

Pengaruh Pemberian Ekstrak Okra (*Abelmoschus Esculentus*) terhadap Peningkatan Eritrosit dan Hemoglobin (Hb) Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Anemia yang Diinduksi Natrium Nitrit (NaNO_2)

Endah Setyarini^{1*}, Enrico Kuswahyuliawan², Diah Hermayanti³, Bragastio Sidharta⁴

¹Rumah Sakit Haji Provinsi Jawa Timur, setyarini@umm.ac.id

²Universitas Muhammadiyah Malang, enrico_k1@gmail.com

³Universitas Muhammadiyah Malang, hermayanti@umm.ac.id

⁴Universitas Muhammadiyah Malang, bragastyo@umm.ac.id

ABSTRAK

Anemia hemolitik adalah suatu keadaan jumlah eritrosit dan tingkat hemoglobin yang kurang dari nilai normal karena perpendekan usia, pemecahan dan kehancuran dari eritrosit. Salah satu faktor penyebab pecah dan kehancuran dari eritrosit karena stres oksidatif. Okra mengandung flavonoid antioksidan yang dapat melawan dan mencegah stres oksidatif. Penelitian ini untuk menentukan efektivitas ekstraksi okra (*abelmoschus esculentus*) pada peningkatan angka dari eritrosit dan hemoglobin (Hb) maupun darah anemia tikus putih jantan (*rattus norvegicus*) disebabkan oleh natrium nitrit (NaNO_2). Percobaan dengan posttest hanya diadakan. desain kelompok kontrol. Jumlah sampel yang digunakan 24 tikus putih jantan (*rattus norvegicus*) terbagi menjadi 4 kelompok; positif, kelompok kontrol yang hanya diberi NaNO_2 dan yang lain tiga kelompok diberi NaNO_2 dan okra mengekstrak (*abelmoschus esculentus*) di 200mg/kgbw/hari, 300mg/kgbw/hari, dan 400mg/kgbw/hari selama 28 hari. Sampel darah diambil dan kemudian jumlah eritrosit dan tingkat hemoglobin dihitung menggunakan sebuah hematoanalyzer. Hasil uji Anova yang diperoleh menunjukkan nilai yang signifikan ($\text{sig}=0.000$) di antara kelompok. Dapat disimpulkan Okra (*abelmoschus esculentus*) ekstrak yang berhasil menambah jumlah eritrosit dan hemoglobin (Hb) tingkat. Okra (*abelmoschus esculentus*) ekstrak memiliki efek pada meningkatkan jumlah eritrosit dan tingkat hemoglobin darah anemia tikus putih jantan.

Kata Kunci : Okra, sodium nitrat, anemia hemolitik

ABSTRACT

Hemolytic anemia is a condition which the number of erythrocytes and hemoglobin levels are less than normal due to shortening of life span, rupture and destruction of erythrocytes. One of the factors causing the rupture and destruction of erythrocytes is oxidative stress. Okra contain flavonoid antioxidants that can counteract and prevent oxidative stress. This research to determine the effectiveness of okra (*Abelmoschus Esculentus*) extract on increasing the number of erythrocytes and hemoglobin (Hb) levels in the blood of anemia male white rats (*Rattus Norvegicus*) induced by sodium nitrite (NaNO_2). Experiment with Posttest Only Control Group Design was held. The number of samples used were 24 male white rats (*Rattus norvegicus*) which were divided into 4 groups; the positive control group, which was only given NaNO_2 and the other three groups were given NaNO_2 and okra extract (*Abelmoschus Esculentus*) at 200mg/kgBW/day, 300mg/kgBW/day, and 400mg/kgBW/day for 28 days. Blood samples were taken and then the number of erythrocytes and hemoglobin levels were calculated using a hematoanalyzer. Anova test results obtained a significant value ($\text{sig}, 0.000$) between groups. Okra (*Abelmoschus Esculentus*) extract was able to increase the number of erythrocytes and hemoglobin (Hb) levels. Okra (*Abelmoschus Esculentus*) extract has an effect on increasing the number of erythrocytes and blood hemoglobin levels of anemic male white rats.

Keywords: *Abelmoschus Esculentus*, okra, sodium nitrit, hemolytic anemia

*Korespondensi Author: Endah Setyarini, Rumah Sakit Haji Provinsi Jawa Timur, setyarini@umm.ac.id, (031) 5924000

I. PENDAHULUAN

Anemia suatu kondisi jumlah eritrosit dan kandungan hemoglobin kurang dari batas normal. Salah satu jenis anemia adalah anemia

hemolisis, dimana anemia ini disebabkan oleh pemendekan masa hidup akibat kerusakan disertai hancurnya sel darah merah. Salah satu faktor penyebab pecah dan hancurnya sel darah

merah adalah *oxidative stress*. Natrium nitrit sendiri adalah senyawa yang banyak dipergunakan di masyarakat sebagai pengawet makanan khususnya daging. Penggunaan berlebih dari natrium nitrit pada makanan berbahaya karena mampu meningkatkan radikal bebas dan menimbulkan kondisi *oxidative stress*. *Oxidative stress* akan memudahkan terjadinya reaksi oksidasi dari hemoglobin menjadi methemoglobin dimana apabila terakumulasi dalam jumlah besar dapat menimbulkan kerusakan pada sel darah merah. Untuk menangkal radikal bebas dan mencegah kondisi *oxidative stress* diperlukan zat antioksidan. Tanaman okra memiliki kandungan antioksidan *flavonoid* khususnya *quercetin* yang mampu menangkal radikal bebas dan mencegah kondisi *oxidative stress* sehingga mampu mencegah dan memperbaiki kerusakan pada sel darah merah akibat dari radikal bebas

II. METODOLOGI

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Jumlah sampel sebanyak 24 ekor tikus putih

jantan (*Rattus Norvegicus*) terbagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol positif, yang diberikan NaNO₂ saja, dan tiga kelompok lain yang diberikan NaNO₂ dan ekstrak okra (*Abelmoschus Esculentus*) dengan dosis berbeda (200mg/kgBB/hari, 300mg/kgBB/hari, dan 400mg/kgBB/hari) selama 28 hari. Pada hari ke-29 sampel darah intracardia diambil kemudian keseluruhan sampel darah dihitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin menggunakan alat *hematoanalyzer*

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini tikus putih (*Rattus Norvegicus*) jantan diinduksi NaNO₂ kemudian diberikan ekstrak buah okra (*Abelmoschus Esculentus*) dengan dosis yang berbeda pada masing-masing kelompok selama 28 hari. Pada hari ke 29 diambil sampel darah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) untuk dihitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin menggunakan alat *hematoanalyzer* dan diperoleh hasil sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Jumlah Eritrosit

Kelompok Perlakuan	Jumlah Eritrosit (10 ⁶ µL)						Rata - Rata	SD
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6		
K (+)	-	6,28	6,58	-	7,17	6,88	6,72	0,38
P1	7,57	7,48	7,30	7,62	7,73	7,96	7,61	0,22
P2	8,57	8,06	8,56	8,31	7,69	8,04	8,20	0,34
P3	8,86	9,12	-	8,66	9,24	9,33	9,04	0,28

Tabel 2 Hasil Perhitungan Kadar Hemoglobin

Kelompok Perlakuan	Kadar Hemoglobin (g/dL)						Rata - Rata	SD
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6		
K (+)	-	10,3	10,8	-	11,5	11,3	10,97	0,54
P1	11,6	12,3	11,6	12,3	12,1	12,4	12,05	0,36
P2	12,6	12,3	13,3	12,6	12,5	13	12,71	0,37
P3	14,5	13,7	-	13,5	14,4	14,5	14,12	0,48

Keterangan :

- K (+) : Kelompok yang diberikan NaNO₂ saja.
- P1 : Kelompok yang diberikan NaNO₂ dan ekstrak buah okra dengan dosis 200mg/kgBB/hari.
- P2 : Kelompok yang diberikan NaNO₂ dan ekstrak buah okra dengan dosis 300mg/kgBB/hari.
- P3 : Kelompok yang diberikan NaNO₂ dan ekstrak buah okra dengan dosis 400mg/kgBB/hari.

Data pada tabel diatas menunjukkan bahwa semua tikus putih (*Rattus Norvegicus*) jantan memiliki jumlah eritrosit dan kadar hemoglobi yang berbeda-beda menunjukkan bahwa rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin terendah pada kelompok K(+) dimana kelompok ini hanya diberikan NaNO_2 dengan dosis 1,5 mg/200 gram BB/hari selama 14 hari. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tertinggi terdapat pada kelompok P3 dimana pada kelompok ini diberikan NaNO_2 dengan dosis 1,5 mg/200 gram BB/hari selama 14 hari kemudian diberikan ekstrakbuah okra (*Abelmoschus Esculentus*) dengan dosis 400mg/kgBB/hari selama 14 hari. Kelompok P2 dimana pada kelompok ini diberikan NaNO_2 dengan dosis 1,5 mg/200 gram BB/hari selama 14 hari kemudian diberikan ekstrak buah okra (*Abelmoschus Esculentus*) dengan dosis 300mg/kgBB/hari selama 14 hari memiliki rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang lebih tinggi dari pada kelompok P1 dimana pada kelompok ini diberikan NaNO_2 dengan dosis 1,5 mg/200 gram BB/hari selama 14 hari kemudian diberikan ekstrak buah okra (*Abelmoschus Esculentus*) dengan dosis 200mg/kgBB/hari selama 14 hari

Pada penelitian ini hasil dari penghitungan *hematoanalyzer* didapatkan bahwa kelompok perlakuan dengan ekstrak okra (*Abelmoschus Esculentus*) mengalami peningkatan jumlah eritrosit dan kandungan hemoglobin dibandingkan kelompok kontrol positif yang hanya diberi natrium nitrit (NaNO_2). Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (0,000) pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.

Pada kelompok P3 mengalami kenaikan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tertinggi, berdasarkan uji statistik *Post Hoc LSD* didapatkan juga bahwa kelompok P3 efektif dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini dapat dilihat dari *mean difference* atau selisih rata-rata yang membandingkan antar kelompok. Selisih rata-rata yang paling besar merupakan yang paling baik atau efektif. Pada kelompok hasil jumlah eritrosit paling efektif kelompok P3 dengan nilai 2,31450 selanjutnya

kelompok P2 dengan nilai 1,47750 lalu kelompok P1 yaitu dengan nilai 0,88250. Pada kelompok hasil kadar hemoglobin paling efektif kelompok P3 dengan nilai 3,14500 selanjutnya kelompok P2 dengan nilai 1,74167 lalu kelompok P1 yaitu dengan nilai 1,07500.

Untuk mengetahui hubungan antar kelompok dilakukan uji statistic korelasi. Pada uji statistik korelasi menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang bermakna antara dosis penambahan ekstrak buah okra (*Abelmoschus Esculentus*) dan jumlah eritrosit maupun kadar hemoglobin (nilai korelasi *Pearson* 0,737 dan 0,742). Hal tersebut menjelaskan bahwa semakin tinggi dosis penambahan ekstrak buah okra (*Abelmoschus Esculentus*) maka akan semakin berpengaruh dalam peningkatan jumlah eritrosit dan kandungan hemoglobin. Untuk melihat pengaruh pada penelitian ini dilanjutkan uji statistic regresi, dan didapatkan hasil sebesar 52,3% untuk jumlah eritrosit dan 52,9% untuk kadar hemoglobin, dimana hal ini berarti pemberian ekstrak buah okra (*Abelmoschus Esculentus*) pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) jantan yang diinduksi NaNO_2 akan meningkatkan jumlah eritrosit sebesar 52,3% dan berpengaruh terhadap peningkatan kandungan hemoglobin sebesar 52,9%.

Natrium nitrit (NaNO_2) merupakan zat yang sering digunakan dalam proses pengolahan daging karena bermanfaat untuk menghambat tumbuhnya bakteri *clostridium botulinum*, warna merah pada daging dapat dipertahankan agar menarik, dan cita rasa khas pada daging.¹ Natrium nitrit yang digunakan secara berlebihan ternyata menimbulkan akibat yang membahayakan bagi kesehatan. Paparan natrium nitrit berlebih akan membentuk keadaan *oxidative stress* yang akan memudahkan terjadinya oksidasi hemoglobin yang akan membentuk methemoglobin.^{2,3} Pada penelitian menggunakan natrium nitrit diharapkan mampu menurunkan jumlah eritrosit dan kadar/kandungan hemoglobin karena menurut Ambarwati (2012) pada hasil penelitiannya menyebutkan natrium nitrit dengan dosis 1,5 mg/200gramBB mampu menurunkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dibanding dengan dosis 0,5 mg/200gramBB.²

Penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin ini karena terbentuknya methemoglobin terjadi melalui beberapa mekanisme. Senyawa natrium nitrit ini akan masuk ke sel darah merah diperantarai anion dan sebagian lagi secara difusi dimana hal ini menyebabkan hiperpolarisasi membran dan oksidasi hemoglobin. Pada membran sel darah merah ini mengandung *Plasma Membrane Redox System* (PMRS) merupakan sistem rantai transfer elektron pada sel dimana berfungsi sebagai penurun oxidative stress, pertumbuhan sel, uptake nutrisi, dan besi. Natrium nitrit ini akan menghambat aktivitas PMRS sehingga terjadi peningkatan *oxidative stress*.^{4,5,6} Keadaan *oxidative stress* ini akan meningkatkan dan mempermudah terjadinya oksidasi dari hemoglobin (HbFe^{2+}) menjadi methemoglobin (HbFe^{3+}).^{2,3,5} Lebih lanjut dijelaskan dampak methemoglobin dapat menyebabkan rigid dan pecahnya sel darah sehingga dapat mengarah ke anemia hemolisis.⁷

Pemberian natrium nitrit ini dilanjutkan dengan pemberian ekstrak okra (*Abelmoschus Esculentus*) yang bertujuan untuk melihat peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin. Pada hari ke-29 sampel darah tikus diambil kemudian jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dihitung menggunakan alat *hematoanalyzer* dan terlihat bahwa semua kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak okra (*Abelmoschus Esculentus*) mengalami peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dibandingkan kelompok control positif yang hanya diberikan natrium nitrit (NaNO_2).

Pada penelitian kali ini menggunakan empat kelompok yaitu kelompok yang diberikan NaNO_2 saja, kelompok yang diberikan NaNO_2 dan ekstrak buah okra dengan dosis 200mg/kgBB/hari (P1), kelompok yang diberikan NaNO_2 dan ekstrak buah okra dengan dosis 300mg/kgBB/hari (P2), dan kelompok yang diberikan NaNO_2 dan ekstrak buah okra dengan dosis 400mg/kgBB/hari (P3). Penelitian menggunakan dosis ekstrak methanol buah okra untuk melihat efek proteksi *testosterone level* pada tikus karena kandungan antioksidan flavonoid pada okra. Hasil dari penelitian

tersebut menyebutkan dosis signifikan sebesar 200mg/kg dan 400 mg/kg.⁸ Antioksidan dari okra ini memiliki kemampuan aktivitas yang cukup kuat berdasarkan uji aktivitas antioksidan yang telah dilakukan menggunakan metode DPPH dengan hasil IC_{50} sebesar 27,15 ppm.⁹ Senyawa antioksidan flavonoid ini akan menghambat atau mengurangi radikal bebas dengan bertindak sebagai *reductant* yaitu menyumbang atom hidrogen dari grup hidroksilnya yang akan menekan pembentukan radikal bebas. Mekanisme reaksi dari flavonoid dengan radikal bebas ini melibatkan penyaluran kation hidrogen dari flavonoid ke radikal bebas melalui *redox reaction* sehingga lebih stabil.^{10,11} Flavonoid juga mampu berikatan dengan logam yang berperan dalam metabolisme oksigen seperti ion besi dimana ion besi bebas berpotensi meningkatkan radikal bebas, sehingga flavonoid mampu mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Sesuai dengan mekanisme tersebut maka akan terjadi perbaikan yang akan meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.^{12,13}

Anemia merupakan penyakit yang memerlukan perhatian khusus karena bila terjadi dalam derajat yang parah dalam waktu yang lama akan menimbulkan berbagai gangguan atau dampak yang mempengaruhi kehidupan. Perlu menjadi perhatian lebih jika anemia terjadi pada remaja. Beberapa akibat anemia pada remaja, antara lain:

1. Penurunan imunitas
2. Gangguan konsentrasi
3. Penurunan prestasi belajar
4. Mengganggu kebugaran dan produktivitas.
5. Memperbesar resiko kematian saat melahirkan
6. Menjadi salah satu penyebab bayi lahir prematur
7. Berat bayi yang cenderung rendah

Selain daripada itu, jika keadaan anemia tidak segera diatasi dapat terjadi komplikasi yang tidak kita harapkan, antara lain:

Jika dibiarkan tanpa penanganan, anemia berisiko menyebabkan komplikasi serius, seperti:

1. Kelelahan sehingga mengganggu aktivitas

2. Terjadinya gangguan pada jantung, seperti aritmia (gangguan irama jantung) dan gagal jantung
3. Gangguan pada paru-paru, seperti hipertensi pulmonal
4. Komplikasi kehamilan, antara lain kelahiran prematur atau bayi terlahir dengan berat badan rendah
5. Tumbuh kembang terganggu jika anemia terjadi pada anak-anak atau bayi
6. Mudah terkena infeksi

IV. SIMPULAN DAN SARAN

Pemberian ekstrak okra (*Abelmoschus Esculentus*) berpengaruh terhadap meningkatnya jumlah sel eritrosit dan kadar/kandungan hemoglobin darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi natrium nitrit (NaNO_2) dan dosis ekstrak okra (*Abelmoschus Esculentus*) sebesar 400mg/kgBB/hari dapat meningkatkan jumlah sel eritrosit dan kadar hemoglobin darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi natrium nitrit (NaNO_2).

V. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih saya ucapkan kepada seluruh jajaran dosen dan staf kependidikan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang atas bantuan, saran, dan masukan selama penelitian ini

REFERENSI

1. Anggresani Lia, Armini Hadriyati, Angga Yuri Syahyara, Septa Pratama. *Analisis Kandungan Natrium Nitrit pada Daging Sapi Mentah di Pasar dan Supermarket Kota Jambi*. Jambi. Chempublish Journal. 2018.
2. Ambarwati Rini. *Effect Of Sodium Nitrite to Eritthrocyte and Hemoglobin Profile in White Rat (Rattus norvegicus)*. Surabaya. Health Polytechnique Ministry of Health. 2012.
3. Harwood-Nuss. *Clinical Practice Of Emergency Medicine Sixth Edition*; Chapter 335. Philadelphia. Wolters Kluwer Health. 2014.
4. Hyun Dong-Hoon, Joe O. Hernandez, Mark P. Mattson, Rafael de Cabo. *Review The plasma membrane redox system in aging*. Baltimore. Elsevier. 2006.
5. Ansari Fariheen Aisha, Riaz Mahmood. *Sodium nitrite enhances generation of reactive oxygen species that decrease antioxidant power and inhibit plasma membrane redox system of human erythrocytes*. Uttar Prades. International Federation for Cell Biology. 2016.
6. Singh Prabhakar, Rajesh Kumar Kesharwani, Krishna Misra, Syed Ibrahim Rizvi. *Research Article Modulation of Erythrocyte Plasma Membrane Redox System Activity by Curcumin*. Allahabad. Hindawi Publishing Corporation Biochemistry Research International. 2016.
7. Umbreit, J. *Methemoglobin — It's Not Just Blue : A Concise Review*. American journal of hematology. 2007. Vol.82.
8. Suhargo Listijani, Brilian Ratna Wati, Sri Puji Astuti Wahyuningsih. *Protective Effect Of Okra Pods Methanol Extract Against Lead Acetate-Induced Testicular Toxicity In Mice*. Surabaya. Research Gate EM International. 2019.
9. Faisal Hendri. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (Abelmoschus esculentus L. Moench) Dengan Metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid)*. Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life. 2019.
10. Panche A. N., A. D. Diwan, S. R. Chandra. *Review Article Flavonoids: an overview*. Aurangabad. Journal of Nutritional Science. 2016.Vol. 5.
11. Francenia Norma Santos-Sánchez, Raúl Salas-Coronado, Claudia Villanueva-Cañongo and Beatriz Hernández-Carlos. *Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism*. Mexico. Licensee IntechOpen. 2019.
12. Nicole Cotelle. *Role of Flavonoids in Oxidative Stress*. Villeneuve d'Ascq. Bentham Science Publishers Ltd. 2001.
13. Gülçin I.lhami. *Fe³⁺-Fe²⁺ Transformation Method: An Important Antioxidant Assay*. New York .Advanced Protocols in Oxidative Stress III, Methods in Molecular Biology, vol. 1208. Springer Science Business Media New York. 2015.