dan 500 ppm (P3). Dekokta daun pulutan diberikan pada 3 kelompok perlakuan selama 40 hari. Penentuan dosis pulutan berdasarkan penelitian oleh Purnomo et al tahun 2005 dengan sedikit modifikasi¹³.

Pengambilan Sampel Darah

Air didinginkan hingga suhu 17°C kemudian ikan dimasukkan ke dalam bejana, setelah itu ditambahkan es secara perlahan hingga ikan terbius¹⁴. Ikan yang telah terbius kemudian diambil menggunakan jaring kemudian ditaruh di atas nampan. Ekor ikan dipotong dan darah ikan diambil sekitar 1 tetes untuk pemeriksaan kadar Hb dan 1 tetes untuk membuat hapusan darah.

Pengukuran Kadar Hemoglobin

Hemoglobin diukur dengan menggunakan Hb meter komersial yang tersedia di pasaran (Easy Touch®). Darah pada ekor ikan yang terpotong ditetaskan sekitar 1 tetes pada stik Hb. Setelah itu akan muncul angka yang menunjukkan kadar hemoglobin darah. Kemudian kadar Hb ditulis dalam satuan g/dL.

Pembuatan Sediaan Hapusan Darah dan Pengamatan Gambaran Sel Darah Merah

Proses pembuatan sediaan hapusan dimulai meneteskan 1 tetes darah pada ujung kanan kaca obyek yang telah bersih. Lalu dibuat hapusan tipis menggunakan spreader kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar dan kaca obyek diletakkan dalam posisi horizontal. Selanjutnya, hapusan darah difiksasi dengan methanol absolut dan dibiarkan hingga kering. Kemudian hapusan yang sudah difiksasi dengan methanol absolut ditetesi pewarna giemsa 5% sampai menutup seluruh objek dan dibiarkan selama 20-30 menit. Apabila telah kering preparat dibilas menggunakan aquades kemudian dibiarkan kering dan bagian bawah object glass dibersihkan menggunakan kertas tisu. Hasil dari

$$\text{Presentase Abnormal} = \frac{\text{Jumlah bentuk sel darah merah abnormal}}{100 \text{ sel darah merah}} \times 100\%$$

hapusan darah yang sudah dilakukan pengecatan kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x¹⁵. Penghitungan dilakukan dengan menghitung jumlah sel eritrosit abnormal per 100 eritrosit.

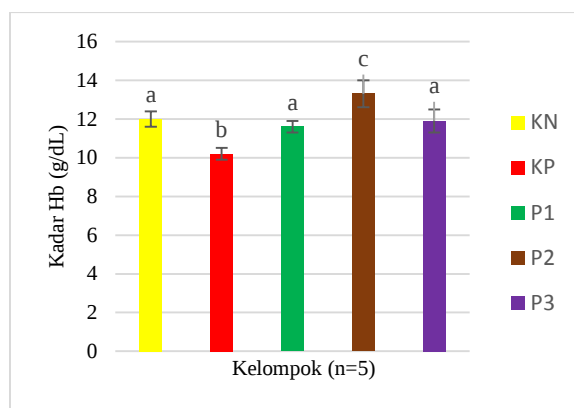
Analisa Data

Hasil pengamatan kadar hemoglobin dan gambaran bentuk sel darah merah diuji menggunakan *One Way Analysis of Varian* dilanjutkan *Post Hoc Test Least Significance Different* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Data dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Efek Dekokta Daun Pulutan Terhadap Kadar Hemoglobin Ikan Zebra Fase Dewasa Yang Dipapar Malathion Secara Kronik

Efek dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) terhadap kadar hemoglobin ikan zebra (*Danio rerio*) fase dewasa yang dipapar malathion secara kronik dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Histogram efek dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) terhadap kadar Hb ikan zebra (*Danio rerio*) fase dewasa yang dipapar malathion secara kronik

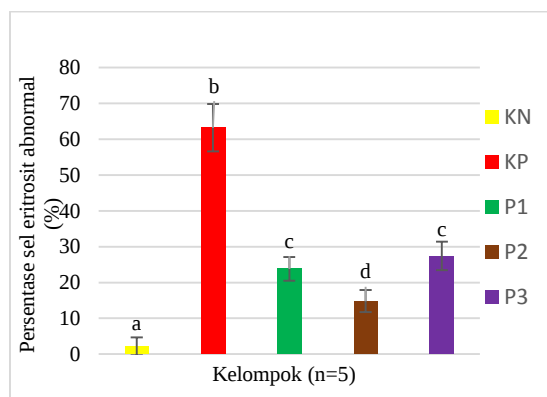
Keterangan :

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

Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 125 mg/L, 250 mg/L dan 500 mg/L menghambat penurunan kadar hemoglobin berturut-turut kurang lebih 10%, 30% dan 20% dibandingkan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Pemberian dekokta daun pulutan dengan dosis 125 mg/L dan 500 mg/L tidak berbeda dalam menghambat penurunan kadar Hb tetapi menghambat lebih kuat pada dosis 250 mg/L. Pada dekokta daun pulutan dengan dosis 125 mg/L dan 500 mg/L menghambat penurunan kadar hemoglobin hingga tidak berbeda dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Pemberian malathion dapat menurunkan kadar Hb sebesar 15% dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$).

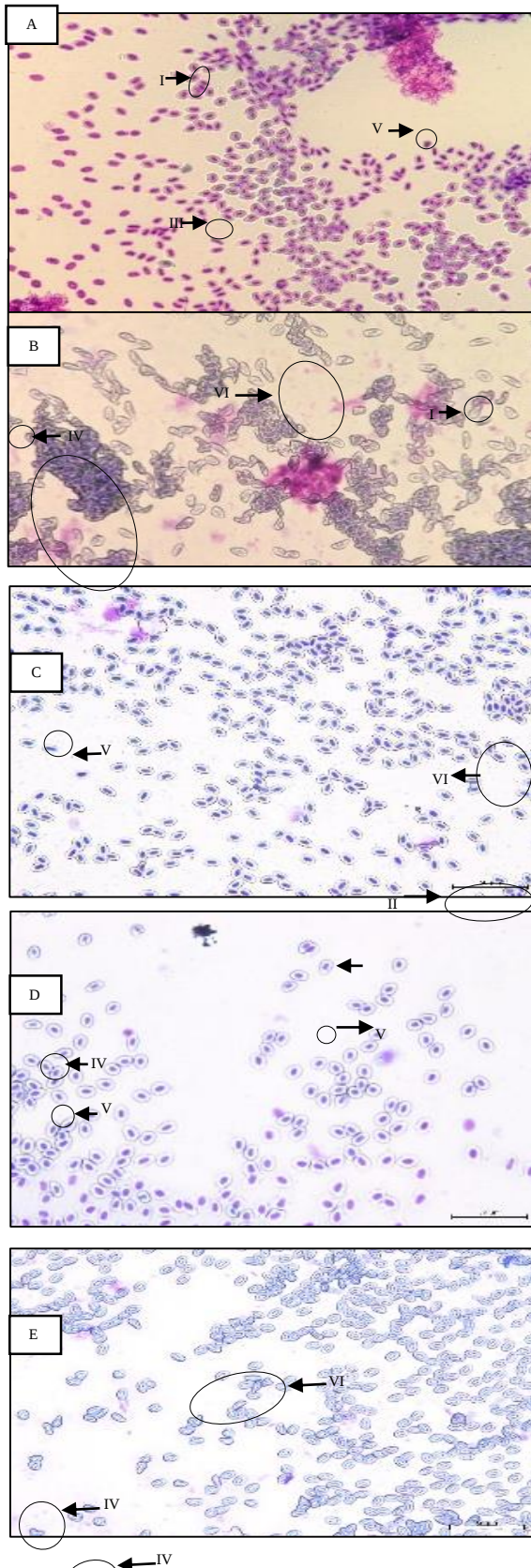
Efek Dekokta Daun Pulutan Terhadap Persentase Sel Darah Merah Abnormal Ikan Zebra Fase Dewasa yang Dipapar Malathion Secara Kronik

Efek dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) terhadap persentase bentuk abnormal ikan zebra (*Danio rerio*) fase dewasa yang dipapar malathion secara kronik dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Histogram efek dekokta daun pulutan terhadap persentase sel eritrosit abnormal ikan zebra fase dewasa yang dipapar malathion secara kronik

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



Gambar 3. Pengamatan Gambaran Bentuk Sel Darah Merah Ikan Zebra Fase Dewasa yang Dipapar Malathion Secara Kronik

Keterangan: hasil pengamatan histologi sel eritrosit ikan zebra fase dewasa menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X. (A) KN, (B) KP, (C) P1, (D) P2, (E) P3. *Cigar*

cell (I), aglutinasi (II), *schistocytes* (III), *budding fragmentation* (IV), *dome cell* (V), *rouleaux* (VI).

Pada kelompok kontrol positif didapatkan gambaran bentuk eritrosit abnormal seperti *cigar cell*, *schistocytes*, *dome cell*, *budding fragmentation*, *rouleaux* dan aglutinasi dengan jumlah lebih besar dibandingkan kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan dengan pemberian dekokta daun pulutan 125 mg/L, 250 mg/L dan 500 mg/L terdapat gambaran eritrosit abnormal tetapi dengan jumlah lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 125 mg/L, 250 mg/L dan 500 mg/L menghambat perubahan bentuk abnormal eritrosit berturut-turut sekitar 60%, 80% dan 60% dibandingkan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$). Pemberian dekokta daun pulutan dengan dosis 250 mg/L lebih kuat dalam menghambat perubahan bentuk abnormal eritrosit dibandingkan dengan 2 dosis yang digunakan dalam penelitian ini. Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 125 mg/L, 250 mg/L dan 500 mg/L tidak mampu menurunkan perubahan bentuk abnormal eritrosit hingga mendekati jumlah pada kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Pemberian malathion mampu meningkatkan perubahan bentuk abnormal eritrosit sebanyak 27 kali lebih besar dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Efek Paparan Malathion Secara Kronik Terhadap Kadar Hemoglobin dan Persentase Sel Darah Merah Abnormal

Pemaparan malathion secara kronik pada ikan zebra fase dewasa menurunkan kadar hemoglobin dan meningkatkan perubahan bentuk pada sel darah merah. Hal tersebut dikarenakan malathion bekerja sebagai *acetylcholinesterase inhibitor* dan menghasilkan produk samping berupa radikal bebas⁴.

Malathion akan mengalami bioaktivasi di hepar dan dioksidasi oleh sitokrom P-450 menjadi malaon dan menghasilkan produk samping radikal bebas. Malaon merupakan senyawa yang bersifat sebagai asetilkolinesterase inhibitor (AChEIs)¹⁶. AChEIs akan menyebabkan konsentrasi asetilkolin dalam darah meningkat sehingga menyebabkan bradikardia pada sistem pernafasan¹⁷. Bradikardia akan memicu kondisi hipoksia di dalam tubuh. Dalam kondisi hipoksia terjadi peningkatan ROS endotel disertai penurunan jumlah oksigen dalam darah¹⁸. Adanya peningkatan ROS pada endotel akan menimbulkan reaksi antara nitrit oksida (NO) dengan superoksida yang akan menghasilkan peroxynitrit (ONOO-) yang merupakan reaktif nitrogen spesies. Peroxynitrit ini akan mengoksidasi BH4 (pteridin tetrahydrobiopterin) yang merupakan kofaktor untuk NOS (Nitric oxide synthase). Hal ini akan mengakibatkan NOS menghasilkan superoksida lebih banyak daripada menghasilkan NO, sebagai akibatnya sintesis NO menurun¹⁹. NO

berperan dalam menjaga deformitas sel darah merah sehingga ketika NOS menurun maka akan terjadi kerusakan signifikan dari deformitas sel darah merah yang ditandai dengan perubahan bentuk sel darah merah²⁰. Selain itu, pada kondisi hipoksia juga menyebabkan peningkatan autooksidasi hemoglobin (Hb) sehingga menyebabkan akumulasi deoxyhemoglobin (DeoxyHb) dan adanya interaksi dengan protein band 3. Interaksi ini akan memicu deformitas sel darah merah, vesikulasi membran dan pelepasan ATP melalui hemolisis²¹.

Membran sel darah merah sebagian besar tersusun atas asam lemak tak jenuh. Pada paparan kronis, antioksidan endogen dalam tubuh seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase tidak mampu menghambat adanya kerusakan sel akibat radikal bebas sehingga stress oksidatif meningkat mengakibatkan oksidasi sel hemoglobin dan merusak membran eritrosit sehingga terjadi denaturasi protein²². Adanya proses tersebut memicu peroksidasi lipid, yakni dimana radikal bebas menyerang ikatan rangkap asam lemak tak jenuh (PUFA) dalam membran fosfolipid sehingga terjadi perubahan struktur dan ketidakstabilan membran sel, akibatnya sel darah merah mengalami hemolisis²³. Hemolisis akan mengakibatkan kadar hemoglobin (Hb) dalam sirkulasi menurun.

Radikal bebas (ROS) yang dihasilkan oleh malathion juga dapat berinteraksi dengan zat besi bebas untuk menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif sehingga menyebabkan kerusakan jaringan²⁴. Adanya kerusakan jaringan akan memicu makrofag untuk menyekresikan sitokin dan kemotaksin, salah satunya yakni *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α)^{25,26}. TNF- α akan berinteraksi dengan dua jenis reseptor permukaan sel (tipe I dan II) untuk mengatur berbagai respons spesifik tipe sel. Reseptor TNF permukaan I (TNFRI) akan merangsang apoptosis pada sel²⁶. Apoptosis merupakan proses fisiologis dimana sel akan mengalami kematian, pada sel darah merah yang mengalami apoptosis akan terjadi penyusutan sel dan protursi membran sehingga menyebabkan kadar hemoglobin (Hb) menurun²⁷. Akibat dari paparan kronik pula, hepar sebagai organ utama dalam metabolisme malathion tidak mampu lagi untuk mendetoksifikasi malathion sehingga unchanged malathion terdistribusi langsung ke sistem ginjal. Adanya kerusakan pada ginjal akan menyebabkan penurunan sintesis eritropoietin (EPO) sehingga akan mengganggu proses eritropoiesis, akibatnya terjadi perubahan morfologi pada sel darah merah dan mengganggu kadar hemoglobin di dalam sirkulasi²⁸.

Efek Dekokta Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Kadar Hemoglobin Ikan Zebra (*Danio rerio*) Fase Dewasa yang Dipapar Malathion Secara Kronik

Pemberian dekokta daun pulutan mampu menghambat penurunan kadar hemoglobin ikan zebra yang dipapar malathion secara kronik. Hal

tersebut dikarenakan kandungan zat aktif dalam daun pulutan yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi.

Dekokta daun pulutan mengandung zat aktif flavonoid kaempferol, rutin, quercetin, afzelin, astragalin, tiliroside, kaempferol-3-O- β -D-glycopyranoside-7-O- α -L-rhamnoside, kaempferol-7-O- α -L-rhamnoside, kaempferol-1-7-O- α -L-rhamnoside-4'-O- β -D-glycopyranoside, dan crenulosida⁷. Senyawa quercetin merupakan salah satu flavonoid dengan kandungan antioksidan tertinggi serta mampu memodulasi ekspresi berbagai enzim antioksidan seperti katalase dan superoksida dismutase, dan meningkatkan kadar glutathione intraseluler. Ketika terjadi peningkatan radikal bebas, senyawa quercetin akan teroksidasi dan bereaksi dengan glutathione serta kelompok thiol protein²⁹. Glutathione memiliki mekanisme secara langsung untuk melindungi protein dan menjaga stabilitas membran sel darah merah³⁰. Pada tingkat molekuler, quercetin merupakan chelator zat besi yang kuat. Zat besi adalah elemen yang penting dalam transfer elektron mitokondria. Kekurangan zat besi menyebabkan perubahan metabolisme sel dan anemia. Pada perkembangan sel darah merah, zat besi berperan penting untuk transportasi oksigen serta aktif dalam proses proliferasi dan diferensiasi sel punca hematopoietik²⁹. Selain sebagai antioksidan, quercetin juga berperan sebagai anti-inflamasi, yakni dengan menghambat peningkatan TNF- α sehingga mencegah penurunan kadar hemoglobin (Hb) melalui apoptosis³¹. Senyawa rutin dalam dekokta daun pulutan mampu menarik radikal superoksida dan zat besi, serta mencegah oksidasi hemoglobin dan menghambat konversinya menjadi methemoglobin (MetHb) sehingga mencegah sel dari hipoksia^{32,33}. Selain itu, senyawa rutin dan kaempferol juga mampu menurunkan fragilitas kapiler serta mampu menghambat peroksidasi lipid sehingga mencegah sel dari hemolisis³².

Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 250 mg/L mampu menghambat penurunan kadar Hb lebih besar dibandingkan dengan dosis 125 mg/L. Hal ini sesuai dengan teori farmakologi bahwa semakin tinggi dosis maka akan semakin kuat efek yang ditimbulkan. Pada dekokta daun pulutan dosis 250 mg/L mampu menghambat penurunan kadar hemoglobin lebih kuat dibandingkan dosis 500 mg/L. Hal tersebut dimungkinkan pada dosis 500 mg/L kandungan flavonoid dalam dekokta daun pulutan mengalami autooksidasi menjadi radikal bebas seperti radikal hidroksil (OH) dan peroksil sehingga menyebabkan kerusakan membran dan sel menjadi lisis³⁴. Hal ini juga didukung oleh temuan penelitian yang dilakukan oleh Pamungkas tahun 2019 pada ikan zebra (*Danio rerio*) fase juvenile yang dipapar malathion secara kronik bahwa pada pemberian dekokta daun pulutan dosis 250 mg/L mampu menghambat penurunan kadar Hb lebih kuat dibandingkan dengan dosis 500 mg/L³⁵. Dekokta daun pulutan dengan dosis 250 mg/L mampu meningkatkan kadar hemoglobin hingga lebih dari

kelompok kontrol negatif. Hal tersebut dimungkinkan pada dekokta daun pulutan dengan dosis 250 mg/L ginjal telah terhindar dari kerusakan sehingga mampu mendeteksi adanya penurunan kapasitas darah dalam mengangkut oksigen yang kemudian merangsang eritropoiesis oleh sumsum tulang merah melalui produksi eritropoietin (EPO)²⁵.

Hemoglobin adalah suatu protein yang terbentuk dari empat rantai polipeptida dan empat gugus non-protein yang mengandung zat besi (gugus hem). Hemoglobin berperan dalam mengangkut oksigen ke seluruh tubuh²⁵. Sintesis hemoglobin dimulai dalam proeritroblas dan berlanjut dalam stadium retikulosit pada pembentukan sel darah merah. Kadar hemoglobin normal pada wanita dewasa yakni 11-15 g/dL dan pada pria dewasa 13-17 g/dL³⁶. Adanya penurunan kadar hemoglobin dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor seperti, defisiensi vitamin B12, defisiensi asam folat dan besi, kanker kolon, gangguan ginjal, gangguan eritropoiesis, kemoterapi dan radiasi, serta adanya radikal bebas. Sedangkan peningkatan kadar hemoglobin tidak selalu berbahaya, hal ini dapat terjadi ketika seseorang tinggal di dataran tinggi, menderita penyakit paru (COPD, emfisema), kanker, perokok, gangguan sumsum tulang belakang (polisitemia), penggunaan obat, dll³⁷. Ketika kadar Hb dalam darah menurun maka akan memicu kondisi anemia sehingga viskositas darah menurun. Keadaan ini akan mengurangi tahanan terhadap aliran darah dalam pembuluh darah perifer, sehingga jumlah darah yang mengalir melalui jaringan dan kembali ke jantung melebihi normal. Hal tersebut menyebabkan peningkatan beban kerja pemompaan jantung. Pada saat kadar Hb meningkat maka viskositas darah akan meningkat sehingga aliran darah yang melalui pembuluh darah perifer menjadi lambat. Hal ini akan mengurangi penyaluran oksigen ke jaringan, meningkatkan resistensi perifer total yang dapat meningkatkan tekanan darah sehingga beban kerja jantung bertambah²⁵.

Efek Dekokta Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Persentase Sel Darah Merah Abnormal Ikan Zebra (*Danio rerio*) Fase Dewasa yang Dipapar Malathion Secara Kronik

Pemberian dekokta daun pulutan mampu menghambat peningkatan jumlah sel darah merah yang abnormal. Hal ini dikarenakan daun pulutan memiliki kandungan sebagai antioksidan dan menjaga stabilitas membran³⁸.

Daun pulutan memiliki kandungan zat aktif flavonoid, salah satunya adalah kaempferol. Kaempferol memiliki sifat hidrofilik sehingga dapat berinteraksi dengan permukaan membran lipid membentuk ikatan hidrogen sehingga dapat mencegah masuknya molekul asing dan melindungi fungsi struktur membran sel³⁹. Senyawa quersetin dalam daun pulutan mampu menghambat deformitas sel darah merah yakni dengan meningkatkan NOS (Nitric oxide syntase) sehingga NO meningkat. NO berperan dalam menjaga elastisitas bentuk eritrosit

ketika melewati mikrovaskuler sehingga eritrosit dapat kembali ke bentuk semula tanpa mengalami perubahan bentuk maupun fungsi^{31,40}.

Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 250 mg/L mampu menghambat peningkatan jumlah sel darah merah abnormal lebih kuat dibandingkan dengan dosis 125 mg/L. Hal ini sesuai dengan teori farmakologi pada penjelasan sebelumnya. Pemberian dekokta daun pulutan pada dosis 250 mg/L mampu menghambat peningkatan jumlah sel darah merah yang abnormal lebih kuat dibandingkan dosis 500 mg/L. Hal ini dimungkinkan pada dosis 500 mg/L kandungan cincin fenol B dalam flavonoid akan mengkatalis pembentukan superoksida selama proses oksidasi glutathion sehingga stabilitas membran sel darah merah terganggu dan menyebabkan perubahan bentuk sel darah merah³⁴. Hal ini sejalan dengan temuan penelitian yang dilakukan oleh Pamungkas tahun 2019 pada ikan zebra (*Danio rerio*) fase juvenile yang dipapar malathion secara kronik bahwa pada pemberian dekokta daun pulutan dosis 250 mg/L mampu menghambat peningkatan persentase sel darah merah abnormal lebih kuat dibandingkan dengan dosis 500 mg/L³⁵.

Terdapat berbagai macam gambaran eritrosit abnormal yakni cigar cell, aglutinasi, schistocytes, budding fragmentation, dome cell, dan rouleaux. Bentuk schistocytes dan rouleaux memiliki jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan bentuk yang lain. Adanya gambaran schistocytes pada hapusan darah menunjukkan suatu cedera sel darah merah akibat kerusakan pada endothelium dan merupakan ciri kas dari anemia hemolitik serta gambaran rouleaux secara umum menunjukkan adanya proses inflamasi^{41,42}.

Eritrosit merupakan salah satu jenis sel darah yang berperan dalam mengangkut oksigen dalam darah. Eritrosit berasal dari sel punca pluripoten di dalam sumsum tulang merah yang menghasilkan seluruh jenis sel darah. Tiga sifat anatomik eritrosit berperan dalam efisiensi pengangkutan oksigen. Pertama, bentuk eritrosit yakni berbentuk cakram bikonkaf. Bentuk tersebut menyediakan area permukaan yang lebih luas untuk difusi oksigen. Sifat struktural yang kedua yakni kelenturan membrannya. Hal ini membuat eritrosit mampu melewati kapiler yang berdiameter sempit untuk menyalurkan oksigen di tingkat jaringan tanpa mengalami ruptur selama proses berlangsung²⁵. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi struktur eritrosit yaitu radikal bebas. Adanya perubahan bentuk atau deformitas pada eritrosit akan menyebabkan gangguan pada fungsi primer eritrosit yakni sebagai pengangkut oksigen dalam darah⁴³.

KESIMPULAN

Dekokta daun pulutan (*Urena lobata*) dengan dosis 125 mg/L, 250 mg/L, dan 500 mg/L pada ikan zebra (*Danio rerio*) fase dewasa terbukti menghambat penurunan kadar hemoglobin dan

persentase bentuk abnormal sel darah merah akibat pemaparan malathion secara kronik.

SARAN

1. Penelitian untuk mengamati kadar hemoglobin, gambaran dan persentase bentuk sel darah merah ikan zebra yang dipapar malathion dalam waktu kronik pada dosis lebih dari 5 ppm.
2. Penelitian untuk mengamati efek dekokta daun pulutan terhadap kadar hemoglobin, gambaran dan persentase bentuk sel darah merah ikan zebra yang dipapar malathion dalam waktu kronik pada dosis pulutan lebih dari 500 mg/L.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada IOM dan FK UNISMA yang telah mendanai penelitian. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada dosen pembimbing, staff laboratorium dan tim penelitian yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wilson, Jewell D., Fernando T. Lladós, Mona Singh, Cheryl A. Sutton, William R. Sutton, Tsutomu Nakatsugawa, et.al. Toxicological Profile of Malathion. *U.S. Department of Health and Human Services*. 2003 ;125-130
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. Krsti, Danijela Z., et.al. Acetylcholinesterase Inhibitors : Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropsychopharmacology*. 2013; 11 : 315-335
4. Buratti, Franca M., et al. Malathion Bioactivation in The Human Liver : The Contribution in Different Cytochrome P450 Isoforms. *Drug Metabolism and Disposition*. 2004; 33(3): 295-302
5. Mazzula, S., et.al. Oxidation of Human Red Blood Cells by a Free Radical Initiator : Effects on Rheological Properties. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2015; 60: 375-388
6. Islam, M. T. Uddin, M. A. A Revision on Urena Lobata. *International Journal of Medicine*. 2017; 5(1). 126-131.
7. Babu, S. S., Madhuri, D. B. and Ali, S. L. A Pharmacological Review of Urena lobata Plant. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2016; 9(2) : 1-3.
8. Das, Sudakshina; Pradyut Saikia, and Saidul Islam. Estimation of Total Phenol and Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Urena lobata Leaf Extract. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 2015; 4(11): 10803-10808
9. Henneberg, Railson., et.al. Protective Effect of Flavonoids Against Reactive Oxygen Species Production in Sick Cell Anemia Patients Treated with Hydroxyurea. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2012; 35(1): 52-55
10. Collin, J. and Martin, P. Zebrafish As a Research Organism Chapter 13. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. Elsevier Inc. 2017; 236-254
11. Dooley, Kimberly and Leonard I Zon. Zebrafish: A Model System for The study of Human Disease. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2000; 10: 252- 256
12. 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
13. Purnomo Y, et al. Anti-Diabetic Potential of Urena lobata Leaf Extract Through Inhibition of Dipeptidyl Peptidase IV Activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015; 5(8)
14. Matthews, Monte and Zoltan M. Varga. Anesthesia and Euthanasia in Zebrafish. *ILAR Journal*. 2012; 53(2): 192-204
15. Triliana, Rahma. Modul Praktikum Patologi Klinik Hematologi Terapan Blok Life Cycle 2. *Laboratorium Fungsi Unit Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang Semester Genap TA 2017/2018*. 2018
16. Tchounwou, P. B., Patlolla, A. K., Yedjou, C. G. and Moore, P. D. Environmental Exposure and Health Effects Associated with Malathion Toxicity. *Toxicity and Hazard of Agrochemicals*. 2015; 71-83
17. Nair, Priya V and Jennifer M. Hunter. Anticholinesterases and Anticholinergic Drugs. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*. 2004; 4(5): 164-168
18. Kieffmann, Rainer., et al. Red Blood Cells Induce Hypoxic Lung Inflammation. *Blood Journal*. 2008; 111(10): 5205-5214
19. Astutik, Pudji, Merryana Andriani dan Bambang Wirjatmadi. Kadar Radikal Superoksida (O₂⁻), Nitric Oxide (NO) dan Asupan Lemak Pada Pasien Hipertensi dan Tidak Hipertensi. *Jurnal Gizi Indonesia (ISSN : 1858-4942)*. 2014
20. Kucukatay, Melek Bor, Rosalinda B. Wenby, Herbert J. Meiselmen, and Oguz K. Baskurt. Effects of Nitric Oxide on Red Blood Cell Deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003; 1577-1584
21. Grygorczyk, Ryszard and Sergei N. Orlov. Effects of Hypoxia on Erythrocyte Membrane Properties—Implications for Intravascular

- Hemolysis and Purinergic Control of Blood Flow. *Frontiers in Physiology*. 2017; 8: 1-9
22. Werdhasari, A. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 2014; 3 (2) : 59-67
 23. Perrone, Serafina., et.al. Oxidative Injury in Neonatal Erythrocytes. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2012; 25(S5): 104-108
 24. Kehrer, James P. Free Radicals As Mediator of Tissue Injury and Disease. *Critical Reviews in Toxicology*. 1993; 23(I):2 1-48
 25. Sherwood, L. Fisiologi Manusia : dari Sel Ke Sistem. Edisi 8. Jakarta: EGC. 2014; 448
 26. Chau, B. Nelson, Tung-Ti Chin, Yisong Y. Wan, James DeGregori, and Jean Y.J. Wang. Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Apoptosis Requires p73 and c-ABL Activation Downstream of RB Degradation. *Molecular and Cellular Biology*. 2004; 4438-4447
 27. Totino, Paulp RR, Aline D Magalhaes, Luciene A.Silva, Dalma M. Banic, Claudia T. Daniel Riberio, Maria de Fatima Ferreira-da-Cruz. Apoptosis of Non-Parasitized Red Blood Cells in Malaria : a Putative Mechanism Involved in The Pathogenesis of Anemia. *Malaria Journal*.2010; 9: 350
 28. Artunc, Ferruh and Teut Risler. Serum Erythropoietin Concentrations and Responses to Anaemia in Patients with or without Chronic Kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: 2900–2908
 29. Ruiz, Lina M., et.al. Quercetin Affects Erythropoiesis and Heart Mitochondrial Function in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.2015; 1-12
 30. Asgary, S, GH Naderi and N Askari. Protective Effect of Flavonoids Against Red Blood Cell Hemolysis by Free Radicals. *Experimental Clinical Cardiology*. 2005; 10(2): 88-90
 31. Serafini, Mauro, Ilaria Peluso and Anna Raguzzini. Session 1: Antioxidant and The Immune System Flavonoids as Anti-Inflammatory Agents. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2010; 69: 273-278
 32. Khalsa, Karta Purkh Singh. Low Dose Herbs. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*.2007.Vol. 7(1)
 33. Skold, Anna, Dominique, Cosco, and Robin Klein. Methemoglobinemia: Pathogenesis, Diagnosis, and Management. *Southern Medical Journal*. 2011; 104(11) : 757-761
 34. Skibola, Christine F and Martyn T.Smith. Potential Health Impacts of Excessive Flavonoid Intake. *Free Radical Biology & Medicine*. 2000. Vol.29 : 375-383
 35. Pamungkas, Iqbal Aziz. Efek Dekokta Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap Kadar Hemoglobin dan Persentase Bentuk Sel Darah Merah Abnormal Ikan Zebra (*Danio rerio*) Juvenile yang Dipapar Malathion Secara Kronis. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.Malang.2019. Unpublished
 36. Faatih, Mukhlissul., et.al. Penggunaan Alat Pengukur Hemoglobin di Puskesmas, Polindes dan Pustu. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan*. 2017; 1(1): 32-39
 37. Davis, Charles Patrick. Hemoglobin. https://www.emedicinehealth.com/hemoglobin_levels/article_em.htm#what_is_hemoglobin. Diakses tanggal 06 Agustus 2019
 38. Islam, M.T., et.al. Phytochemical and Pharmacological Investigations of *Uraria Lagopodies* DC. and *Urena lobata* L. *Dhaka Univ. J. Pharm. Sci*. 2012; 11(1): 65-69
 39. Oteiza, P.I., Erlejman, A.G.1., Verstraeten, S.V.1., Keen, C.L., and Fraga, C. Flavonoid-Membrane Interactions: a Protective Role of Flavonoids at The Membrane Surface?. *Journal of Clinical & Developmental Immunology*.2005; 12(1): 19-25.
 40. Straat, Marleen., Robin van Bruggen, Dirk de Korte and Nicole P. Juffermans. Red Blood Cell Clearance in Inflammation. *Transfus Med Hemother* .2012; 39:353–360
 41. Tefferi, Ayalew and Michelle A. Elliott. Schistocytes on The Peripheral Blood Smear. *Mayo Clin Proc*. 2004;79:809
 42. Valenciano, A.C., Cowell, R.L., Rizzi, T.E., & Tyler, R.D.Red Blood Cells. *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears*. 2014. Pp : 23-109.
 43. Kim, Jeongho, Ho Yoon Lee and Sehyun Shin. Advances in The Measurement of Red Blood Cell Deformability: a brief review. *Journal of Cellular Biotechnology*. 2015: 63-79