

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anemia merupakan masalah kesehatan masyarakat yang cukup serius dan mempengaruhi sekitar 1,62 miliar orang di seluruh dunia (Balarajan, 2011). *The World Health Organization* (WHO) 2023, melaporkan data prevalensi anemia di dunia pada anak-anak usia 6-59 bulan (40%), wanita hamil (37%), dan wanita usia 15-49 tahun (30%). Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023, melaporkan prevalensi anemia di Indonesia pada ibu hamil adalah 27,7%, balita usia 0-4 tahun 23,8%, dan remaja/dewasa usia 15-24 tahun 15,5% (Kemenkes RI, 2023).

Anemia didefinisikan sebagai penurunan kadar oksigen (O_2) dalam darah akibat penurunan konsentrasi hemoglobin dan volume sel darah merah. Anemia adalah suatu kondisi yang disebabkan oleh gangguan pembentukan darah (eritropoiesis), kehilangan darah, atau penghancuran sel darah merah (Gregory & Makowski, 2018; Silverstein & Hopper, 2022). Stres oksidatif merupakan keadaan terjadinya peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan peroksidasi lipid, mengganggu integritas membran dan berpotensi meningkatkan kerentanan sel darah terhadap kerusakan atau penghancuran sel darah yang lebih cepat. Pemicu kondisi stress oksidatif, seperti paparan racun lingkungan, obat-obatan, atau kondisi patologis (Obegau *et al.*, 2024).

Fenilhidrazin merupakan senyawa yang bersifat mutagenik dapat menyebabkan anemia hemolisis. Metabolit reaktif fenilhidrazin yaitu fenildiazena, radikal fenilhidrazil, dan ion benzendiazonium yang mengalami oksidasi sistematis otomatis menyebabkan kerusakan pada sel darah merah (Pandey *et al.*, 2016). Fenilhidrazin mengoksidasi oksihemoglobin menjadi metemoglobin, yang kemudian berubah menjadi hemikrom ireversibel dan menyebabkan pengendapan hemoglobin. Fenilhidrazin menyebabkan kerusakan pada protein rangka, peroksidasi lipid, pengurangan ATP (Adenosin Tri-Fosfat), ketidakseimbangan kation, dan penurunan membran deformabilitas, semua gejala tersebut menjadi sebab terjadinya anemia hemolisis (Shwetha *et al.*, 2019).

Sel darah merah diproduksi secara terus menerus di sumsum tulang belakang, sejumlah nutrisi diperlukan untuk proses ini. Beberapa zat merupakan bahan penyusun sel darah merah, yaitu asam amino, zat besi, serta beberapa vitamin (B2, B9, B12) dalam jumlah sedikit (Schwartz *et al.*, 2024; Vivien *et al.*, 2007). Makanan seperti daging, ikan, dan telur tinggi akan kadar protein untuk pembentukan sel darah merah (Karlijin *et al.*, 2019).

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) adalah invertebrata laut yang tersebar di seluruh dunia, yang memiliki kandungan nutrisi seperti protein, karbohidrat, mineral (kalsium, kalium, magnesium, fosfor, zat besi), vitamin (A, E, B1, B2, B12), dan asam amino (asam folat, treonin, leusin, fenilalanin, lisin, valin, isoleusin, histidin, dan triptofan) (Rasyid *et al.*, 2020; Aprianto *et al.*, 2020) sehingga dapat dijadikan sebagai sumber makanan untuk terapi antianemia. Teripang pasir juga memiliki senyawa bioaktif sebagai antioksidan seperti karotenoid, flavonoid, polifenol, glikosida), vitamin C dan E, kondroitin sulfat, serta DHA (*Docosahexaenoic acid*) yang mampu mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas, menjaga fungsi pembuluh darah dan memperlancar tekanan darah (Nobsathian & Watuguly, 2016; Wulandari *et al.*, 2021).



Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efek antianemia dari ekstrak teripang pasir pada tikus putih yang diinduksi fenilhidrazin. Hingga saat ini belum terdokumentasi ada laporan ilmiah terkait penggunaan teripang pasir sebagai pengobatan atau terapi efek antianemia.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah fenilhidrazin dapat menginduksi anemia pada tikus?
2. Apakah ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) memiliki efek antianemia pada tikus yang diinduksi fenilhidrazin?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek anemia fenilhidrazin yang diinduksikan pada tikus
2. Untuk menentukan efek antianemia ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada tikus yang diinduksi fenilhidrazin



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat-alat gelas (Pirex[®]), botol cokelat, hematologi analyzer, *food dehydrator*, pipa kapiler, spoit, tabung vacutainer, timbangan analitik (O'Hauss[®]), timbangan hewan (Camry[®]), rotary evaporator (Heidolph[®]), dan *waterbath*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah air suling, etanol 70%, fenilhidrazin, Na-CMC, NaCl 0.9%, dan teripang pasir (*Holothuria scabra*).

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Penyiapan Sampel

Penelitian ini digunakan sampel teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang diambil dari PPLH (Pusat Pendidikan & Lingkungan Hidup) Puntondo, Takalar, Sulawesi Selatan. Sampel dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan lumpur, pasir, serta partikel padat yang terdapat pada sampel, kemudian dibedah untuk mengeluarkan organ dalamnya dan dipotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil (Rasyid *et al.*, 2020).

2.2.2 Ekstraksi

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang telah dibersihkan dan dipotong-potong selanjutnya dikeringkan menggunakan *food dehydrator* selama 3x24 jam pada suhu 50°C untuk mengurangi kadar airnya. Teripang pasir yang telah kering selanjutnya digiling agar diperoleh bentuk serbuk, dan diayak dengan nomor mesh ayakan 18 untuk mendapatkan serbuk berukuran seragam. Ekstraksi teripang pasir dilakukan dengan dimasukkan serbuk teripang pasir ke dalam kantong sokhlet kemudian dimasukkan dalam tabung sokhlet. Pelarut etanol 70% dimasukkan dalam labu alas bulat dan suhu pemanasan diatur pada 60°C. Proses sokhletasi dilakukan berdasarkan siklus pelarut yang melewati sampel hingga ke labu alas bulat, dilakukan sebanyak 7 siklus. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya dilakukan penguapan pelarut menggunakan rotary evaporator, pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Wulandari *et al.*, 2021).

2.2.3 Pengujian Efek Antianemia

2.2.3.1 Penyiapan Hewan Coba

Penelitian ini digunakan 24 tikus (*Rattus norvegicus*) putih jantan dengan galur wistar yang sehat, berat 200-300 gram. Tikus ditempatkan di dalam kandang dan diadaptasikan selama ± 7 hari diberi diet standar pakan dan minum secara *ad libitum* dengan memperhatikan ruangan berventilasi baik, cukup cahaya, dan tenang (Mustaina *et al.*, 2023; Rahman *et al.*, 2020; Pandey *et al.*, 2016).

2.2.3.2 Pembuatan Larutan Fenilhidrazin

Fenilhidrazin ditimbang sesuai hasil perhitungan untuk dosis perlakuan yaitu 40 mg/kgbb kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan NaCl 0,9% hingga volume mencapai tanda batas. Larutan fenilhidrazin dimasukan ke dalam wadah yang tertutup rapat terhindar dari cahaya (Sheth *et al.*, 2021; Palkar *et al.*, 2007).



1 Larutan Koloidal Na-CMC 0.5%

0.5 gram serbuk Na-CMC dimasukkan sedikit-demi sedikit ke dalam lumpang g sebanyak 50 mL yang telah dipanaskan pada suhu 70°C. Campuran diaduk ogen kemudian dipindahkan ke dalam gelas piala dan volume larutan air suling hingga 100 mL (Mustaina *et al.*, 2023).

2.2.3.4 Pembuatan Suspensi Ekstrak Teripang Pasir

Ekstrak teripang pasir ditimbang sesuai hasil perhitungan untuk masing-masing dosis yaitu 1000 mg/kgbb dan 1500 mg/kgbb. Ekstrak dimasukan ke dalam lumpang dan digerus kemudian ditambahkan larutan koloidal Na-CMC 0,5% b/v sedikit-demi sedikit dan diaduk hingga homogen (Hasan, 2013).

2.2.3.5 Prosedur penelitian

Penelitian ini digunakan sebanyak 24 ekor tikus yang dibagi kedalam 4 kelompok perlakuan: kelompok 1 (kontrol sehat), tikus diberikan Na-CMC 0.5%; kelompok 2 (kontrol plasebo), tikus diinduksikan fenilhidrazin 40 mg/kgbb selama 2 hari berturut-turut dan diberikan Na-CMC 0.5% selama 5 hari; kelompok 3 tikus diinduksikan fenilhidrazin dan diberikan ekstrak teripang pasir 1000 mg/kgbb; kelompok 4 tikus diinduksikan fenilhidrazin dan diberikan ekstrak teripang pasir 1500 mg/kgbb (Pandey *et al.*, 2016; Sheth *et al.*, 2021; Mustaina *et al.*, 2023; Sanjeewa *et al.*, 2023).

2.2.3.6 Pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah tikus dilakukan pada hari ke-1, 4, dan 9, darah diambil melalui sinus retro-orbitalis sebanyak 1 mL dan ditampung pada vacutainer (Pandey *et al.*, 2016).

2.2.3.7 Analisis hematologi

Darah tikus yang diperoleh diperiksa menggunakan alat hematologi analyzer untuk melihat kadar *Red Blood Cell* (RBC), Hemoglobin (Hb), Hematokrit (HCT), *Mean Corpuscular Volume* (MCV) dan *Mean Capsulated Hemoglobin* (MCH) (Pandey *et al.*, 2016).

2.2.3.8 Analisis data

Data hasil pemeriksaan disajikan dalam bentuk data numerik rata-rata (mean \pm SD) yang kemudian akan dianalisis menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Program for Social Science*). Data dianalisis dengan uji *one-way* ANOVA, kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok lainnya, dengan nilai $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan (Pandey *et al.*, 2016).

