

ANTIANEMIA ACTIVITY OF *Parkia speciosa* Hassk SEED ETHANOLIC EXTRACT

UJI AKTIVITAS ANTIANEMIA EKSTRAK ETANOLIK BIJI *Parkia speciosa* Hassk

Shella Nursucihta, Hanifah Ataina Thai'in, Denade Mawlidya Putri, Dwijayanti
Ngesthi Utami and Andayana Puspitasari Ghani*)

Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

Iron deficiency anemia is occurred due to lack of iron within the body, so that the amount of iron for erythropoiesis does not meet the requirement. Petai (Parkia speciosa Hassk) which is widespread in Indonesian archipelago, contain high existence of iron is supposed to be able to increase hemoglobin level in white mouse blood (Rattus norvegicus). The research was carried out by using petai from Wonosari whose made to dry extract by using freeze-dryer. Petai seed extract (Parkia speciosa Hassk.) injected to Wistar rat (Rattus norvegicus). Data analysis was using One Sample t-Test and ANOVA test in order to find out the effect of the doses towards pharmacological effect. The result showed that petai seed extract (Parkia speciosa Hassk) gave effect towards the enhancement of hemoglobin level (Hb) within white mouse blood (Rattus norvegicus). However, the optimum dosage was not able to be determined yet.

Keywords : Petai (Parkia speciosa Hassk), hemoglobin level, anemia

ABSTRAK

Anemia defisiensi besi terjadi karena kurangnya zat besi dalam tubuh, sehingga kebutuhan Fe untuk eritropoesis tidak cukup. Petai (Parkia speciosa Hassk.) merupakan tanaman yang tersebar luas di Nusantara, dengan kadar zat besi yang tinggi diduga dapat meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah tikus putih (Rattus norvegicus). Penelitian dilakukan dengan menggunakan petai dari Wonosari dan dibuat menjadi ekstrak kering dengan alat freeze-dryer. Ekstrak biji petai (Parkia speciosa Hassk.) dipejankan pada tikus putih (Rattus norvegicus) bergalur Wistar. Analisis data menggunakan One Sample t-Test dan uji ANOVA untuk mengetahui pengaruh dosis terhadap efek farmakologis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji petai (Parkia speciosa Hassk.) memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar Hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (Rattus norvegicus) namun belum dapat ditentukan dosis ekstrak yang paling optimum.

Kata kunci: Petai (Parkia speciosa Hassk.), Kadar Hemoglobin, Anemia.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki prevalensi anemia defisiensi zat besi pada bayi dan anak cukup tinggi (Soegijanto, 2004). Padahal besi merupakan suatu unsur terbanyak pada lapisan kulit bumi, akan tetapi defisiensi besi merupakan penyebab anemia yang tersering. Hal ini disebabkan tubuh manusia mempunyai kemampuan terbatas untuk menyerap besi dan seringkali tubuh mengalami kehilangan besi yang berlebihan yang diakibatkan perdarahan. (Hoffbrand, *et al.*, 2005)

Anemia Gizi Besi (AGB) adalah anemia yang disebabkan oleh kurangnya zat besi dalam tubuh, sehingga kebutuhan zat besi (Fe) untuk

eritropoesis tidak cukup. AGB ditandai dengan gambaran sel darah merah hipokrom- mikrositer, kadar besi serum (*Serum iron* = SI) dan transferin jenuh menurun, Kapasitas ikat besi total (*Total Iron Binding Capacity* = TIBC) meninggi dan cadangan besi dalam sumsum tulang serta ditempat yang lain sangat kurang atau tidak ada sama sekali (Fairbanks, *et al.*, 1998; Lee, *et al.*, 2006).

Faktor yang mempengaruhi rendahnya kadar hemoglobin adalah makanan yang dikonsumsi setiap hari sedikit mengandung zat besi, adanya zat penghambat dalam penyerapan zat besi yaitu parasit dalam tubuh dan kehilangan darah yang cukup banyak. Dalam keadaan normal tubuh manusia dapat menyerap 5-10% zat besi dan orang yang kekurangan dapat menyerap 10-

Corresponding author : Andayana Puspitasari Ghani
E-mail: andayana_p@yahoo.com

20% zat besi (Winarno F.G, 2004). Resiko anemia gizi besi ini dapat menyebabkan produktivitas kerja rendah, daya tahan tubuh terhadap penyakit menurun, kemampuan belajar anak sekolah rendah peningkatan bobot badan ibu hamil rendah dan kelahiran bayi prematur (Ferreira, *et al.*, 2007; Cooper, *et al.*, 2006).

Besi dengan konsentrasi tinggi terdapat dalam sel darah merah (eritrosit) yaitu sebagai alat angkut oksigen dari paru-paru ke jaringan tubuh untuk metabolisme glukosa, lemak, dan protein menjadi enetgi (ATP), sebagai alat angkut elektron di dalam sel darah sebagai bagian dari berbagai reaksi enzim di dalam jaringan tubuh. Kandungan zat besi dalam tubuh adalah 25mg/kgBB dan 50mg/kgBB pada pria (Winarno, 2004). Menurut Patimah (2007) bahwa zat besi merupakan prekursor yang sangat diperlukan dalam pembentukan hemoglobin dan sel darah merah (eritrosit).

Solusi untuk mengatasi anemia yang ada saat ini yaitu dengan penggunaan suplemen yang mengandung zat besi. Suplemen zat besi tersebut mempunyai efek samping jika digunakan terus menerus yaitu terjadinya konstipasi yang akan berakibat mengganggu kenyamanan dan selanjutnya akan menyebabkan hemoroid. Alternatif lain adalah dengan menggunakan bahan alam, salah satunya adalah dari petai. Petai dapat menjadi solusi karena mengandung zat besi yang tidak hanya dapat mengobati anemia tetapi juga tidak akan menyebabkan efek samping berupa konstipasi karena petai mengandung banyak serat.

Biji petai mempunyai banyak manfaat, diantaranya sebagai anti hipertensi, menyembuhkan konstipasi, antidepresan dan sebagainya (Henri, 2010). Dalam biji petai kaya akan mineral penting yaitu kalsium, fosfor, magnesium, besi, mangan, dan kalium (Mohamed, *et al.*, 1987). Sehingga, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antianemia pada ekstrak biji petai.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji petai (*Parkia Speciosa* Hassk) hasil budidaya di desa Ngelanggeran, Wonosari, Gunung Kidul. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar 27 ekor. Larutan etanol 30%, NaNO₂ (Merck), aquades, EDTA, serbuk CMC Na (Merck), aluminium foil, kertas saring, kain saring.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat timbang terkalibrasi, penangas air, oven, penggiling ukuran lubang 1,5 mm, *freeze dryer* (Modulyo), *Atomic Absorbtion Spectrophotometer* (Perkin Elmer 3110) dan

Automated Hematology Analyzer (Sysmex KX-21), kompor listrik, toples kaca, sendok pengaduk, flakon, capillary, jarum suntik oral 5mL, effendorf dan alat-alat gelas seperti Erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, pipet volume, pipet tetes, corong kaca.

Jalannya Penelitian

Preparasi Sampel

Biji petai (*Parkia speciosa*) yang telah dipanen dipotong-potong menjadi 3 sampai 4 bagian secara melintang. Hasil biji yang sudah dipotong, dimasukkan kedalam oven untuk dikeringkan dengan suhu 60°C selama ±2hari. Simplisia yang sudah siap digunakan adalah yang sudah mudah untuk dipatahkan. Simplisia yang sudah kering selanjutnya diserbuk dengan penggiling ukuran lubang 1,5mm.

Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi simplisia biji petai dilakukan dengan metode maserasi atau perendaman dengan menggunakan etanol 30%. Maserasi pada sampel dilakukan dengan perbandingan 1:5 dan direndam selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Ampas penyaringan dimaserasi kembali dengan etanol 30% dengan perbandingan 1:3 selama 2 hari. Hasil filtrat yang pertama dan kedua selanjutnya diuapkan bersama-sama dengan menggunakan penangas air hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dikeringkan dengan alat *freeze dryer*.

Penentuan Kadar Besi Ekstrak Biji Petai (*Parkia speciosa* Hassk)

Kandungan zat besi dalam tiap miligram ekstrak diukur dengan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry*.

Pembuatan larutan stok NaNO₂

Sebanyak 2,1g serbuk NaNO₂ (Merck) dimasukkan dalam labu takar 300ml dan dilarutkan dalam akuades hingga batas tanda sehingga diperoleh larutan stok 7mg/mL, kemudian dilakukan perhitungan volume NaNO₂ yang dipejankan dengan dosis 187,5. Volume pemejangan NaNO₂ dihitung dengan rumus :

$$\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{Bobot tikus (gram)} \\ \text{stok} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)$$

Uji Aktivitas Antianemia secara *In vivo*

Ekstrak simplisia biji petai yang telah diperoleh selanjutnya diujikan secara *in vivo* pada hewan percobaan yang telah diadaptasi selama 1minggu. Sebanyak 27 ekor tikus yang telah

Tabel I. Pembagian Kelompok Hewan Uji

Kel	Kondisi	Perlakuan	Pemberian
I	Normal	Kontrol Normal	Tidak diberi apapun
I	Anemia	Kontrol Positif	Sangobion
II	Anemia	Kontrol Negatif	CMC Na 0,5 %
III	Anemia	Dosis I	CMC Na 0,5% + Sampel dosis 400mg/KgBB
IV	Anemia	Dosis II	CMC Na 0,5% + Sampel dosis 550mg/KgBB
V	Anemia	Dosis III	CMC Na 0,5% + Sampel dosis 700mg/KgBB

dibuat anemia dengan induksi NaNO_2 dosis 187.5mg/kgBB dibagi menjadi 6 kelompok yang tertera pada tabel I. Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda sesuai dengan tabel tersebut selama 14 hari.

Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Setelah tahap perlakuan diambil sampel darah diambil dari hewan uji (*Rattus norvegicus*) pada setiap kelompok percobaan melalui pembuluh darah vena pada mata dengan menggunakan pipa kapiler. Pengambilan sampel darah ini dilakukan sebanyak 3 kali, yakni sebelum perlakuan, setelah pemberian senyawa NaNO_2 dan setelah perlakuan untuk melihat perubahan yang diberikan. Pada setiap pencuplikan, pengujian kadar hemoglobin dalam sampel darah dilakukan dengan menggunakan alat *Automated Hematology Analyzer*. Hasil yang akan didapatkan adalah berupa data kadar Hemoglobin yang selanjutnya diolah dalam analisis data.

Analisis Data

Hasil data yang didapatkan akan dianalisis menggunakan uji statistika antara lain: One Sampel t-Test, Normality Test, ANOVA. Seluruh teknis pengolahan data dianalisis secara komputerisasi dengan menggunakan program SPSS 17.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Biji petai (*Parkia speciosa*) dari hasil budidaya petani petai di desa Ngelanggeran, Wonosari, Gunung Kidul yang dipanen ketika warna kulitnya sudah mulai menguning. Kemudian biji petai dikupas, disortir untuk mendapatkan kualitas yang baik, dicuci untuk menghilangkan kotoran, dan dipotong-potong secara melintang agar mudah untuk dikeringkan. Biji petai yang telah dipotong tipis kemudian dikeringkan dengan oven suhu 60°C hingga kering bertujuan untuk menghilangkan kadar air sehingga meminimalkan kontaminasi sampel oleh mikroba.

Pada proses pengeringan, tidak digunakan suhu tinggi untuk mencegah terjadinya pirolisis kandungan yang ada di dalam biji petai. Indikasi pada simplisia yang sudah siap digunakan adalah yang sudah mudah untuk dipatahkan dan selanjutnya diserbuk dengan penggiling ukuran lubang 1,5 mm. Hasil yang didapatkan pada tahap ini adalah serbuk simplisia kering biji petai berwarna hijau, berbau khas dan tidak berasa.

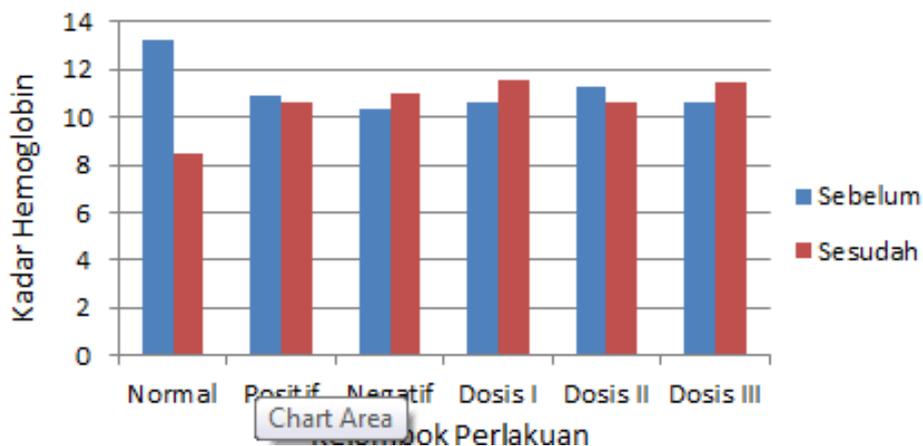
Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi atau perendaman dengan menggunakan etanol 30%. Zat besi di dalam tanaman sebagian besar berada dalam bentuk garamnya yang larut air, sehingga pelarut yang paling baik digunakan untuk penelitian ini adalah dengan menggunakan senyawa polar seperti air. Namun, kadar air yang terlalu besar sangat beresiko akan menjadi media pertumbuhan mikroba, sehingga digunakan campuran air-etanol dengan kadar alkohol 30% yang sudah mampu digunakan sekaligus sebagai preservatif.

Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:5 selama 3 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi dengan perbandingan 1:3 selama 2 hari sambil sesekali diaduk. Hasil filtrat yang pertama dan kedua selanjutnya diuapkan bersama-sama dengan menggunakan penangas air untuk menghindari panas tinggi hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh berwarna kuning kecoklatan dengan bau yang khas dan tidak berasa. Lebih lanjut ekstrak kental dikeringkan dengan alat *freeze dryer* untuk menjadi ekstrak kering, dikarenakan kandungan air didalam ekstrak kental dapat menjadi media pencemaran mikroba.

Penentuan Kadar Besi Ekstrak Biji Petai (*Parkia speciosa*)

Kandungan zat besi di dalam ekstrak diukur dengan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* menghasilkan nilai sebesar 118.091 ± 2.215 ppm. Hasil analisis ini selanjutnya digunakan untuk memperkirakan dosis dalam pemejanan ke hewan uji.



Gambar I. Kurva Perubahan Kadar Hemoglobin Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Tabel II. Tabel Perubahan Kadar Hemoglobin Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Perlakuan	Kadar hemoglobin rata-rata (g/dL)		Rata - rata Selisih Kadar Hemoglobin (sesudah-sebelum perlakuan) (g/dL)
	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan	
Kontrol Normal	13.25	8.45	-4.80 ± 0.566
Kontrol Positif	10.9	10.66	-0.24 ± 1.346
Kontrol Negatif	10.38	11	0.62 ± 0.870
Dosis I (400 mg/KgBB)	10.6	11.54	0.94 ± 0.646
Dosis II (550 mg/KgBB)	11.28	10.64	-0.64 ± 1.736
Dosis III (700 mg/KgBB)	10.66	11.48	0.82 ± 1.941

Uji Aktivitas Antianemia secara *In vivo*

Hasil ekstrak simplisia biji petai yang telah jadi, selanjutnya diujikan secara *in vivo* pada hewan uji yang telah diadaptasi selama 1 minggu. Sebelumnya, dilakukan proses pra-perlakuan untuk mengkondisikan hewan uji menjadi anemia dengan induksi NaNO_2 dengan dosis 187.5mg/kgBB. NaNO_2 bekerja dengan mengubah kemudian mengoksidasi ion Fe^{2+} (ferro) dalam hemoglobin (Hb) dan mengubahnya menjadi ion Fe^{3+} (ferri) sehingga terjadi pembentukan methemoglobin yang tidak lagi mampu sebagai pembawa oksigen ke jaringan-jaringan (Yuningsih, 2000). Hal ini dilakukan agar setelah proses pemejanaan dapat dilihat kenaikan kadar hemoglobin pada hewan uji secara signifikan. Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda sesuai dengan kelompoknya selama 14 hari.

Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Sampel darah diambil dari hewan uji (*Rattus norvegicus*) pada setiap kelompok percobaan melalui pembuluh darah vena pada mata dengan menggunakan pipa kapiler. Pengambilan sampel darah ini dilakukan sebanyak

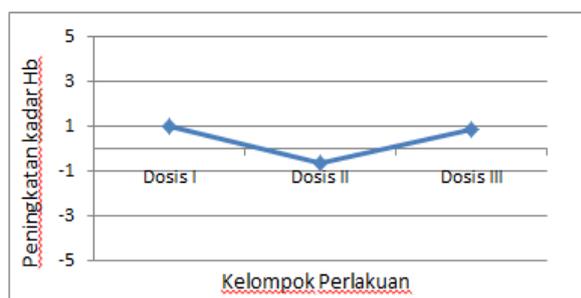
3 kali, yakni sebelum perlakuan, setelah pemberian senyawa NaNO_2 dan setelah perlakuan untuk melihat perubahan yang diberikan. Pada setiap pencuplikan, pengujian kadar hemoglobin dalam sampel darah dilakukan dengan menggunakan alat *Automated Hematology Analyzer*. Hasil ini kemudian dihitung secara statistik dan dilakukan perbandingan dengan nilai hemoglobin normal (12,48gr/dl - 14,63gr/dl).

Dari gambar kurva dapat dilihat bahwa kontrol normal mengalami penurunan kadar hemoglobin yang cukup drastis sementara pada perlakuan lainnya tidak. Artinya, bahwa saat sebelum perlakuan hewan uji mengalami penurunan kadar hemoglobin secara drastis dan penambahan ekstrak mampu meningkatkan kadar hemoglobin meskipun belum mencapai normal. Namun pernyataan ini memerlukan pembuktian lebih lanjut dengan menggunakan perhitungan secara statistik, sehingga dapat diambil kesimpulan yang paling mewakili data tersebut.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari tiga buah uji, yakni One Sampel t-Test, Normality Test, dan ANOVA dengan

menggunakan program SPSS 17.0 for windows. One Sample t-Test disini bertujuan untuk mengetahui kebermaknaan pengaruh perlakuan, baik pada kontrol maupun dosis ekstrak, dibandingkan dengan kontrol normal terhadap peningkatan kadar hemoglobin hewan uji. Dari hasil perhitungan, didapatkan bahwa peningkatan kadar hemoglobin pada hewan uji dengan perlakuan berbeda bermakna dengan kontrol normal ($p > 0.05$). Sehingga, secara statistik dapat dibuktikan bahwa perlakuan dengan ekstrak biji petai mampu meningkatkan kadar hemoglobin pada hewan uji dibandingkan dengan kontrol normal.



Gambar II. Kurva Perubahan Kadar Hemoglobin vs Dosis

Dari gambar II, tidak tampak perbedaan yang cukup berarti diantara dosis I, II dan III. Hal ini tercermin pada uji ANOVA yang mengukur level signifikansi diantara tiap kelompok perlakuan. Secara angka, dosis I (400 mg/KgBB) memiliki perubahan yang paling besar apabila dibandingkan dengan dosis II (550mg/kgBB) dan dosis III (700mg/kgBB). Namun secara statistik, perbedaan tersebut tidak cukup bermakna dengan taraf kepercayaan ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa ketiga dosis tersebut memiliki efek farmakologis yang sama. Hal ini berarti bahwa tidak ada korelasi antara peningkatan dosis ekstrak dengan efek farmakologis, dan dosis optimum diantara ketiga dosis tersebut tidak dapat ditentukan.

Hal tersebut kemungkinan disebabkan penggunaan NaNO_2 sebagai agen penginduksi anemia. Senyawa NaNO_2 dapat menghasilkan efek toksik pada hewan uji karena mampu berikatan dengan amino atau amida membentuk senyawa turunan nitrosamin yang bersifat toksik (Winarno (2002) dalam Sudirman (2007)). Hal ini dibuktikan dengan adanya beberapa tikus yang mati setelah diinduksi dengan senyawa NaNO_2 tersebut, sehingga dosis yang digunakan harus benar-benar tepat.

Dengan demikian, ekstrak biji petai (*Parkia speciosa* Hassk.) terbukti mampu meningkatkan kadar hemoglobin pada hewan uji yang mengalami anemia, namun pada penelitian lebih lanjut perlu dilakukan optimasi dosis NaNO_2 dan ekstrak petai sebagai agen antianemia.

KESIMPULAN

Petai (*Parkia speciosa* Hassk) berpotensi sebagai antianemia. Ekstrak petai (*Parkia speciosa* Hassk) mengandung kadar rata-rata zat besi sebesar 118.091 ± 2.215 ppm. Ekstrak petai (*Parkia speciosa* Hassk) mampu meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus yang menderita anemia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Direktorat Perguruan Tinggi (DIKTI) yang telah membiayai penelitian ini dan kepada Fakultas Farmasi UGM atas segala fasilitas penelitian yang dapat kami gunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cooper, MJ., Cockell, KA., and L'Abbe, M.R., 2006. The Iron Status of Canadian Adolescent and Adults: Current Knowledge and Practical Implication. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*. Vol 67: No.3.
- Fairbanks V.F., and Beutler E., 1998. *Iron deficiency*. In : Beutler E, MA Lichtman, BS Coller and TJ Kipps., editors, *William Hematology*. 6th ed. Mc Graw-Hill inc. New York.
- Ferreira, MU., Nunes, MS., Bertolino, CN., and Malafronte, RS., 2007. Anemia and Iron deficiency in School Children, Adolescent, and Adults: A Community-Based Study in Rural Amazonia. *American Journal of Public Health*. Vol 97: No. 2.
- Heni, T., 2010 . Mengenal Lebih Jauh Tentang Petai. <http://henithree.student.umm.ac.id/2010/01/21/mengenal-lebih-jauh-tentang-petai/>. Diakses pada tanggal 19 Oktober 2013.
- Hoffbrand, A. V., J. E. Pettit., P. A. H. Moss. 2005. *Kapita Selekta Haematologi* Edisi 4. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta : hlm 1-3.
- Lee, HS., Kim, MS., Kim, YJ., and Kim, WY., 2006. Iron status and its *European Journal of Clinical Nutrition*. vol. 60; 1130-1135.
- Mohamed S., Shamsuddin ABD Md., Rehman, Sulaiman S. and Abdullah F. 1987. *Some nutritional and anti nutritional components in jering (pithecellobium*

Shella Nursucihta

jeringa), *kerdas* (*pithecellobium microcarpum*) and association with pregnancy outcome in Korean pregnant women. *petai* (*parkia speciosa*). *Pertanika*, 10(1), 61-68.

Patimah, S. 2007. Pola Konsumsi Ibu Hamil dan Hubungannya Dengan Kejadian Anemia

Defisiensi Besi. *Jurnal Penelitian Kesehatan*. Fakultas Kedokteran. Jakarta: hlm.8-9.

Soegijanto, S. 2004. *Penyakit Tropis dan Infeksi di Indonesia* Jilid 2. Airlangga University Press . Surabaya: hlm.1-3.

Winarno , F.,G., 2004. *Kimia Pangan Dan Gizi*. PT Gramedia Utama. Jakarta