

Pengaruh Pemberian Fraksi Protein Ekstrak Kuda Laut (*Hippocampus kuda* Bleeker, 1852) terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin Mencit (*Mus musculus* L)

Kindi Adam¹, Laksmindra Fitria², Mulyati Sarto²

¹Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI

²Laboratorium Fisiologi Hewan, Universitas Gadjah Mada

email : kindiad@yahoo.co.id

Diterima : 12 Maret 2014

Direvisi : 2 Juni 2014

Disetujui : 2 Juni 2014

Abstract

Seahorse (Hippocampus kuda) is known to have a high concentration of iron, taurin and progesteron as testosteron precursor. Seahorse extract can increase the production of testosterone hormone of mice. On the erythrocytes development, kidney is stimulated to release erythropoietin hormone in case of hypoxia and also related with testosterone production. Erythropoietin control erythrocytes development and increase hemoglobin synthesis. The objective of experiment was to study the effect of seahorse extract as supplemented food in optimal concentration in range of 100, 200 and 300 mg/kg body weight on mice's hematopoiesis and erythropoiesis. Each of treatment groups consist of 5 mices. The observed parameters were hematocrit value, hemoglobin concentration and renal index which observed on day 0, 34 and 67. The result showed that treatment of seahorse protein fraction extract until 300 mg/kg body weight dosage have no effect to the hematocrit value. The 200 mg/kg body weight extract dosage was able to increase the hemoglobin rate measurement. Renal index of Mice on day 34 and 67 after treatment did not give significant difference among treatment and control.

Keywords : *Hippocampus kuda, Hematocrit value, Hemoglobin rate, Renal index*

Abstrak

Kuda laut (*Hippocampus kuda*) diketahui memiliki kandungan zat besi, taurin dan progesteron yang tinggi. Kuda laut mampu meningkatkan produksi hormon testosteron mencit. Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui peran ekstrak Kuda laut sebagai zat yang memiliki sifat seperti hormon eritropoetin pada pemicuan hematopoiesis dan eritropoesis. Ekstrak kuda laut adalah fraksi air yang didapat dari hasil pemisahan antara etanol dan air. Penelitian dilakukan dengan pemberian ekstrak kuda laut dosis 100, 200 dan 300 mg/kg BB dan kontrol kepada mencit (*Mus musculus* L). Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor mencit. Parameter yang diamati meliputi kadar hemoglobin, nilai hematokrit dan indeks ginjal pada hari ke-0, 34 dan 67. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kuda laut pada dosis 300 mg/kg BB sampai hari ke-67 belum mempengaruhi perubahan nilai hematokrit. Ekstrak kuda laut dapat meningkatkan kadar hemoglobin darah mulai dari dosis 200 mg/kg BB. Indeks ginjal mencit pada hari ke-34 dan 67 setelah perlakuan ekstrak Kuda laut tidak berbeda secara signifikan pada masing-masing perlakuan dan kontrol.

Kata kunci : *Fraksi protein Hippocampus kuda, Nilai hematokrit, Kadar hemoglobin, Indeks ginjal*

Pendahuluan

Dalam ilmu pengobatan Cina, kuda laut secara turun temurun dipercaya memiliki khasiat memperkuat stamina dan menguatkan ginjal.^{1,2} Penelitian farmakologis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kuda laut tidak hanya memiliki khasiat dalam meningkatkan hematopoiesis namun juga memiliki aktivitas seperti hormon.³ Kuda laut diduga memiliki kandungan progesteron dan taurin yang tinggi. Keduanya merupakan hormon penting yang berperan dalam metabolisme tubuh.⁴ Progesteron merupakan prekursor dalam pembentukan hormon steroid yang lain, sehingga, hormon ini mampu menginisiasi pembentukan testosteron dan estrogen⁵ pada mencit yang diberi ekstrak kuda laut.^{2,3} Keberadaan Testosteron berpengaruh dalam pembentukan hormon eritropoietin di ginjal.⁶ Selain itu, hormon testosteron juga berperan dalam pembentukan sel darah merah.^{7,8}

DNA kuda laut mengandung sekitar 4,5% kandungan gen yang mengkode protein yang berperan dalam rantai tranpor elektron.³ Rantai tranpor elektron sendiri diketahui memiliki kandungan Fe yang tinggi, baik berupa transferin maupun gugus protein yang berperan dalam rantai transfer protein, yang diketahui memiliki kadar zat besi yang tinggi. Kandungan molekul-molekul penting yang cukup tinggi ini ditengarai berhubungan dengan jaringan utama penyusun tubuh kuda laut yang terdiri atas tulang dan otot.³ Sitokrom C oksidase dalam rantai transfer elektron yang berperan memecah NADH dehidrogenase (Nicotinamide Adenine Dinucleotide-dehidrogenase) dan sub unit ferritin, yang mengandung unsur Fe, ditemukan sangat tinggi per-

sentasinya dalam untai cDNA kuda laut. Informasi ini sesuai dengan tingginya nilai kandungan Fe dalam serbuk kuda laut.^{4,9}

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak kuda laut terhadap nilai kadar hemoglobin yang menunjukkan kapasitas angkut darah terhadap oksigen¹⁰, nilai hematokrit yang mencerminkan pembentukan sel-sel darah merah, dan indeks ginjal sebagai salah satu parameter kondisi ginjal.¹¹

Secara spesifik, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran ekstrak kuda laut sebagai zat yang memiliki sifat seperti hormon eritropoietin pada pemicuan hematopoiesis dan eritopoiesis

Metode

Desain penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen dengan menggunakan 40 ekor mencit jantan (*Mus musculus* L.) galur Swiss umur 3 bulan yang dibagi dalam delapan kelompok secara random. Empat kelompok pertama diberi perlakuan selama 34 hari dan empat kelompok lainnya diberi perlakuan selama 67 hari. Perlakuan yang diberikan adalah: kontrol, pemberian ekstrak kuda laut dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB.

Bahan dan cara

Bahan uji kuda laut jenis *Hippocampus kuda* Bleeker, 1852 diperoleh dari Balai Budidaya Laut (BBL) Lampung dalam keadaan kering, selanjutnya diekstrak di LPPT Universitas Gadjah Mada unit Obat Tradisional untuk mendapatkan fraksi protein dengan menggunakan metode perkolasi dengan pelarut air.

Mencit diperoleh dari LPPT (Laboratorium Penelitian Dan Pengujian Terpadu) UGM dan dipelihara di laboratorium Pemeliharaan Hewan Percobaan Fakultas Farmasi UGM. Berat rata-rata mencit adalah 35-40 g.

Pembuatan larutan hasil ekstraksi diencerkan dengan menggunakan akuades hingga diperoleh konsentrasi akhir 100, 200, 300 mg/kg BB. Masing-masing takaran fraksi protein ekstrak kuda laut diberikan kepada mencit per oral 0,5 ml/hari. Sebagai kontrol, mencit diberi akuades per oral 0,5 ml/hari. Lama perlakuan untuk kelompok ekstrak dan kontrol adalah 34 dan 67 hari yang dipilih berdasar siklus spermatogenesis.

Pengambilan darah melalui ekor atau telinga sebanyak 1 ml pada hari-0 dan hari-34 sudah membuat mencit mengalami anemia. Pada hari ke-34 mencit pada kelompok satu sampai empat dikorbankan untuk mengukur semua parameter yang berhubungan dengan pemberian ekstrak kuda laut. Dalam penelitian ini pengamatan dilakukan pada kadar hemoglobin, nilai hematokrit dan berat ginjal. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada kelompok 5 sampai delapan di hari ke-67.

Penghitungan kadar hemoglobin dilakukan menggunakan metode spektrofotometri, pengukuran nilai hematokrit dilakukan menggunakan mikrohematokrit, dan pengukuran indeks ginjal dilakukan dengan membandingkan berat ginjal terhadap berat total mencit (rasio indeks ginjal).

Analisis hasil

Data kadar hemoglobin, nilai hematokrit dan indeks ginjal dianalisa menggunakan analisis varian satu arah (SPSS 12.0). Jika diketahui ada beda nyata,

dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) untuk membandingkan ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara satu perlakuan dengan perlakuan lain.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian ini dijelaskan berturut-turut mengenai perlakuan pemberian fraksi protein ekstrak kuda laut terhadap nilai hematokrit, kadar hemoglobin dan indeks ginjal. Pada hari pertama perlakuan, sampel darah mencit diambil dari ekor atau daun telinga sejumlah 1 ml yang digunakan untuk mengukur nilai hematokrit (PCV) dan kadar hemoglobin awal. Pengambilan darah ini juga memungkinkan mencit mengalami anemia.

Secara normal sebagaimana terlihat pada kelompok kontrol, terjadi penurunan nilai hematokrit yang menandai turunnya jumlah sel darah merah dalam tubuh mencit. Pada kelompok perlakuan dosis 100 dan 300 mg/kg BB, penurunan nilai hematokrit tidak bermakna secara statistik pada hari ke-34. Pada hari ke-67 yang merupakan siklus kedua spermatogenesis, semua kelompok mencit memiliki nilai hematokrit yang tidak berbeda signifikan dibandingkan hari pertama pengamatan

Pada pengamatan dengan parameter kadar hemoglobin, pengambilan darah yang cukup banyak pada hari pertama menyebabkan mencit anemia sehingga terjadi peningkatan proses pembentukan sel darah merah (eritropoiesis) yang dapat teramati pada hari ke-34 dan hari ke - 67. Semua kelompok pada pengamatan hari ke-34 menunjukkan penurunan kadar hemoglobin, kecuali pada kelompok perlakuan dosis 200 dan 300 mg/kg BB tidak berbeda kadar hemoglobinnya pada hari pertama pengamatan dengan hari ke-34.

Tabel 1. Nilai hematokrit dan kadar hemoglobin mencit (*Mus musculus*) setelah perlakuan pemberian fraksi protein dari ekstrak kuda laut jenis *Hippocampus kuda* Bleeker, 1852

Parameter	Waktu pengambilan sampel	Dosis ekstrak kuda laut (mg/kg BB)			
		Kontrol	100	200	300
Nilai Hematokrit (%)	0	48,60 ± 1,07a	43,20 ± 2,19a	41,10 ± 3,17a	41,70 ± 1,25a
	34	38,67 ± 4,93b	42,67 ± 1,52a	25 ± 1,41b	41,67 ± 5,68a
	67	45,50 ± 0,71a	39,67 ± 4,51a	39 ± 4,24a	45,67 ± 3,05a
Kadar hemoglobin (g/dL)	0	11,50 ± 0,93a	10 ± 0,78a	9,30 ± 0,62a	9,54 ± 1,06a
	34	2,50 ± 0,50b	5,63 ± 1,13b	8,90 ± 3,10a	11,07 ± 0,73a
	67	18,85 ± 1,06c	18,47 ± 3,50c	11,75 ± 0,55b	19,90 ± 1,55b

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak adanya beda nyata pada taraf signifikansi 95% (p = 0,05), n=5

Tabel 2. Indeks ginjal mencit (*Mus musculus*) setelah perlakuan pemberian fraksi protein ekstrak kuda laut jenis *Hippocampus kuda* Bleeker, 1852

Dosis fraksi protein ekstrak kuda laut (mg/kg BB)	Penghitungan indeks ginjal (x10 ⁻³)		
	Hari ke-35	Hari ke-67	Persentase perubahan (%)
Kontrol	8,60 ± 1,34a	7,41 ± 0,47a	-13,89
100	8,96 ± 0,67a	8,24 ± 1,97a	-8,05
200	9,26 ± 1,12a	7,19 ± 0,67a	-22,27
300	9,01 ± 0,55a	7,72 ± 0,85a	-14,30

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak adanya beda nyata pada taraf Signifikansi 95% (p=0,05), n=5

Pada hari ke-67, semua kelompok pengamatan menunjukkan nilai kadar hemoglobin yang lebih tinggi dibanding hari pertama dan ke-34. Walaupun semua kelompok memiliki kadar hemoglobin yang lebih tinggi, peningkatan

kadar hemoglobin pada ke-lompok perlakuan dengan fraksi protein ekstrak kuda laut dosis 200 dan 300 mg/kg BB lebih cepat dibanding kelompok kontrol dan perlakuan ekstrak kuda laut dosis 100 mg/kg BB.

Berdasarkan pengukuran berat ginjal yang dilakukan pada hari ke-34 dan ke-67 pada tabel 2 diketahui bahwa berat ginjal pada mencit yang dikorbankan di hari ke-34 sama untuk semua kelompok. Demikian pula pada mencit yang dikorbankan pada hari ke-67. Analisis berbasis kelompok menunjukkan bahwa semua kelompok mengalami penurunan indeks ginjal seiring bertambahnya usia mencit dan bertambahnya berat badan mencit. Penurunan indeks ginjal terbanyak dialami oleh kelompok perlakuan ekstrak kuda laut 200 mg/kg BB.

Dalam ilmu pengobatan Cina, kuda laut digunakan sebagai afrodisiak. Ekstrak kuda laut mengandung zat besi, taurin dan progesteron yang tinggi⁴ yang dapat merangsang ginjal melepas hormon eritropoietin. Kandungan transferin yang tinggi pada kuda laut dapat meningkatkan efektifitas kerja dari eritropoietin sehingga memicu peningkatan nilai hematokrit, kadar hemoglobin dan berat ginjal. Kadar hemoglobin yang rendah menggambarkan kondisi anemia dan akan memicu pembentukan sel darah merah baru. Kondisi hipoksia dan juga kadar hormon testosteron yang tinggi akan memicu ginjal memproduksi eritropoietin renal.¹¹

Pengambilan darah sebanyak 1 ml menyebabkan mencit anemia sebagaimana ditunjukkan oleh kelompok normal, dengan pemberian fraksi protein ekstrak kuda laut pada penelitian ini dapat mengembalikan nilai hematokrit mencit. Kelompok perlakuan ekstrak kuda laut dengan dosis mulai 100 mg/kg BB diduga mampu menjaga jumlah sel darah merah dalam -

kisaran yang tetap. Kandungan Fe yang banyak terdapat di dalam ekstrak kuda laut diduga membantu proses pembentukan sel darah merah. Selain itu, ekstrak kuda laut meningkatkan proses pembentukan hormon testosteron.⁴

Testosteron diketahui berpengaruh terhadap pembentukan hormon eritropoietin⁸ yang berperan penting dalam pembentukan sel darah merah baru di sumsum tulang. Dalam hal ini, ekstrak kuda laut berperan sebagai suplai Fe yang menjadi salah satu komponen utama darah dan menginisiasi peningkatan produksi testosteron yang secara tidak langsung meningkatkan produksi sel darah merah.

Pada pengukuran kadar hemoglobin, kelompok dengan perlakuan fraksi protein ekstrak kuda laut memiliki nilai yang lebih tinggi pada hari ke-34 dan 67 secara relatif dibandingkan kontrol. Mencit dengan perlakuan pemberian dosis 200 dan 300 mg/kg BB menunjukkan peningkatan kadar hemoglobin pada hari ke-67. Pada hari ke-34, kadar hemoglobin mencit pada perlakuan dosis 200 dan 300 mg/kg BB tidak mengalami perubahan. Dengan demikian perlakuan fraksi protein ekstrak kuda laut dosis 200 mg/kg mulai mempengaruhi kadar hemoglobin pada hari ke-34, ditandai dengan tidak adanya perubahan kadar hemoglobin secara signifikan pada hari ke-34. Sedangkan kelompok kontrol dan perlakuan dosis 100 mg/kg BB mengalami penurunan kadar hemoglobin.

Pemberian fraksi protein ekstrak kuda laut dalam hal ini berperan dalam memberikan suplai zat yang -

dibutuhkan dalam pembentukan sel darah merah. Salah satu substansi penting yang dibutuhkan adalah zat besi. Selain itu ada beberapa kandungan lain dari ekstrak kuda laut yang turut memperlancar proses pembentukan sel darah merah, misalnya testosteron dan lain-lain.

Dosis ekstrak kuda laut 200 dan 300 mg/kg BB memberikan pengaruh dalam peningkatan kadar hemoglobin sejak pengamatan hari ke-34. Sedangkan dosis lain belum menunjukkan peningkatan kadar hemoglobin yang lebih baik dibanding kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis 200 dan 300 mg/kg BB fraksi protein ekstrak kuda laut mampu memberikan suplai optimal substansi yang dibutuhkan dalam pembentukan darah dan meningkatkan kadar hemoglobin darah. Substansi tersebut berperan baik sebagai bahan baku maupun untuk memperlancar proses pembentukan darah.

Indeks ginjal dari mencit yang dikorbankan pada hari ke-34 secara umum lebih tinggi dibanding kelompok yang dikorbankan hari ke-67. Perbedaan antara kelompok perlakuan dan normal di masing-masing hari pengambilan sampel ginjal tidak berbeda secara signifikan.

Pemberian hormon androgen sintesis mempengaruhi produksi eritropoietin renal. Korelasinya dengan ginjal adalah terjadinya peningkatan berat ginjal. Peningkatan ini terjadi karena ada penebalan dinding kapsula bowman dan hipertropi pada tubulus renal ginjal.⁷

Diketahui tidak ada korelasi langsung antara pemberian androgen dan perubahan histologis tersebut, namun

secara jelas dinyatakan bahwa peningkatan pemberian androgen akan meningkatkan berat dan ukuran ginjal. Peningkatan ini berpengaruh pada tekanan intrarenal dan diduga akan menyebabkan hipoksia pada beberapa bagian sel di dalam ginjal yang memicu pelepasan eritropoietin renal.

Kuda laut telah diketahui dapat mempengaruhi peningkatan produksi sperma dan kualitas sperma secara langsung.⁴ Diduga kuda laut yang memiliki aktifitas afrodisiak ini mengandung derivat steroid berupa progesteron.³ Progesteron sendiri merupakan prekursor aktif semua hormon steroid, baik androgen maupun estrogen.¹²

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini, diketahui bahwa pemberian fraksi protein dari ekstrak kuda laut sampai dosis 300 mg/kg BB belum mempengaruhi nilai hematokrit mencit. Fraksi protein ekstrak kuda laut dapat meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah mencit anemia mulai dari dosis 200 mg/kg BB. Pemberian fraksi protein ekstrak kuda laut tidak mempengaruhi indeks ginjal mencit.

Saran

Disarankan perlunya kajian lebih dalam mengenai kandungan protein dari kuda laut yang berperan dalam menstimulus produksi sel darah merah pada mencit. Selain itu, kajian yang berhubungan dengan toksisitas fraksi protein ekstrak kuda laut pada organ lain terutama hati dan empedu masih perlu dilakukan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada segenap staf di Labo-

ratorium Fisiologi Hewan Fakultas Biologi dan Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Daftar Rujukan

1. Lourie SA, Vincent ACJ, Hall HJ. Seahorses: An identification guide to the world's species and their conservation. London: Project Seahorse; 1999.
2. Zhang H, Luo Y, Luo SD. Affect of the sea horse *Hippocampus japonicus* on pituitary gonadal axis in male rats. Chin J Mar Drugs. 2001; 20(2):39-41.
3. Zhang N, Xu B, Mou C, Yang W, Wei J, Lu L, et al. Molecular profile of the unique species of traditional Chinese medicine, Chinese seahorse (*Hippocampus kuda* Bleeker). FEBS Letters Elsevier B.V. 2003; 550:124-134.
4. Fitria L. Pengaruh ekstrak kuda laut (*Hippocampus kuda* Bleeker) terhadap spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus* L). Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Thesis; 2000.
5. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Alih bahasa: Dr. Jan Tambayong. Histologi dasar. Edisi 8. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1998.
6. Fried W, Kilbridge TB, Chomet B. edited by Tomáš Travnicek and Jan Neuwirt. Studies on renal and extrarenal erythropoietin production. Proceedings of the international symposium erythropoieticum. Praha: Universita Karlova; 1970 August: 41-47.
7. Zanjani ED, Banisadre M. Hormonal stimulation of erithropoietin production and erithropoiesis in anephric sheep fetuses. J Clin Invest. 1979 Nov; 64(5):1181-7.
8. Wallace, MA. Hematopoiesis. In: Rodak F, editor. Diagnostic hematology. Philadelphia: W.B. Saunders & Company; 1995.
9. Zhang Z, Xu G, Xu L, Wang Q. Physical and chemical analysis of medicinal animals of syngnathidae. J Chin Med Material. 1997; 20(3): 140-4.
10. Frandson, DR. Anatomi Dan Fisiologi Ternak. Yogyakarta: GMU Press; 1992.
11. Lu FC. Toksikologi dasar. Asas. Organ sasaran, dan penilaian resiko (terj). edisi II. Jakarta: UI press; 1995.
12. Wilson, Gisvolds. (Terj: Mustofa Falah). Text book of original medicinal & pharmacological chemistry. Harper & Row Publ. Inc; 1982.