

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA
(*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP PENINGKATAN
JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Hb)
DALAM DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) ANEMIA**

SKRIPSI

Oleh:

SITI MUNAWAROH

NIM: 05520004



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2009**

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA
(*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP PENINGKATAN
JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Hb)
DALAM DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) ANEMIA**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
SITI MUNAWAROH
NIM: 05520004**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2009**

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Siti Munawaroh

NIM : 05520004

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi

Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin (Hb) Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Anemia.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa di dalam hasil penelitian ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya ilmiah atau penelitian orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan sumber kutipan beserta daftar pustaka. Apabila di dalam hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkannya secara pribadi sesuai aturan yang berlaku.

Malang, 08 Oktober 2009

Penulis



Siti Munawaroh
NIM. 05520004

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA
(*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP PENINGKATAN
JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Hb)
DALAM DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) ANEMIA**

SKRIPSI

Oleh:

**Siti Munawaroh
NIM: 05520004**

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. drh. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si.
NIP. 19710919200003 2 001

Ach. Nasichuddin, M.A
NIP. 19730705200003 1 001

Tanggal, 19 Oktober 2009

**Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi**

Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114199903 1 003

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA
(*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP PENINGKATAN
JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Hb)
DALAM DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) ANEMIA**

SKRIPSI

Oleh:
SITI MUNAWAROH
NIM: 05520004

Telah Dipertahankan di Depan Dosen Penguji Skripsi dan
Telah Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal, 14 Oktober 2009

Susunan Dewan Penguji	Tanda Tangan
1. Penguji Utama : <u>Dr. Dra. Retno Susilowati, M.Si.</u> NIP. 1967113199402 2 001	()
2. Ketua : <u>Kiptiyah, M.Si.</u> NIP. 19731005200212 2 003	()
3. Sekretaris : <u>Dr. drh. Bayyinatul M, M.Si.</u> NIP. 19710919200003 2 001	()
4. Anggota : <u>Ach. Nasichuddin, M.A.</u> NIP. 19730705200003 1 001	()

Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114199903 1 003

PERSEMBAHAN

KARYA KECIL INI, KU PERSEMBAHKAN
CINTA DAN BAKTI UNTUK :

✚ BAPAK, IBU DAN KAKAK-KAKAKKU

✚ TULLAB YANG HAUS AKAN ILMU



MOTTO

ORENG PENTER BADHA GURUNA

ORENG POJUR TADHA' GURUNA

(TAQARRUB ILAALLAH)

*(Orang bisa pintar karena ada guru yang mengajarkannya
Namun, keberuntungan itu datang, tidak ada seorangpun (guru)
yang mampu mengajarkannya, kecuali dekat kepada Allah)*

يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۗ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ۝

(Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat dan Allah Maha mengetahui apa yang kamu kerjakan.) (Al-Mujaadilah: 11).

KATA PENGANTAR

Sesungguhnya tiada kebesaran dan keagungan selain milik Allah, Tuhan sekalian alam. Dialah yang telah menciptakan dan mengatur segala apa yang tercipta. Maka dari itu seharusnya kita selalu memuji dan bersyukur, sehingga kita dapat menjalani hidup ini dengan petunjuk yang nyata kebenarannya, yaitu Al-Qur'an dan Al-Hadits.

Dengan rahmat dan petunjuk Allah SWT beserta perjuangan yang maksimal dan penuh cobaan serta rintangan, akhirnya penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir (TA) atau Skripsi dengan judul ” **Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin (Hb) Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Anemia**”. Ucapkan terima kasih khususnya penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Bapak prof. Drs. Sutiman B. Sumitro, SU., DSc. Selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
3. Bapak Dr Eko Budi Minarno M.Pd, selaku Ketua Jurusan Biologi fakultas Sains dan Teknologi UIN MALIKI Malang.
4. Ibu Dr. drh Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan bapak Ach. Nasichuddin, M.A selaku dosen pembimbing.
5. Bapak dan Ibunda tercinta yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moral maupun spiritual sehingga penulisan tugas akhir dapat terselesaikan.

6. Ibu Kiptiyah M.Si. Selaku dosen mata kuliah Teratologi. Berkat tugas Teratologi dari beliau, ide ini kemudian muncul, sehingga Alhamdulillah penulis mengalami kemudahan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Sahabat-sahabat Balai Materia Medica (BMM) Batu. (Susi, mb Ifnain, Kaeh Noris dan Lora Marqo) terimakasih atas jalinan persahabatan selama ini.
8. Mb Rina, mb Sri (2004), mb Iim, ukhti Dinil (sahabat seihwahku), Yuli trimakasih atas motifasi dan doanya. Yatik, trimakasih laptopnya serta teman-teman seperjuangan angkatan 2005 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan.

Malang, 10 Oktober 2009

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Hipotesis Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Asumsi Penelitian	6
1.7. Batasan Masalah	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Tentang Darah	8
2.1.1 Definisi Darah	8
2.1.2 Hematopoiesis	9
2.1.3 Eritrosit	10
2.1.4 Komponen Kimia Eritrosit	12
2.1.5 Pembentukan Eritrosit	12
2.2. Tinjauan Tentang Hemoglobin (Hb)	14
2.2.1 Definisi Hemoglobin	14
2.2.2 Fungsi Hemoglobin	15
2.2.3 Struktur Hemoglobin	16
2.2.4 Reaksi-Reaksi Hemoglobin	17
2.2.5 Sintesis Hemoglobin	17
2.2.6 Katabolisme Hemoglobin	18
2.3. Tinjauan Tentang Zat Besi	19
2.3.1 Defini Zat Besi	19
2.3.2 Zat Besi Dalam Tubuh	19
2.3.3 Zat Besi Dalam Makanan	20
2.3.4 Metabolisme Zat Besi	21
2.3.5 Penyerapan Zat Besi	22
2.3.6 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Penyerapan Besi	25

2.3.7 Kekurangan dan Kelebihan Zat Besi	25
2.4. Tinjauan Tentang Vitamin C	26
2.4.1 Definisi Vitamin C.....	26
2.4.2 Metabolisme Vitamin C.....	27
2.4.3 Kekurangan dan Kelebihan Vitamin C.....	27
2.5. Tinjauan Tentang Anemia	28
2.5.1 Definisi Anemia.....	28
2.5.2 Jenis-Jenis Anemia.....	28
2.6. Tinjauan Tentang Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	29
2.6.1 Klasifikasi	29
2.6.2 Morfologi	29
2.6.3 Kandungan Kimia dan Gizi	30
2.6.4 Manfaat Rosela	31
2.7. Peran, Metabolisme Fe dan Vitamin C Dalam Pembentukan Eritrosit dan Kadar Hemoglobin (Hb)	32
2.8. Natrium Nitrit (NaNO_2).....	33
2.9. Biologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	36
2.10 Makanan yang Baik Dalam Perspektif Islam	38

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian.....	41
3.2. Variabel Penelitian.....	41
3.3. Waktu dan Tempat Penelitian.....	41
3.4. Populasi dan Sampel.....	42
3.5. Alat dan Bahan.....	42
3.5.1 Alat.....	42
3.5.2 Bahan	42
3.6. Prosedur Kerja	43
3.6.1 Persiapan Hewan Coba	43
3.6.2 Persiapan Perlakuan.....	43
3.6.2.1 Penghitungan Dosis Rosela.....	43
3.6.2.2 Pembuatan Ekstrak Rosela.....	43
3.6.2.3 Pembagian Kelompok Sampel.....	44
3.6.2.4 Penentuan Dosis Natrium Nitrit (NaNO_3)	44
3.6.3 Kegiatan Penelitian	45
3.6.3.1 Pengambilan Sampel Darah Tikus.....	45
3.6.3.2 Penghitungan Jumlah Eritrosit.....	46
3.6.3.3 Penentuan Kadar Hemoglobin (Hb).....	47
3.6.3.4 Perlakuan Pathologis (Anemia)	48
3.6.3.5 Perlakuan Pemberian Ekstrak Rosela	48
3.7. Data dan Teknik Pengambilan Data	48
3.8. Analisis Data.....	49

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Jumlah Eritrosit Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	50
---	----

4.2. Kadar Hemoglobin (Hb) Dalam Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	58
4.3. Efektifitas Rosela Dalam Pandangan Islam.....	67

BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan	73
5.2. Saran	73

DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	74



DAFTAR TABEL

Tabel 3.7.1 Penentuan Jumlah Eritrosit dalam Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Sebelum dan Sesudah Perlakuan	48
Tabel 3.7.2 Penentuan Kadar Hemoglobin dalam Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Sebelum dan Sesudah Perlakuan	49
Tabel 4.1.1 Diagram Rata-Rata Jumlah Eritrosit Tikus Putih <i>Rattus norvegicus</i>	51
Tabel 4.1.2 Tabel Ringkasan Hasil Perhitungan ANKOVA Jumlah Eritrosit Tikus Putih (<i>Rattus noevigicus</i>).....	51
Tabel 4.1.3 Tabel Ringkasan Uji BNT Terhadap Jumlah Eritrosit Tikus Putih (<i>Rattus noevigicus</i>).....	52
Tabel 4.2.1 Diagram Rata-Rata Kadar Hb Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	59
Tabel 4.2.2 Tabel Ringkasan Hasil Perhitungan ANKOVA Kadar Hb Tikus Putih (<i>Rattus noevigicus</i>).....	<u>59</u>
Tabel 4.2.3 Tabel Ringkasan Uji BNT Terhadap Kadar Hb Tikus Putih (<i>Rattus noevigicus</i>).....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bentuk Komponen Dalam Darah	8
Gambar 2.2 Hematopoiesis	10
Gambar 2.3 Bentuk Sel Darah Merah	11
Gambar 2.4 Pembentukan Sel Darah Merah	14
Gambar 2.5 Struktur Molekul Hemoglobin	16
Gambar 2.6 Sintesis Hemoglobin Secara Kimiawi	18
Gambar 2.7 Metabolisme Zat Besi Di Dalam Tubuh	22
Gambar 2.8 Skema Perjalanan Besi Di Dalam Tubuh	23
Gambar 2.9 Susunan Kimia Vitamin C	26
Gambar 2.10 Morfologi Bunga Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	30
Gambar 2.11 Metabolisme Nitrit	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Konsep Penelitian	74
Lampiran 2. Diagram Cara Kerja.....	75
Lampiran 3. Pembuatan Regen Hemolysin (<i>Drabkin</i>).....	76
Lampiran 4. Data Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) dalam Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	77
Lampiran 4.1 Data Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Sebelum Diberi NaNO_2 dan Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	77
Lampiran 4.2 Data Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Setelah Diberi NaNO_2 dan Sebelum Diberi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>).....	77
Lampiran 4.3 Data Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Anemia Setelah Diberi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	78
Lampiran 4.4 Peningkatan Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Anemia Yang Diberi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	78
Lampiran 4.5 Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Sebelum dan Sesudah Perlakuan	79
Lampiran 5. Penghitungan Analisis Kovarian (ANKOVA) Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	79
Lampiran 6. Data Kadar Hb dalam Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	89
Lampiran 6.1 Data Kadar Hb Sebelum Diberi NaNO_2 dan Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdarriffa</i>).....	89
Lampiran 6.2 Data kadar Hb Setelah Diberi NaNO_2 dan Sebelum Diberi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>).....	89
Lampiran 6.3 Data Kadar Hb Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Anemia Setelah Diberi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>).....	90
Lampiran 6.4 Peningkatan kadar Hb Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Anemia Yang Diberi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>).....	90

Lampiran 6.5 Jumlah Kadar Hb Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Sebelum dan Sesudah Perlakuan.....	91
Lampiran 7. Penghitungan Analisis Kovarian (ANKOVA) Kadar Hb Darah Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	91
Lampiran 8 Hasil Pengamatan	100
Lampiran 9 Alat dan Bahan Penelitian	101



ABSTRAK

Munawarah, Siti. 2009. **Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin (Hb) Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Anemia**. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. drh Bayyinatul Muchtaromah, M.Si , Pembimbing II: Ach. Nasichuddin, M.A.

Kata Kunci: Ekstrak Kelopa Rosela (*Hibiscus sabdariffa*), Jumlah Eritrosit, Kadar Hb, Anemia.

Anemia merupakan penyakit kurang darah, yang dapat disebabkan oleh hilangnya darah atau pendarahan dan produksi sel darah merah yang tidak cukup oleh sumsum tulang. Anemia ini, bisa ditandai dengan gejala cepat lelah, kurang bergairah, tidak mampu berkonsentrasi, kurang selera makan, pusing, sesak napas dan lain sebagainya. Di Indonesia anemia mencapai 38-71,5 % yang umumnya diderita oleh para wanita, ibu hamil dan buruh yang berpenghasilan rendah. Faktor penyebabnya adalah kekurangan zat gizi, asam folat, zat besi dan vitamin C.

Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) merupakan tanaman herba yang mudah tumbuh di berbagai daerah. Secara luas dikenal mempunyai khasiat sebagai obat anti hipertensi, diabetes dan antimitosis. Dalam 100 g kelopak Rosela terdapat sekitar 8,98 mg zat besi dan 244,4 mg vitamin C. Adanya kandungan zat besi dan vitamin C yang tinggi ini, diduga dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan empat dosis perlakuan yaitu pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dosis 0 (kontrol); 0,18; 0,36 dan 0,72 g/ekor/hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan enam kali ulangan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Kovarian (ANKOVA) 1 faktor, apabila terdapat perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji BNT 5 %. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah eritrosit dan kadar Hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Dosis ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) yang paling optimal untuk meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah 0,72 g/ekor/hari kemudian diikuti oleh dosis 0,36 dan 0,18 g/ekor/hari.

BAB I

PENDAHULUAN

I.I Latar Belakang

Berbagai masalah gizi masih diderita oleh sebagian masyarakat di Indonesia dan salah satu masalah kekurangan gizi utama adalah anemia. Anemia dapat disebabkan oleh hilangnya darah atau pendarahan dan produksi sel darah merah tidak cukup oleh sumsum tulang. Produksi sel darah merah dengan tulang tidak mencukupi, umumnya berhubungan dengan defisiensi besi dalam makanan atau destruksi sel darah yang cepat. Wahyu (2004) menambahkan, anemia sering juga disebut sebagai penyakit kurang darah yang biasanya ditandai dengan gejala cepat lelah, kurang bergairah, tidak mampu berkonsentrasi, kurang selera makan, pusing, sesak nafas, mudah kesemutan, merasa mual dan jantung berdebar-debar.

Umumnya, anemia ini disebabkan oleh kekurangan zat besi, sehingga disebut anemia gizi besi. Penelitian Kusmiati (2004) menyebutkan bahwa prevalensi anemia defisiensi besi di Indonesia pada masing-masing daerah bervariasi, yaitu antara 38% sampai 71,5% dan rata-rata sekitar 63,5 %. Budiyanto (2002) mendefinisikan anemia sebagai suatu keadaan kekurangan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah dan salah satu faktor penyebabnya adalah kekurangan zat gizi (khususnya zat besi) yang diperlukan untuk pembentukan Hb tersebut.

Anemia defisiensi besi ini, seringkali diderita oleh para ibu hamil dan menyusui. Hal ini berkaitan dengan tingginya abortus, mortalitas Ibu dan bayi yang baru dilahirkan, bayi lahir dengan berat badan rendah, kecerdasan anak menurun serta

tulang yang keropos. Selain itu, anemia diderita oleh balita, anak sekolah, para pekerja atau buruh wanita yang berpenghasilan rendah (Wahyuni, 2004).

Budiyanto (2002) menambahkan, bahwa wanita haid juga membutuhkan asupan besi yang paling banyak dibandingkan dengan yang lain, yakni 12 mg/hari. Kejadian tersebut disebabkan oleh terganggunya berbagai fungsi fisiologi organ yang berkaitan dengan peran Hb sebagai pembawa O₂ ke jaringan yang diperlukan untuk proses metabolisme.

Keberadaan zat besi ini, telah dijelaskan dalam al-Quran surat al-Hadid ayat 25 berikut:

.....لَقَدْ أَنْزَلْنَا الْحَدِيدَ فِيهِ بَأْسٌ شَدِيدٌ وَمَنْفَعٌ لِلنَّاسِ وَلِيَعْلَمَ اللَّهُ مَن يَنْصُرُهُ وَرُسُلَهُ بِالْغَيْبِ إِنَّ اللَّهَ قَوِيٌّ عَزِيزٌ ﴿٢٥﴾

Artinya: ”.....Dan kami ciptakan besi padanya terdapat kekuatan yang hebat dan berbagai manfaat bagi manusia, (supaya mereka mempergunakan besi itu itu) dan supaya Allah mengetahui siapa yang menolong agama-Nya dan rasul-rasul-Nya padahal Allah tidak dilihatnya.

Berdasarkan Al-Mahalli dan As-Suyuti (2003), ayat tersebut dapat dijelaskan bahwa begitu pentingnya zat besi bagi tubuh manusia. Kata yang bergaris bawah شَدِيدٌ (kekuatan) mengandung makna, bahwa besi dapat berikatan dengan hemoglobin untuk mengangkut oksigen dalam darah, sehingga menjadikan kondisi tubuh yang sehat. Tubuh yang sehat, dapat dikatakan sebagai tubuh yang kuat. Sedangkan مَنْفَعٌ (manfaat) menjelaskan bahwa keberadaan besi tersebut memberikan manfaat bagi manusia dalam penyebaran oksigen ke seluruh tubuh. Tanpa zat besi, oksigen tidak akan bisa diedarkan ke seluruh tubuh.

Dalam tafsir al-Mishbah dikemukakan bahwa besi mempunyai kekuatan yang dapat membahayakan dan banyak kegunaan lain bagi manusia. Komponen besi misalnya, masuk dalam proses pembentukan klorofil yang merupakan zat peng hijau tumbuh-tumbuhan dalam fotosintesis, sehingga membuat tumbuhan bisa bernafas dan menghasilkan protoplasma. Dari situlah zat besi kemudian masuk ke dalam tubuh manusia dan hewan (Shihab, 2004).

Hemoglobin (Hb) merupakan salah satu komponen penyusun darah dan merupakan suatu derivat porfirin yang mengandung besi serta berfungsi dalam hal pengikatan dan pengangkutan O₂. Hb berfungsi membawa CO₂ dari jaringan tubuh, dengan aktifitas ini, maka Hb juga membantu terciptanya keseimbangan asam basa dalam darah (Junquera, 1997).

Anemia karena kekurangan zat besi ini dapat juga terjadi karena konsumsi energi, zat besi dan vitamin C yang rendah. Hal ini berkaitan dengan pola konsumsi makanan masyarakat Indonesia yang masih didominasi oleh pangan nabati, sedangkan pangan hewani jarang dikonsumsi. Salah satu faktor penyebabnya adalah ekonomi masyarakat Indonesia yang kurang memadai.

Zat besi di dalam bahan makanan dapat berbentuk hem yang berkaitan dengan protein dan terdapat dalam bahan makanan yang berasal dari hewani. Lebih dari 35% hem ini dapat diabsorpsi langsung. Bentuk lain adalah dalam bentuk non heme yaitu senyawa besi anorganik kompleks yang terdapat di dalam bahan makanan yang berasal dari nabati, yang hanya dapat diabsorpsi sebanyak 5 %. Zat besi non heme, absorpsinya dapat ditingkatkan apabila terdapat kadar vitamin C yang cukup. Vitamin

C dapat meningkatkan absorpsi zat besi non heme sampai empat kali lipat (Mulyawati, 2003).

Absorpsi besi yang efisien dan efektif adalah dalam bentuk Fero karena mudah larut. Untuk itu, diperlukan suasana asam di dalam lambung dan senyawa yang dapat mengubah Ferri menjadi Fero di dalam usus. Senyawa yang dimaksud adalah asam askorbat (vitamin C). Kecepatan absorpsi besi juga dipengaruhi oleh kadar besi plasma. Pada anemia defisiensi besi, absorpsi besi dapat menjadi empat sampai lima kali lipat dari normal (Almatsier, 2004). Sediaoetomo (2006) menjelaskan bahwa manusia tidak mempunyai kesanggupan untuk mensintesis vitamin C, sehingga harus mendapatkannya dari luar tubuh dalam bentuk makanan atau pengobatan. Anjuran kepada manusia untuk memperoleh makanan dari luar tubuh ini, sebagaimana firman Allah dalam surat al-baqarah ayat 168 berikut:

يَأْتِيهَا النَّاسُ كُلُّوْا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ
إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ

Artinya: *Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan; karena Sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu.*

Makanan yang baik adalah makanan yang halal lagi baik. Makanan *halalan tayyiban* adalah makanan yang boleh untuk dikonsumsi dan baik bagi tubuh. Baik itu dzatnya, cara memperoleh dan pengolahannya (Rahmadi, 2007).

Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan mineral (Fe) dan vitamin C paling tinggi diantara tanaman obat lainnya, seperti Bayam (*Amaranthus Janjeticus*), daun Singkong (*Manihot*

esculenta), daun Katuk (*Sauropus androgynus*) dan lain sebagainya. Kustyawati dan Sulastri (2008), mengatakan bahwa dalam 100 g kelopak bunga Rosela memiliki kandungan zat besi sebanyak 8,98 mg dan vitamin C sebanyak 244,4 mg. Kandungan vitamin C yang tinggi ini dapat berfungsi sebagai bahan antioksidan dalam tubuh.

Penelitian yang pernah dilakukan pada tikus (*Rattus norvegicus*) dan kelinci (*Lepus nigricollis*) bahwa ekstrak kelopak Rosela menyebabkan penurunan tekanan darah (*Hypertensi*) (Arellano, 2004), penurunan glukosa darah (*Diabetes Militus*) dan mengobati penyakit demam serta liver (BH, 2005).

Dalam penelitian ini, akan dikaji pengaruh ekstrak Rosela terhadap peningkatan jumlah eritrosit dan kadar Hemoglobin. Hasil penelitian ini diharapkan, ekstrak Rosela dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah eritrosit dan kadar Hemoglobin. Berdasarkan penelitian ini, dapat dijadikan bahan rujukan dalam menanggulangi atau mengobati penyakit anemia.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan dirumuskan permasalahan yaitu, apakah ada pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

I.4 Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

I.5 Manfaat Penelitian

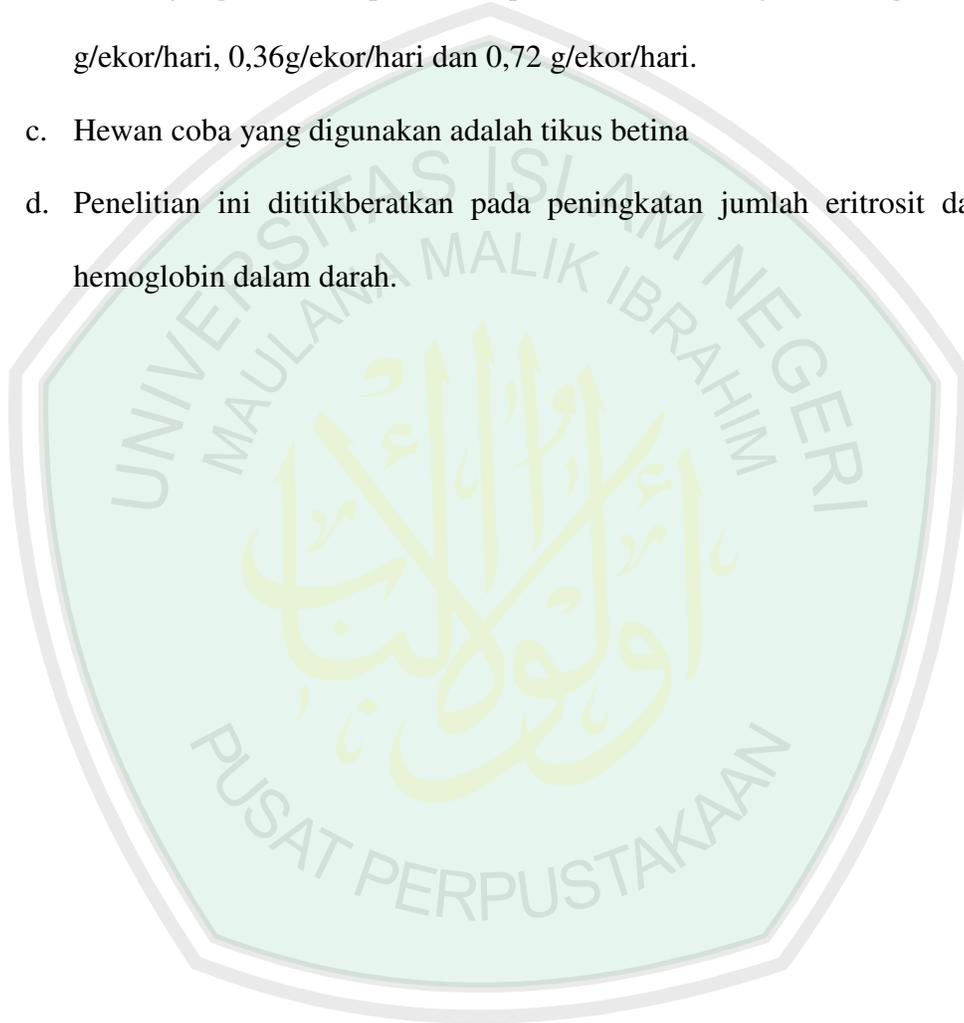
- a. Menambah pengetahuan dalam bidang kesehatan, yakni dapat memberikan informasi bahwa Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) merupakan obat tradisional yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit anemia.
- b. Menggalakkan penggunaan obat tradisional di masyarakat, sebagai bentuk dari pemanfaatan bahan alam atau *back to nature*.
- c. Dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang pentingnya membudidayakan tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) sebagai obat, yaitu bahan yang bernilai ekonomis.
- d. Hasil penelitian ini selanjutnya dapat digunakan sebagai sumber informasi untuk melakukan penelitian lebih lanjut dan dapat berguna dalam mendukung kegiatan mata kuliah fisiologi hewan.

1.6 Asumsi Penelitian

- a. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah sama, baik dalam hal peralatan, suhu dan perawatan hewan.

1.7 Batasan Masalah

- a. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian kelopak dan berupa ekstrak
- b. Rosela yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan dosis 0,18 g/ekor/hari, 0,36g/ekor/hari dan 0,72 g/ekor/hari.
- c. Hewan coba yang digunakan adalah tikus betina
- d. Penelitian ini dititikberatkan pada peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dalam darah.



BAB II

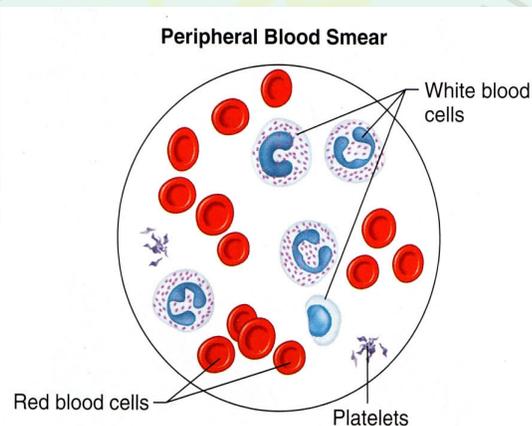
KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Darah

2.1.1 Definisi Darah

Darah merupakan cairan kental dalam tubuh dan mempunyai aliran yang lebih lamban daripada air. Suhu darah di dalam tubuh diperkirakan 38 °C, pH antara 7,35-7,45 dan bersifat isotonik pada 0,85% NaCl. Darah merupakan 8% berat total tubuh dan volume totalnya pada pria dengan berat badan 70 kg kira-kira 5,6 L, sedangkan pada wanita kira-kira 5 L (Soewolo, 2005).

Secara mikroskopik, darah tersusun dari dua bagian yaitu, cairan berbentuk elemen atau sel-sel darah dan bagian cair atau plasma (tempat sel-sel darah berada). Bagian berbentuk elemen meliputi, eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah) (Hole, 1998).



Gambar: 2.1 Bentuk komponen dalam darah (Shier dkk, 2004).

Volume eritrosit padat per satuan volume darah (hematokrit) pada pria dewasa adalah 40-50% dan pada wanita dewasa 35-45%. Volume rata-rata plasma pada pria dewasa sebanyak 55% dan wanita 58%, sedangkan leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah) hanya 1% (Sherwood, 2001).

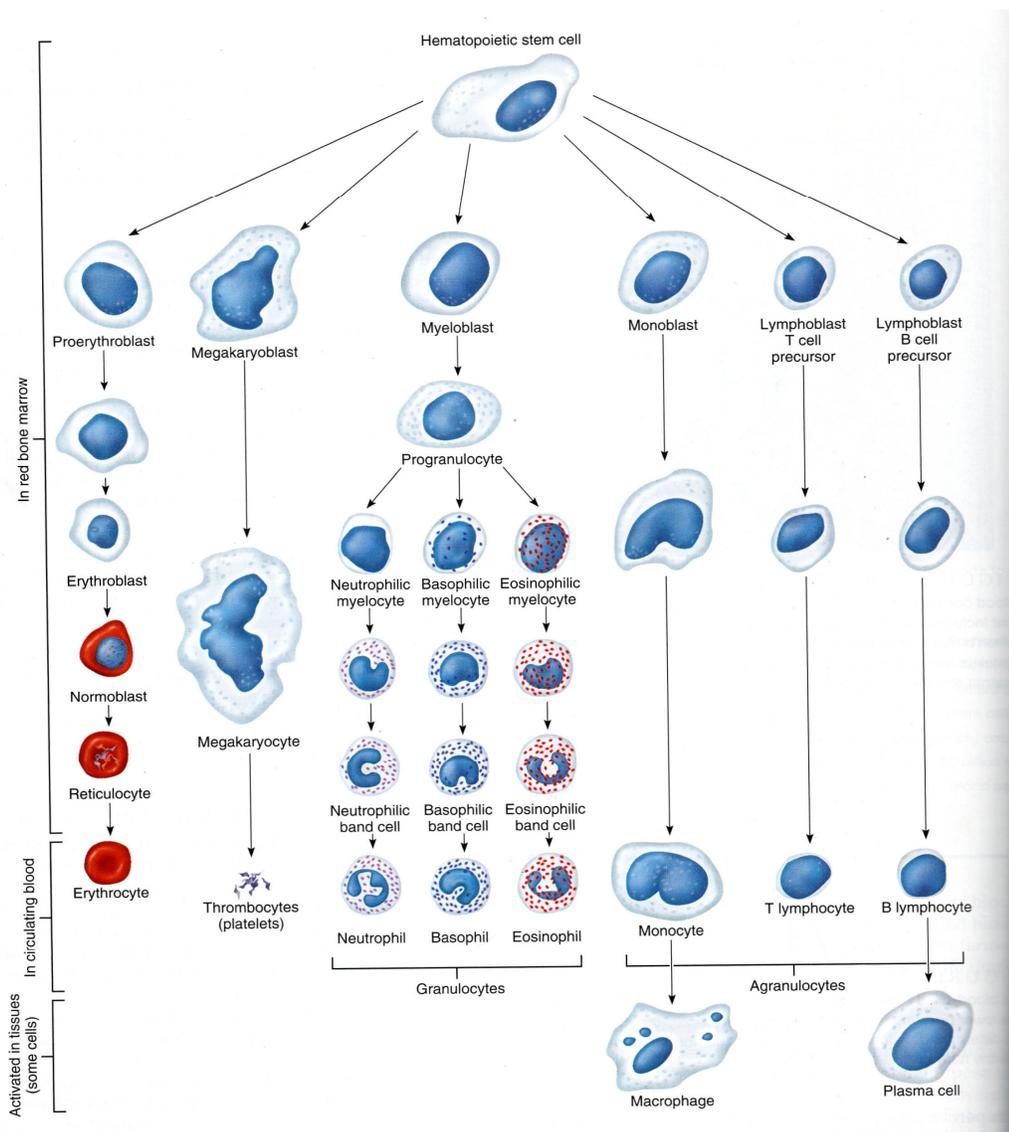
Dalam tubuh manusia, darah berfungsi dalam proses pengangkutan atau transportasi (zat-zat makanan, oksigen, sisa-sisa metabolisme, hormon, enzim dan antibodi). Selain itu, darah juga berfungsi dalam proses perlindungan dan pengaturan atau regulasi, baik dalam pH, suhu tubuh maupun kandungan air dalam jaringan (Soewolo, 2000).

2.1.2 Hematopoiesis

Hematopoiesis atau hemopoiesis merupakan proses pembentukan sel-sel darah. Selama masa embrional dan fetal, tidak ada pusat tunggal bagi produksi sel darah. Hati, limpa, kelenjar timus, nodus limfe dan sumsum tulang ikut serta pada berbagai waktu dalam menghasilkan bentuk-bentuk elemen darah (Soewolo, 2005).

Pada Janin, derivat-derivat mesoderm di bagian-bagian lain dari tubuh juga membentuk sel-sel darah secara aktif. Pada bayi yang baru lahir, hati, limpa serta sumsum hampir semua tulang merupakan tempat pembentukan sel darah yang aktif (Widwan, 1989).

Saat dewasa, jaringan hemopoietik dipisahkan menjadi dua jenis, yaitu jaringan mieloid atau sumsum tulang dan jaringan limfoid yang kebanyakan terletak dalam nodus limfe. Eritrosit dan keping darah, kecuali limfosit dibentuk dalam jaringan myeloid (Soewolo, 2005).

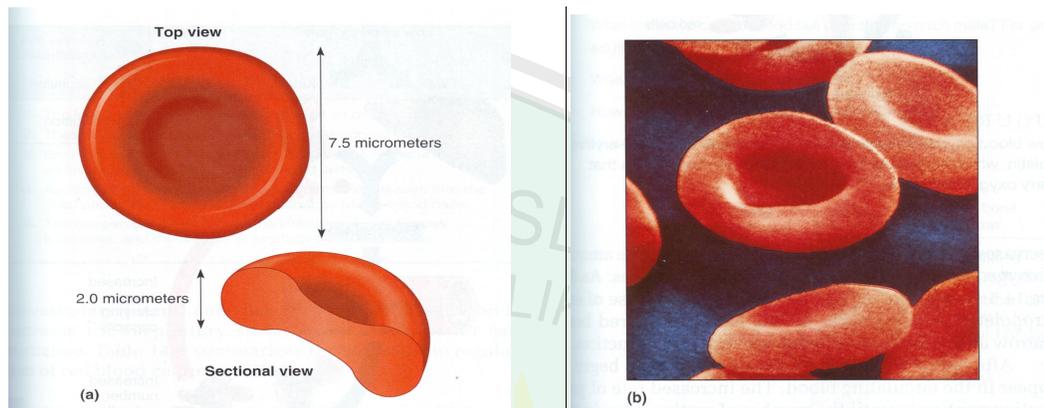


Gambar: 2.2 Hematopoiesis (Marieb dan Hoehn, 2007)

2.1.3 Eritrosit

Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mentranspor hemoglobin, yang selanjutnya membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan. Selain itu berfungsi dalam mengkatalisis reaksi antara karbon dioksida dengan air. Sel darah merah normal

merupakan cakram bikonkaf yang mempunyai garis tengah rata-rata 8 μm , tepi luar tebalnya 2 μm dan bagian tengahnya 1 μm (Guyton, 1996).



Gambar : 2.3 Bentuk sel darah merah (Shier dkk, 2004)

Bentuk has ini ikut berperan melalui dua cara, terhadap efisiensi eritrosit terhadap pengangkutan O_2 dalam darah. Pertama, bentuk bikonkaf menghasilkan luas permukaan yang lebih besar bagi difusi O_2 dalam menembus membran daripada yang dihasilkan oleh sel bulat dengan volume yang sama. Kedua, tipisnya sel kelenturan (flexibilitas) membrannya sehingga memungkinkan O_2 berdifusi secara lebih cepat antara bagian paling dalam sel dengan eksteriornya (Sherwood, 2001).

Guyton (1997) juga menambahkan, bahwa bentuk sel darah merah dapat berubah-ubah ketika sel berjalan melewati kapiler. Selanjutnya, karena sel normal mempunyai membran yang sangat kuat untuk menampung banyak bahan material di dalamnya, maka perubahan bentuk tadi tidak akan merenggangkan membran secara hebat. Sebagai akibatnya, tidak akan memecahkan sel.

Volume rata-rata sel darah merah ini antara $90 - 95 \mu\text{m}^3$, pada laki-laki normal, jumlah rata-rata sel darah merah per mm^3 antara $4.600.000 - 6.200.000$, sedangkan pada wanita normal antara $4.200.000 - 5.400.000$ (Andrianto, 1996). Guyton dan Hole (1998) menambahkan, bahwa untuk anak-anak normal antara $4.500.000 - 5.100.000$ sel per mm^3 .

2.1.4 Komponen Kimia Eritrosit

Eritrosit dikelilingi oleh suatu plasmalemma. Plasmalemma merupakan membran sel yang terdiri dari kira-kira 40 % lipid (fosfolipid, kolestrol, glikolipid dan sebagainya), 50% protein dan 10% karbohidrat. Bagian dalam, eritrosit mengandung larutan 33% hemoglobin (Junquera, 1997).

Guyton (1997) menambahkan, bahwa sel darah merah mengandung banyak sekali *karbonik anhidrase*, yang mengkatalisis reaksi antara karbon dioksida dan air, sehingga meningkatkan kecepatan reaksi bolak-balik ini beberapa ribu kali. Cepatnya reaksi ini membuat air dalam darah dapat bereaksi dengan banyak sekali karbondioksida dalam bentuk (HCO_3^-).

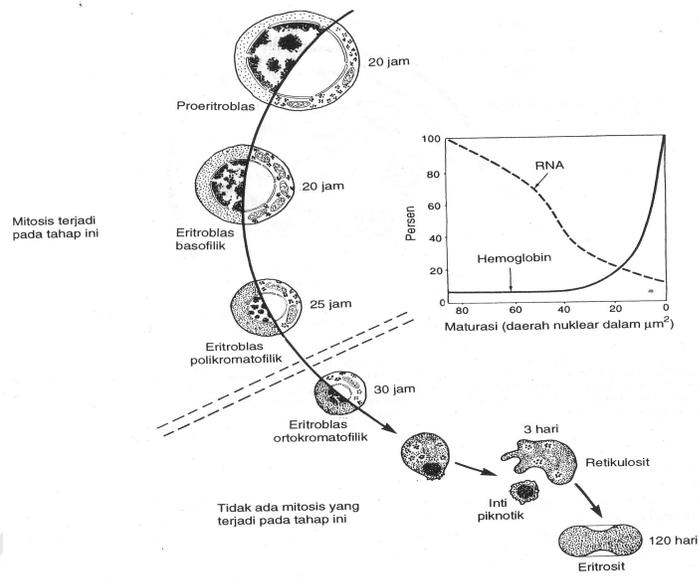
Eritrosit tidak memiliki nukleus, organel atau ribosom. Di dalam eritrosit matang, terdapat enzim yang tidak dapat diperbaharui, yaitu enzim glikolitik dan anhidrase. Enzim glikolitik berperan penting dalam menghasilkan energi, karena eritrosit tidak memiliki mitokondria. Enzim karbonat anhidrase, berperan dalam pengangkutan CO_2 (Sherwood, 2001).

2.1.5 Pembentukan Eritrosit

Sel yang pertama dapat dikenali sebagai bagian dari rangkaian sel darah merah adalah proeritroblas. Sekali proeritroblas ini terbentuk, maka akan membelah

beberapa kali, sampai akhirnya banyak terbentuk sel darah merah yang matur. Sel darah merah ini, sebagian besar diproduksi pada sumsum tulang dengan *sel stem hemopoietik pluripoten* sebagai asal dari seluruh sel-sel dalam darah sirkulasi (Ham, 1969).

Sel-sel generasi pertama dari proeritroblas ini, disebut basofil eritroblas. Saat ini, sel mengumpulkan sedikit sekali hemoglobin, yang mana kemudian dilanjutkan oleh *late erythroblast* (eritroblas akhir). Generasi berikutnya (*normoblast*), sel sudah dipenuhi oleh hemoglobin dengan konsentrasi sekitar 34 %, maka nukleus memadat menjadi kecil dan sisa akhirnya terdorong dari sel. Pada saat yang sama, retikulum endoplasma direabsorpsi (Marieb, 2005). Pada tahapan ini disebut retikulosit, sel masih mengandung sedikit bahan basofilik, yaitu terdiri dari sisa aparatus golgi, mitokondria dan sedikit organel sitoplasmik lainnya. Selama tahap retikulosit, sel-sel berjalan dari sum-sum tulang masuk ke dalam kapiler darah dengan cara diapedesis (terperas melalui pori-pori membran kapiler). Bahan basofilik yang tersisa dalam retikulosit normalnya akan menghilang dalam waktu 1 sampai 2 hari, sel kemudian menjadi eritrosit matur (Guyton, 1997).



Gambar: 2.4 Pembentukan sel darah merah (Eritropoiesis) (Junquera, 1997)

2.2 Tinjauan Tentang Hemoglobin (Hb)

2.2.1 Definisi Hemoglobin

Hemoglobin merupakan suatu protein dengan berat molekul 64.450 serta pigmen merah pembawa oksigen dalam sel darah merah. Hemoglobin merupakan protein pembawa oksigen berbentuk globular. Setiap molekul hemoglobin mengandung 5 % heme yang mengandung zat besi dan 95% globulin, sebuah polipeptida. Pigmen ini merupakan kromogen yang mempunyai empat kelompok metal pirol (Ganong, 1983).

Karena kandungan besinya, hemoglobin tampak kemerahan apabila berikatan dengan O_2 dan kebiruan apabila mengalami deoksigenasi. Dengan demikian, darah arteri yang teroksigenasi sempurna tampak merah dan darah vena yang telah kehilangan sebagian O_2 di jaringan memperlihatkan rona kebiruan (Sherwood, 2001).

2.2.2 Fungsi Hemoglobin

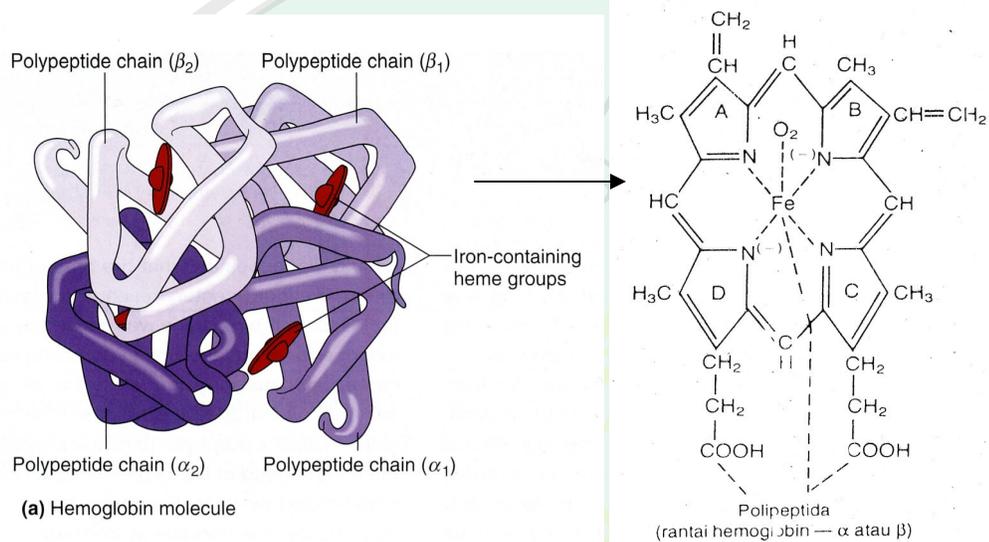
Tugas utama dari hemoglobin adalah sebagai pengangkut oksigen (O_2) dari paru-paru atau insang ke seluruh jaringan badan (Campbell, 200). Sherwood (2001) menambahkan, selain berperan penting dalam pengangkutan O_2 , hemoglobin juga ikut serta dalam pengangkutan CO_2 dan menentukan kapasitas penyangga dari darah.

Darah orang normal mengandung hemoglobin hampir 15 gram dalam tiap-tiap 100 ml darah dan tiap g hemoglobin dapat berikatan dengan oksigen, maksimal kira-kira 1,34 ml (Fikri dan Ganda, 2005). Guyton dan Hall (1997) menambahkan, sel-sel darah merah mampu mengkonsentrasikan hemoglobin dalam cairan sel sampai sekitar 34g/dl sel. Pada orang normal, persentase hemoglobin hampir selalu mendekati maksimum dalam setiap sel. Namun, bila pembentukan hemoglobin dalam sel berkurang, maka persentase hemoglobin dalam sel dapat turun sampai di bawah nilai ini dan volume sel darah merah juga menurun. Hal ini disebabkan hemoglobin untuk mengisi sel berkurang

Guyton dan Hall (1997) menambahkan pula, bahwa bila hematokrit atau persentase sel dalam darah, normalnya yaitu sekitar 40-45% dan jumlah hemoglobin dalam masing-masing sel nilainya normal, maka total darah seorang pria rata-rata mengandung hemoglobin 16 g/dl, sedangkan wanita rata-rata 14g/dl. Setiap g hemoglobin murni mampu berikatan dengan oksigen kira-kira 1,39 ml. Oleh karena itu, pada orang pria normal, setiap dl (desi liter) darah lebih dari 21 ml oksigen dapat dibawa dalam bentuk gabungan dengan hemoglobin, sedangkan pada wanita normal, oksigen yang dapat diangkut sebesar 19 ml.

2.2.3 Struktur Hemoglobin

Molekul hemoglobin terdiri dari dua bagian, yaitu bagian globin dan hem. Bagian globin merupakan suatu protein yang terbentuk dari 4 rantai polipeptida yang berlipat-lipat. Hem merupakan gugus nitrogenosa non protein yang mengandung besi dan masing-masing terikat pada satu polipeptida (Sherwood, 2001).



Gambar: 2.5 Struktur molekul hemoglobin (Marieb dan Hoehn, 2007)

Ada dua pasang polipeptida di dalam setiap molekul hemoglobin, dua dari sub unit tersebut mengandung satu jenis polipeptida dan dua lainnya mengandung polipeptida lain. Pada hemoglobin manusia, dewasa normal (hemoglobin A), dua jenis polipeptida tersebut disebut rantai α dan masing-masing mengandung 141 residu asam amino dan rantai β masing-masing mengandung 146 residu asam amino. Hemoglobin ini diberi kode $\alpha_2\beta_2$ (Ganong, 1987).

Hemoglobin mengandung empat rantai polipeptida dan empat gugus prostetik heme, yang mempunyai atom besi dalam bentuk *ferro* (Fe^{3+}). Bagian protein yang

disebut globulin terdiri dari dua rantai α (masing-masing 141 residu asam amino) dan dua rantai β (masing-masing 141 residu asam amino) (Marieb, 2005).

Secara struktur, terdapat juga beberapa variasi kecil pada rantai sub unit hemoglobin yang berbeda, bergantung pada susunan asam amino di bagian polipeptida yaitu rantai *alfa*, *beta*, *gama* dan *delta*. Bentuk hemoglobin yang paling umum pada orang dewasa adalah A, gabungan antara dua rantai *alfa* dan dua rantai *beta* (Guyton dan Hall, 1997).

2.2.4 Reaksi-Reaksi Hemoglobin

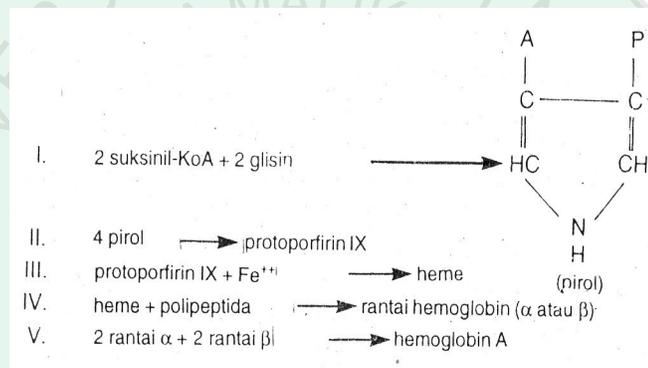
Menurut Sherwood (2002), selain berikatan dengan O_2 , hemoglobin juga berikatan dengan zat-zat berikut:

1. Karbon dioksida, hemoglobin ikut berperan mengangkut gas ini dari jaringan kembali ke paru.
2. Bagian ion hidrogen asam (H^+) dari asam karbonat yang terionisasi, dibentuk dari CO_2 pada tingkat jaringan. Hemoglobin menyangga asam ini, sehingga pH tidak terlalu berpengaruh.
3. Karbon monoksida (CO). Gas ini dalam keadaan normal tidak terdapat dalam darah, tetapi jika terhirup, menempati tempat pengikatan O_2 di hemoglobin, sehingga terjadi keracunan monoksida.

2.2.5 Sintesis Hemoglobin

Sintesis hemoglobin dimulai dalam proeritroblas, kemudian dilanjutkan pada stadium retikulosit. Secara kimiawi, pembentukan hemoglobin, terdiri dari 5 tahapan. Pertama, suksinil-KoA yang dibentuk dalam siklus krebs, berikatan dengan glisin untuk membentuk molekul pirol. Selanjutnya, 4 molekul pirol bergabung untuk

membentuk protorfirin IX yang kemudian bergabung dengan besi untuk membentuk molekul *heme*. Akhirnya, setiap molekul *heme* bergabung dengan rantai polipeptida panjang (globulin) yang disintesis oleh ribosom, membentuk suatu subunit hemoglobin yang disebut rantai hemoglobin. Tiap-tiap rantai tersebut mempunyai berat molekul kira-kira 16.000; empat dari molekul ini selanjutnya akan berikatan satu sama lain secara longgar untuk membentuk molekul hemoglobin yang lengkap (Guyton dan Hall, 1997).



Gambar: 2.6 Sintesis hemoglobin secara kimiawi (Guyton, 1997)

Karena setiap rantai mempunyai sekelompok prostetik heme, maka terdapat 4 atom besi dalam setiap molekul hemoglobin. Masing-masing dapat berikatan dengan 1 molekul oksigen, total membentuk 4 molekul oksigen atau 8 atom oksigen yang dapat diangkut oleh setiap molekul hemoglobin, hemoglobin A mempunyai berat molekul 64.458 (Guyton dan Hall, 1997).

2.2.6 Katabolisme Hemoglobin

Hemoglobin yang dilepaskan sewaktu sel-sel darah merah pecah, akan segera difagositosis oleh sel-sel makrofag di dalam tubuh, terutama di dalam hati (sel-sel

kupffer), limpha dan sum-sum tulang. Selanjutnya, selama beberapa jam atau beberapa hari sesudahnya, makrofak akan melepaskan besi yang didapat dari hemoglobin kembali ke dalam darah untuk diangkut oleh transferin menuju sumsum tulang. Selain itu juga, menuju ke hati dan jaringan-jaringan lainnya untuk disimpan dalam bentuk ferritin. Bagian porfirin, dari molekul hemoglobin akan diubah oleh sel-sel makrofag melalui serangkaian tahap-tahap, menjadi pigmen bilirubin yang akan dilepaskan ke dalam darah dan akhirnya akan disekresikan oleh hati masuk ke dalam empedu (Guyton dan Hall, 1997).

2.3 Tinjauan Tentang zat Besi

2.3.1 Definisi Zat besi

Nama lain dari zat besi adalah ferrum atau Fe. Zat besi (Fe) merupakan mikroelement yang esensial bagi tubuh. Zat ini terutama diperlukan dalam hemopobesis (pembentukan darah), yaitu dalam mensintesa hemoglobin (Hb) (Sediaoetama, 2006). Mikroelemen tersebut merupakan mineral yang terdapat di dalam darah dan dalam semua sel tubuh serta bertindak sebagai pembawa oksigen yang diperlukan sel dan karbon dioksida dari sel ke paru-paru (Harper, 2006).

2.3.2 Zat Besi Dalam Tubuh

Zat besi dalam tubuh manusia sebagian besar terdapat dalam sel darah merah (*eritrosit*) yaitu sekitar 65%, dalam jaringan hati, limpa dan sumsum tulang 30% dan sekitar 5% terdapat dalam inti sel, dalam plasma serta dalam otot sebagai mioglobin (Minarno dan Hariani, 2008).

Di dalam tubuh, sebagian besar Fe terdapat konjugasi, seperti (Hemoglobin, myoglobin, transferrin, ferritin dan hemosiderin) dengan protein dan terdapat dalam bentuk Ferro atau ferri. Bentuk aktif zat besi biasanya terdapat sebagai Ferro, sedangkan bentuk inaktif adalah sebagai Ferri (misalnya bentuk storage) (Sediaoetama, 2006).

Pada wanita subur, lebih banyak Fe terbuang dari badan dengan adanya menstruasi, sehingga kebutuhan akan Fe pada wanita dewasa lebih tinggi daripada laki-laki. Wanita hamil dan sedang menyusui juga memerlukan lebih banyak Fe dibandingkan dengan wanita biasa. Hal ini disebabkan bayi yang sedang dikandungnya juga memerlukan zat besi, sedangkan ASI mengandung Fe dalam bentuk lactotransferin (Sediaoetama, 2006).

2.3.3 Zat Besi Dalam Makanan

Berdasarkan jenis ketersediaan zat besi di dalam bahan makanan, dikenal dua jenis yaitu besi heme dan non heme. Zat besi heme berasal dari hemoglobin dan mioglobin yang hanya terdapat dalam makanan hewani (hati, daging, ikan segar, ikan asin, kerang-keranga, kepiting, susu dari hewani dan hasil olahannya). Zat besi heme tersebut mempunyai daya absorpsi yang sangat tinggi, walaupun mengandung zat besi yang sedikit tetapi banyak yang diabsorpsi oleh tubuh, yaitu sekitar 20-30 % (Patimah, 2007).

Besi non heme merupakan sumber utama zat besi dalam makanan dan terdapat dalam semua jenis sayuran hijau, seperti kentang, kacang-kacangan dan sebagian dalam makanan hewani (Wahyuni, 2004). Zat besi non heme dalam tubuh hanya diserap 1-2 %, sedangkan besi heme dua kali lipatnya. Namun, Haryanta

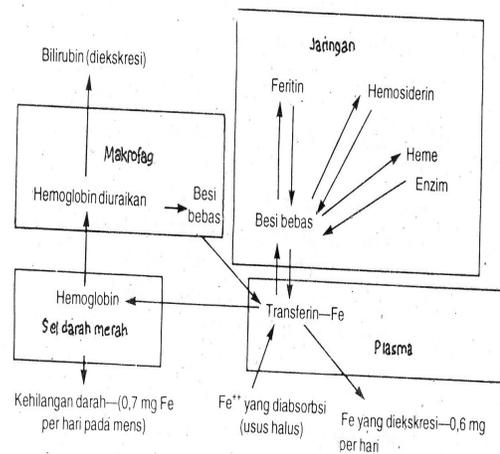
(2005) dalam Patimah (2007) menyatakan bahwa konsumsi makanan sumber non heme dengan suplementasi vitamin C dapat meningkatkan kadar hemoglobin secara bermakna.

2.3.4 Metabolisme Zat Besi

Ekskresi Fe dilakukan melalui kulit di dalam bagian-bagian tubuh yang aus dan dilepaskan oleh permukaan tubuh dengan jumlah yang sangat kecil, yaitu 1 mg dalam sehari semalam.

Jumlah total besi dalam tubuh rata-rata sekitar 4 g. Kira-kira 65% diantaranya dalam bentuk hemoglobin. Sekitar 4% terdapat dalam bentuk mioglobin, 1% dalam bentuk berbagai senyawa hem yang mengawasi oksidasi intrasel. Selain itu, 0,1 berikatan dengan protein transferin dalam plasma darah dan 15-30 % disimpan dalam hati dalam bentuk ferritin (Guyton, 1987).

Ketika besi diabsorpsi dari usus halus, besi tersebut segera bergabung dalam plasma darah berikatan dengan globulin, transferin dan ditransfor dalam bentuk ikatan di dalam plasma darah. Besi berikatan sangat lemah dengan molekul globulin, akibatnya dapat dilepaskan ke setiap jaringan dan pada setiap tempat di dalam tubuh (Guyton, 1987).



Gambar 32-7. Pengangkutan besi dan metabolisahnya.

Gambar : 2.7 Metabolisme zat besi di dalam tubuh (Guyton, 1987)

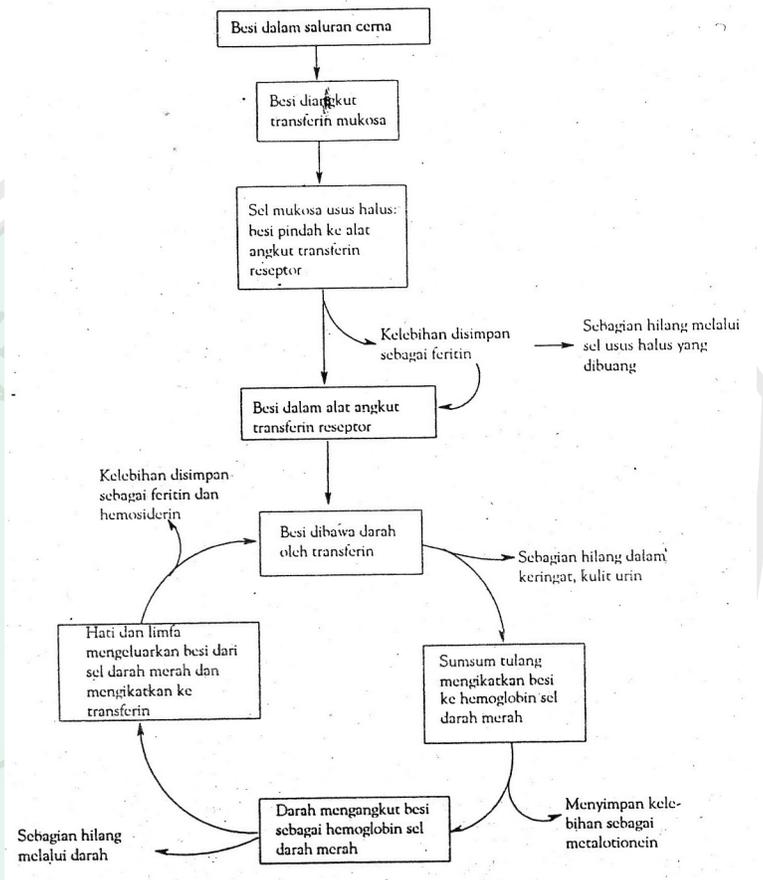
Kelebihan besi dalam darah, ditimbun dalam hati yang kemudian besi berikatan dengan apoferritin untuk membentuk ferritin. Bila jumlah besi dalam plasma turun, besi dikeluarkan dari ferritin dengan mudah, kemudian ditranspor ke bagian tubuh yang memerlukan. Kehilangan besi perhari sekitar 0,6 mg pada laki-laki dalam bentuk feses dan 1,3 mg pada wanita (Guyton, 1987).

Bila sel darah merah telah melampaui masa hidupnya dan hancur, maka hemoglobin yang dilepaskan dari sel akan dicerna oleh sel-sel dari sistem makrofag-monosit. Disini, terjadi pelepasan besi bebas yang kemudian disimpan ditempat penyimpanan ferritin dan digunakan lagi untuk membentuk hemoglobin baru (Guyton, 1997).

2.3.5 Penyerapan Zat Besi

Zat besi lebih mudah diserap dari usus halus dalam bentuk Ferro. Penyerapan ini mempunyai mekanisme autoregulasi yang diatur oleh kadar ferritin yang terdapat di dalam sel-sel mukosa usus. Pada kondisi Fe yang baik, hanya sekitar 10 % dari Fe

yang terdapat di dalam makanan diserap ke dalam mukosa usus, tetapi dalam kondisi defisiensi lebih, banyak Fe dapat diserap untuk menutupi kekurangan zat tersebut (Sediaoetama, 2006).



Gambar: 2.8 Skema perjalanan besi dalam tubuh (Almatsier, 2004)

Gambar tersebut menjelaskan, sebelum diabsorpsi, di dalam lambung besi dibebaskan terlebih dahulu dari ikatan organik, seperti protein. Sebagian besar besi dalam bentuk feri direduksi menjadi bentuk ferro. Hal ini terjadi dalam suasana asam di dalam lambung dengan adanya HCl dan vitamin C yang terdapat di dalam makanan (Almatsier, 2004).

Absorpsi terjadi di bagian atas usus halus (duodenum), sel mukosa yaitu transferin dan ferritin. Transferin merupakan protein yang disintesis dalam hati, terdapat dalam dua bentuk. Transferin mukosa mengangkut besi dari saluran cerna ke dalam sel mukosa dan memindahkannya ke transferin reseptor yang ada dalam sel mukosa. Transferin mukosa kemudian kembali ke rongga saluran cerna untuk mengikat besi lain, sedangkan transferin reseptor mengangkut besi melalui darah ke semua jaringan tubuh. Dua ion besi diikat pada transferin untuk dibawa ke jaringan-jaringan tubuh. Banyaknya reseptor transferin yang terdapat pada membran sel ini, bergantung pada kebutuhan tiap sel (Almatsier, 2004).

Agustriadi (2006) menambahkan, bahwa proses absorpsi besi dibagi menjadi tiga fase, yaitu:

1. Fase luminal, dimana besi pada makanan dilepas ikatannya karena pengaruh asam lambung dan direduksi dari feri menjadi fero yang siap diserap di duodenum.
2. Fase mukosal, merupakan suatu proses aktif yang sangat kompleks dan terkendali dimana sel absorptif pada puncak vili-vili usus feri dikonversi menjadi fero oleh enzim ferireduktase yang dimediasi oleh duodenal *cytochrome b-like* (DCYTB).
3. Fase korporeal, dimana besi yang sudah diserap enterosit dan melewati bagian basal epitel usus, memasuki kapiler usus lalu dalam darah diikat oleh apotransferin menjadi transferrin.

Absorpsi zat besi dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya bentuk besi, asam organik, asam fitat, asam oksalat, tanin, tingkat keasaman lambung, faktor intrinsik dan kebutuhan tubuh (Almatsier, 2004).

2.3.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Penyerapan Besi

Diperkirakan hanya 5-5% besi makanan diabsorpsi oleh orang dewasa yang berada dalam status baik. Dalam keadaan defisiensi besi, absorpsi dapat mencapai 50%. Banyak faktor yang berpengaruh, diantaranya:

1. Bentuk besi, besi hem yang merupakan bagian dari hemoglobin dan mioglobin dapat diserap dua kali lipat daripada non hem.
2. Asam organik, membantu penyerapan besi non hem dengan mengubah bentuk feri menjadi bentuk fero.
3. Asam fitat dan Asam oksalat, menghambat penyerapan besi.
4. Tanin, menghambat absorpsi besi dengan cara mengikatnya.
5. Tingkat keasaman lambung, meningkatkan daya larut besi.
6. Faktor intrinsik, di dalam lambung membantu penyerapan besi, diduga karena hem mempunyai struktur yang sama dengan vitamin b₁₂.
7. Kebutuhan tubuh, kebutuhan besi meningkat bila masa pertumbuhan.

Absorpsi besi non hem dapat meningkat sepuluh kali lipat, sedangkan besi hem dua kali lipat (Almatsier, 2004).

2.3.7 Kekurangan dan Kelebihan Zat Besi

Kekurangan zat besi dapat menimbulkan penyakit defisiensi yang disebut anemia gizi besi. Anemia adalah suatu keadaan dimana kadar hemoglobin (Hb) dalam darah kurang dari kadar normal (Minarno dan Hariani, 2008).

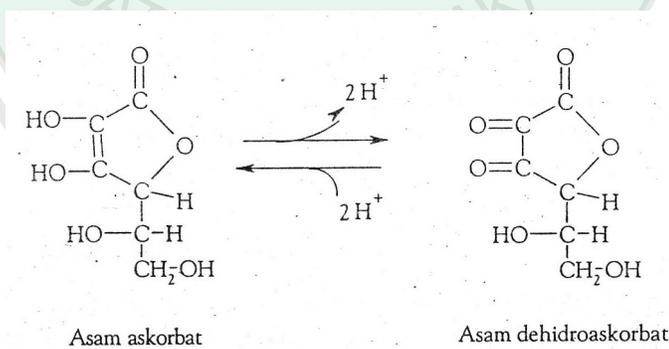
Kelebihan besi jarang terjadi karena makanan, tetapi dapat disebabkan oleh suplemen besi. Gejalanya adalah rasa nek, muntah, diare, denyut jantung meningkat, sakit kepala, mengigau dan pingsan (Almatsier, 2004).

2.4 Tinjauan Tentang Vitamin C

2.4.1 Definisi Vitamin C

Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat membantu dan menjaga kesehatan sel, meningkatkan penyerapan asupan zat besi dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh (Kumalaningsih, 2007).

Vitamin C merupakan kristal putih yang mudah larut di dalam air. Menurut susunan kimianya, vitamin C dapat digolongkan sebagai karbohidrat yang memiliki fungsi sebagai koenzim atau kofaktor di dalam tubuh (Harper, 2006). Dalam keadaan kering, vitamin C cukup stabil, tetapi dalam keadaan larut, dapat rusak karena bersentuhan dengan udara (oksidasi) terutama bila terkena panas. Vitamin C tidak stabil dalam larutan alkali, tetapi cukup stabil dalam larutan asam (Alamatsier, 2004).



Gambar : 2.9 Susunan kimia vitamin C (Alamatsier, 2004)

2.4.2 Metabolisme Vitamin C

Vitamin C mudah diabsorpsi secara aktif dan mungkin pula secara difusi pada bagian atas usus halus lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Rata-rata absorpsi adalah 90% untuk konsumsi diantara 20 dan 120 mg perhari. Konsumsi tinggi samapi 12 g (sebagai pil) hanya diabsorpsi sebanyak 16%. Vitamin C kemudian dibawa ke semua jaringan (Alamatsier, 2004).

Tubuh dapat menyimpan hingga 1500 mg vitamin C bila konsumsi mencapai 100 mg sehari. Konsumsi melebihi taraf kejenuhan berbagai jaringan dikeluarkan sebagai asam askorbat atau karbon dioksida melalui pernapasan. Walaupun tubuh mengandung sedikit vitamin C, sebagian tetap akan dikeluarkan (Almatsier, 2004).

Vitamin C dibutuhkan untuk mengkonversi asam folat untuk menjadi bentuk yang aktif, meningkatkan penyerapan zat besi dan membantu dalam membentuk jaringan penyambung (Patimah, 2007). Dalam proses respirasi, vitamin C mereduksi besi feri menjadi fero dalam usus halus sehingga mudah diabsorpsi (Minarno dan Hariani, 2008).

2.4.3 Kekurangan dan Kelebihan Vitamin C

Kekurangan vitamin C pada orang dewasa menyebabkan penyakit askorbut dengan salah satu gejalanya adalah anemia. Kelebihan vitamin C dalam tubuh dapat menimbulkan bahaya, yaitu sebagian asam askorbat dipecah menjadi asam oksalat. Hal ini dapat berpengaruh terhadap terbentuknya batu kalsium oksalat dalam ginjal maupun kandung ekrah (Minarno dan Hariani, 2008).

2.5 Tinjauan Tentang Anemia

2.5.1 Definisi Anemia

Anemia merupakan kondisi kurangnya sel darah merah (eritrosit) dalam darah seseorang. Anemia terjadi karena minimnya kadar hemoglobin yang berarti juga minimnya oksigen ke seluruh tubuh (Budiyanto, 2002).

Anemia berarti defisiensi sel darah merah yang dapat disebabkan kehilangan sel darah merah yang terlalu banyak atau pembentukan sel darah merah yang terlalu lambat (Guyton dan Hall, 1997). Selain itu, anemia ditandai dengan ukuran sel darah merah lebih kecil dari normal (mikrositosis) (Minarno dan Hariani, 2008).

2.5.2 Jenis-Jenis Anemia

Menurut Sherwood (2001), terdapat beberapa jenis anemia, diantaranya:

1. Anemia gizi (*nutritional anemia*), disebabkan oleh defisiensi dalam diet suatu faktor yang diperlukan untuk eritropoiesis.
2. Anemia pernisiiosa, disebabkan oleh ketidakmampuan saluran pencernaan menyerap vitamin B₁₂ dalam jumlah adekuat.
3. Anemia aplastik, disebabkan oleh kegagalan sumsum tulang untuk menghasilkan sel darah merah dalam jumlah yang adekuat, walaupun semua bahan untuk eritropoiesis tersedia.
4. Anemia ginjal, disebabkan oleh penyakit ginjal.
5. Anemia hemoragik, disebabkan oleh hilangnya darah dalam jumlah bermakna yang dapat bersifat akut atau kronik.
6. Anemia hemolitik, disebabkan oleh pecahnya eritrosit yang bersirkulasi dalam jumlah besar.

2.6. Tinjauan Tentang Rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

2.6.1 Klasifikasi

Menurut Van Steenes (2002), dalam Shalilah (2008), klasifikasi Rosela sebagai berikut:

Divisi Spermatophyta

Sub divisi Angiospermae

Kelas Dicotyledonae

Bangsa Malvales

Suku Malvaceae

Marga Hibiscus

Spesies *Hibiscus sabdariffa* L

2.6.2 Morfologi

Rosela merupakan herba tahunan yang bisa mencapai ketinggian 0,5-3 m. Batangnya bulat, tegak, berkayu dan berwarna merah. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cm dan lebarnya 5-8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau dengan panjang 4-7 cm (Maryani dan Kristiana, 2005).

Bunga rosela yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal. Bunga ini mempunyai 8-11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan dan berwarna merah. Kelopak bunga ini sering dianggap bunga oleh masyarakat (Maryani dan Kristiana, 2005).



Gambar: 2.10 Bunga Rosela (a. Herba, b. Mahkota, c. Kelopak, d. Tangkai Daun, e. Batang Utama, f. Daun) (Maryani dan Kristiana, 2005)

Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian, panjangnya 3-5 cm. Tangkai sari yang merupakan tempat melekatnya kumpulan benangsari berukuran pendek dan tebal, panjang dan lebarbya sekitar 5 mm. Putiknya berbentuk tabung, berwarna kuning atau merah (Maryani dan Kristiana, 2008).

Buahnya berbentuk kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang dan berwarna merah. Bentuk gigi menyerupai ginjal, berbulu dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Biji berwarna putih saat masih muda dan berwarna abu-abu setelah tua (Maryani dan Kristiana, 2005).

2.6.3 Kandungan Kimia dan Gizi

Menurut Departemen Kesehatan RI No SPP 1065/35.15/0,5, dalam Kustyawati dan Sulastri (2008) menjelaskan, setiap 100 g kelopak bunga Rosella mempunyai kandungan gizi sebagai berikut 1,145 g, lemak 2,61 g, serat 12 g, kalsium 1,263 g, fosfor 2,73 mg, zat besi 8,98 mg, malic acid 3,31 %, fruktosa 0,82 g, sukrosa 0,24 % karoten 0,029 %, tiamin 0,117 %, niasin 3,765 mg dan vitamin C 244,4 mg.

Setiap 100 gram kelopak bunga Rosella kering mengandung 260-280 mg vitamin C, vitamin D, B₁ dan B₂, kalsium 486 mg, omega 3, magnesium, beta karoten serta asam amino esensial seperti lysine dan arginin (Kustyawati dan Sulastris 2008).

Zat aktif yang paling berperan dalam kelopak bunga Rosella meliputi gossypetin, antosianin dan glukosida hibiscin. Antosianin merupakan pigmen alami yang memberi warna merah pada seduhan kelopak bunga Rosella dan mempunyai sifat antioksidan yang kuat (Kustyawati dan Sulastris 2008).

Teh kelopak bunga Rosella mengandung asam sitrat dan malat sehingga mempunyai rasa mild asam manis yang segar dengan warna yang natural dan menarik serta beberapa mineral (Maryani dan Kristiani, 2008).

2.6.4 Manfaat Rosela

Selain memiliki cita rasa segar, kelopak bunga Rosella memiliki efek farmakologis yang cukup lengkap, seperti diuretik, onthelmitik, antibakteri, antiseptic, antiradang, menurunkan panas, mencegah gangguan jantung, kanker darah dan menstimulasi gerak peristaltik usus (Kustyawati dan Sulastris 2008).

Kelopak bunga rosella mengandung zat warna antosianin dengan kadar yang relatif tinggi, sehingga kelopak bunga rosella mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber zat warna alami untuk bahan pangan (Retno dkk, 2008).

Aktifitas antioksidan rosela telah banyak dibuktikan oleh beberapa penelitian, diantaranya yaitu Farombie dan Ige (2007) yang membuktikan bahwa pemberian ekstrak kelopak bunga rosela dengan dosis 200 mg/kg secara oral pada tikus putih secara signifikan mampu menurunkan glukosa darah sampai 57 %. Agoreyo dkk (2007), ekstrak kelopak bunga Rosela dengan dosis 0,8 ml/kg dapat menurunkan

kadar kolestrol darah. Mojiminiyi, dkk (2007), ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 1-125 mg/kg yang diberikan melalui injeksi intra vena/suntik dapat menurunkan Hypertensi/anti hipertensi. Kirdpon *et al* (1994) dalam Orisakwe (2003) menambahkan, bahwa jus rosela antara 16-24 g pada manusia, mampu meningkatkan kadar serum dalam darah.

Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh Rosela juga bersifat protektif terhadap organ reproduksi akibat induksi bahan toksik. Pemberian ekstrak kelopak Rosela secara oral mampu menurunkan abnormalitas spermatozoa, meningkatkan motilitas spermatozoa, mengontrol kadar MDA pada testis, meningkatkan aktivitas GSH, SOD dan katalase serta mampu mengurangi kerusakan histologi testis dan gangguan proses spermatogenesis pada tikus putih akibat induksi *cisplatin* (Amin dan Hamza, 2006).

2.7 Peran, Metabolisme Fe dan vitamin C dalam Pembentukan Eritrosit dan Kadar Hemoglobin (Hb).

Zat besi merupakan komponen yang sangat penting dari hemoglobin. Hemoglobin merupakan alat transportasi bagi oksigen. Oksigen yang diisap oleh paru-paru akan bersenyawa dengan hemoglobin menjadi HbO₂ yang kemudian disalurkan oleh darah ke seluruh tubuh, dimana oksigen dilepaskan ke jaringan-jaringan yang memerlukan (Minarno dan Hariani, 2008).

Zat besi berfungsi juga dalam proses oksidasi reduksi dalam sel yang berhubungan dengan pembentukan energi. Dalam hal ini, zat besi merupakan

kofaktor dari beberapa enzim yang terlibat dalam metabolisme energi (Minarno dan Hariani, 2008).

Kebutuhan akan besi meningkat selama masa pertumbuhan. Jika tidak terdapat cukup besi untuk memenuhi kebutuhan tubuh, maka jumlah hemoglobin dalam sel darah merah berkurang dan volume sel darah merah (*eritrosit*) juga menurun. Hal ini disebabkan hemoglobin untuk mengisi sel berkurang. Keadaan seperti ini, dikenal sebagai anemia (kurang darah) defisiensi besi (Suhardjo dkk, 2006).

Zat besi dalam makanan dapat berbentuk heme yang berikatan dengan protein dan terdapat dalam bahan makanan yang berasal dari hewani. Lebih dari 35% hem ini dapat diabsorpsi langsung. Bentuk lain adalah non heme yaitu senyawa besi anorganik yang kompleks terdapat dalam bahan makanan nabati yang hanya dapat diabsorpsi 5 %. Zat besi nonhem absorpsinya dapat ditingkatkan apabila terdapat kadar vitamin C yang cukup. Vitamin C ini, dapat meningkatkan absorpsi besi non heme sampai empat sampai lima kali lipat (Mulyawati, 2003).

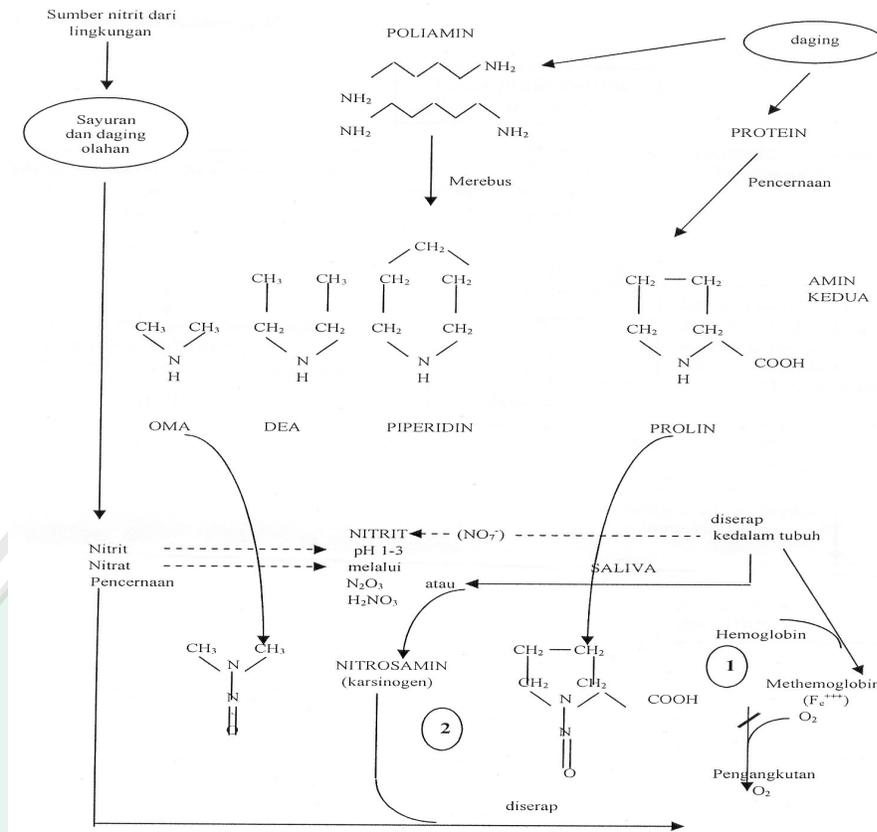
2.8 Natrium Nitrit (NaNO_2)

Senyawa nitrit (NaNO_2) merupakan zat pengawet anorganik yang umumnya digunakan dalam proses *curing* daging untuk memperoleh warna yang baik dan mencegah pertumbuhan mikroba. Mekanismenya belum diketahui, tetapi diduga nitrit bereaksi dengan gugus sulfhidril dan membentuk senyawa yang tidak dapat dimetabolisasi oleh mikroba dalam keadaan anaerob. Dalam daging, nitrit akan membentuk nitroksida, dengan pigmen daging akan membentuk nitrosomioglobin

yang berwarna merah cerah. Penggunaan natrium nitrit sebagai bahan pengawet ternyata membahayakan bagi kesehatan. Nitrit dapat berikatan dengan amino atau amida membentuk turunan nitrosamin yang bersifat toksit (Winarno (2002) dalam Sudirman (2007)).

Nitrat dan nitrit adalah komponen yang mengandung nitrogen berikatan dengan atom oksigen. Nitrat mengikat tiga atom oksigen sedangkan nitrit mengikat dua atom oksigen. Di alam, nitrat sudah diubah menjadi bentuk nitrit atau bentuk lainnya. Struktur kimia dari nitrit dengan berat molekul 62.05 adalah $O=N-O$ berat molekul 46.006 Natrium nitrit merupakan obat yang paling sering digunakan untuk keracunan sianida. Dosis awal standart adalah 3% larutan natrium nitrit 10 ml, memerlukan waktu kira-kira 12 menit untuk membentuk kira-kira 40% methemoglobin (Tintus, 2008).

Ion nitrit yang terbentuk ini diabsorpsi ke dalam darah dan masuk ke dalam eritrosit, kemudian mengoksidasi ion Fe^{2+} (*ferro*) dalam hemoglobin (Hb) dan mengubahnya menjadi ion Fe^{3+} (*ferri*) sehingga terjadi pembentukan methemoglobin. Methemoglobin ini tidak sanggup lagi sebagai pembawa oksigen ke jaringan-jaringan, sehingga terjadi kekosongan oksigen dalam darah (hipoksia) dan kemungkinan terjadi defisiensi oksigen dalam jaringan tersebut. Keadaan hipoksia ini terjadi biasanya apabila kadar methemoglobin mencapai 20-30% dari Hb normal (Yuningsih, 2000).



Gambar : 2.11 Metabolisme Nitrit (Tintus, 2008)

Dosis letal dari nitrat pada orang dewasa adalah sekitar 4 sampai 30 g (atau sekitar 40 sampai 300 mg NO₃-/kg). Dosis antara 2 sampai 9 gram NO₃- dapat mengakibatkan methemoglobinemia. Nilai ini setara dengan 33 to 150 mg NO₃-/kg. Dosis letal dari nitrit pada orang dewasa bervariasi antara 0.7 dan 6 g NO₂- (atau sekitar 10 sampai 100 mg NO₂-/kg).⁴ Natrium nitrit memiliki LD₅₀ untuk oral rat atau pemberian pada tikus, secara oral sebesar 250 mg/kg (Muchtadi, 1989).

2.9 Biologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Menurut Smith *et al* (1987) dalam Agustina (2007), tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan percobaan di laboratorium yang biasa disebut tikus putih. Hewan ini dapat berkembang biak secara cepat dan dalam jumlah yang cukup besar (Sri Utami dalam Riskana, 1999). Tikus termasuk hewan pengerat (rodensia) yang cepat berbiak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta anatomi dan fisiologisnya terkaterisasi dengan baik (Smith *et al* 1987 dalam Agustina 2007).

Tikus dewasa membutuhkan makanan setiap harinya sekitar 12g dengan berat badan antara 200-400 g. Diantara factor yang perlu diperhatikan dalam memberikan makanan kepada tikus yaitu kualitas bahan pangan, terutama daya cerna yang palatabilitas. Hal ini dikarenakan kualitas makanan akan berpengaruh terhadap kondisi tikus secara keseluruhan. Diantaranya, kemampuannya untuk tumbuh, berbiak ataupun perlakuan terhadap pengobatan (Budyanto (2003) dalam Sudirman (2007)).

Sulaksono (2002) dalam sebuah penelitiannya memaparkan, bahwa nilai hematologi tikus jantan adalah: eritrosit (juta/ μ l) = 6,85-8,53 (7,81), leukosit (μ l) = 7,475-11,700 (9.577,50), hemoglobin (g/dl) = 12,48-14,63 (13,85), trombosit (μ l) = 561,750-948.000 (779,225). Sedangkan tikus betina adalah: eritrosit (juta/ μ l) = 6,72-7,76 (6.75), leukosit (μ l) = 5,300-10,280 (7,492), hemoglobin (g/ μ l) = 12,48-14,58 (12,62) dan trombosit (μ l)= 317,400-860,800 (597,890).

Kusumawati (2004), menyatakan bahwa jumlah eritrosit (RBC) pada tikus adalah 5,00-12,00 ($10^6/\text{mm}^3$) dengan kadar hemoglobin 11,1-18,0 g/dl darah.

Schalmaeta (1975), dalam Shalilah (2008) juga menambahkan bahwa jumlah eritrosit seperti dilaporkan oleh berbagai peneliti, berkisar antara $5,5 - 10 \times 10^6$ sel/ μm . Jumlah eritrosit meningkat sekitar $8,5 \pm 0.5$ juta pada tikus jantan dan $7,5 \pm 0.5$ juta pada tikus betina saat berumur 6 bulan atau lebih. Feldman *et al.* (2000) dalam Shalilah (2008) juga menambahkan bahwa eritrosit tikus berupa cakram bikonkaf dengan diameter rata-rata (5,7-7 μm). Sel darah tikus mencapai tingkat kematangan pada umur sekitar 4 bulan dan jumlahnya pada tikus betina lebih rendah daripada tikus jantan.

Menurut Jasin (1986) klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Sub kingdom Metazoa

Pylum Chordata

Sub phylum Vertebrata

Super class Tetrapoda

Classis Mammalia

Sub classis Theria

Infra classis Eutheria

Ordo Rodentia

Famili Muridae

Genus Rattus

Spesies *Rattus norvegicus*.

2.10 Makanan Yang Baik Dalam Perspektif Islam

Manusia sebagai salah satu makhluk hidup ciptaan Allah SWT selalu membutuhkan bahan pangan untuk kelangsungan hidupnya. Bahan pangan ini bersumber dari tumbuhan dan hewan. Sebagaimana disebutkan dalam al-Quran surat an-Nahl ayat 14 berikut:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ



Artinya: dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur.

Bahan pangan yang dimaksud mengandung sejumlah komponen (zat makanan) yang digolongkan menjadi enam kelompok, yaitu karbohidrat, lemak, protein, vitamin, mineral dan air. Jumlah dan susunan zat makanan ini tidak sama untuk setiap bahan pangan, tergantung pada jenis maupun keadaan bahan pangan seperti spesies, varietas, umur, kondisi pemeliharaan dan lain sebagainya (Minarno dan Hariani, 2008).

Di dalam tubuh, makanan mengalami proses pengolahan yang meliputi proses pencernaan, penyerapan dan metabolisme. Zat makanan ini diperlukan oleh tubuh sebagai sumber energi, mengatur proses metabolisme dan memperbaiki atau mengganti sel jaringan tubuh yang telah tua. Apabila kebutuhan zat makanan ini tidak terpenuhi dalam jangka waktu beberapa lama, maka akan timbul sindroma atau

gejala-gejala penyakit yang disebabkan oleh defisiensi zat makanan tertentu (Almatsier, 2004). Misalnya, Anemia Gizi Besi (AGB) atau dikenal oleh masyarakat sebagai penyakit kurang darah . Sebaliknya apabila kelebihan zat makanan tertentu, maka akan timbul gejala toksitas atau keracunan yang dapat menimbulkan penyakit (Azwar, 2002).

Di dalam agama Islam, kita diajarkan untuk makan makanan yang bukan saja halal, namun juga baik untuk kesehatan tubuh (*halalan thayyiban*). Sebagaimana firman Allah dalam surat al-Maidah ayat 88:

﴿ وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِء مُؤْمِنُونَ ﴾

Artinya: dan makanlah makanan yang *halal lagi baik* dari apa yang Allah telah rezekikan kepadamu, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya.

Ayat tersebut mengajak seluruh manusia untuk makan apa yang terhampar di bumi tetapi yang halal lagi baik. Tetapi tidak semua yang terhampar di bumi otomatis halal dimakan atau digunakan, karena bukan semua yang diciptakan-Nya untuk dimakan manusia, walau semua diciptakan untuk kepentingan manusia. Allah mencitakan ular berbisa bukan untuk dimakan oleh manusia, tetapi antara lain bisanya digunakan sebagai obat. Disisi lain tidak semua makanan halal otomatis baik karena yang dinamai halal terdiri dari empat macam, yaitu wajib, sunnah, mubah dan makruh. Hal itulah yang menjadi sebab sehingga konteks halal dalam makanan seringkali disertai dengan kata *thayyiba* (Shihab dalam Almishbah, 2009).

Kata *thayyib* menurut bahasa berarti lezat, baik, sehat, tenteram dan paling utama. Ini berarti yang *thayyib* adalah yang tidak kotor atau rusak dari segi dzatnya,

(kadaluarsa) tidak juga bercampur dengan najis atau yang mengundang selera yang hendak memakan dan tidak membahayakan fisik, akal dan jiwanya (Shihab dalam Majalah Alif, 2009).

Persyaratan makanan yang baik (*thayyib*) menurut ilmu gizi ialah yang dapat memenuhi fungsi-fungsi tubuh, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Semakin banyak fungsi yang dapat dipenuhi oleh suatu bahan pangan, semakin baik sifatnya. Dari sudut agama Islam ada beberapa jenis makanan dan bahan makanan yang jelas-jelas haram yang tidak boleh dimakan. Sesungguhnya larangan terhadap beberapa bahan makanan tersebut adalah salah satu bentuk kasih sayang Allah SWT kepada makhluk hidup ciptaannya, agar sehat baik jasmani maupun rohani (Minarno dan Hariani, 2008).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan enam kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah kontrol negatif (tanpa ekstrak Rosela) dan kontrol positif (pemberian ekstrak Rosela dengan dosis yang berbeda, yaitu 0,18 g/ekor/hari, 0,36 g/ekor/hari dan 0,72 g/ekor/hari).

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas : Pemberian ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang berbeda.
- b. Variabel Terikat : Variabel yang diukur adalah jumlah eritrosit dan kadar Hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)
- c. Variabel Kendali : Hewan coba jenis tikus putih

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli-Agustus 2009 di Laboratorium Biokimia dan Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim (UIN MALIKI) Malang.

3.4 Populasi dan Sampel

Hewan uji yang dipakai adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis kelamin betina, umur 5 bulan, dengan berat badan rata-rata 226 g dan belum pernah bunting yang diperoleh dari Laboratorium Molekuler Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Rosela yang dipakai dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Materia Medica Batu-Malang.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang hewan coba, timbangan analitik, sarung tangan plastik, papan seksi, jarum gavage, tabung reaksi, kertas saring halus, beaker glass 100 ml, gelas ukur 10 ml, tabung Erlenmeyer 500 ml, pipet hemoglobin, spektrophotometer, kuvet, blender, gunting, sangkup rangkap, eppendorf untuk menampung darah, Haemositometer, Mikropipet ukuran 20-1000 μ l, kapas, spidol marker merah, hitam dan biru.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) sejumlah 24 ekor, bahan makanan tikus berupa pellet, reagen Hemolysin (terbuat dari larutan Kalium ferrocyanida [$K_3Fe(CN)_6$] 0,6% mmol/l dan larutan Cyanida (KCN) 1,0 mmol/l) (Supriasa, 2002), ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis 0,18 g/ekor/hari, 0,36 g/ekor/hari dan 0,72g/ekor/hari, betadin, natrium nitrit ($NaNO_2$), alkohol 70%, aquades dan bahan minuman mencit berupa air ledeng.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, hewan uji diadaptasikan selama satu minggu dalam kandang pada suhu kamar (20-25 °C) (Santoso, 2006) .

3.6.2 Persiapan Perlakuan

1. Setiap hewan coba, diberi kode 1,2,3,4, 5 dan 6 untuk memudahkan identifikasi.
2. Reagen hemolysin disiapkan untuk menganalisis kadar Hemoglobin.
3. Ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) disiapkan

3.6.2.1 Penghitungan Dosis Rosela

Penentuan dosis Rosela dalam penelitian ini berdasarkan hasil konversi dosis maksimal yang digunakan oleh manusia ke tikus, mengikuti tabel konversi perhitungan dosis antar jenis hewan menurut cara Laurence dan Bacharach (1964) dalam Ngatijan 1991 (Santoso, 2006).

Penelitian Arellano (2004) menyatakan, bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela dalam 10 gram kelopak kering dengan penambahan air 0,51 liter menunjukkan hasil penurunan tekanan darah secara signifikan. Angka konversi dosis dari manusia 70 kg ke tikus 200 g = 0,018, sehingga diperoleh tiga dosis berdasarkan konversi deret hitung, yaitu 0,18 g/ekor/hari, 0,36 g/ekor/hari dan 0,72g/ekor/hari.

3.6.2.2 Pembuatan Ekstrak Rosela

Ekstrak Rosella diperoleh dengan cara metode maserasi dengan menggunakan air sebagai bahan pelarutnya. Sebelumnya, simplisia/kelopak Rosela kering ditumbuk halus, kemudian masing-masing dosis (0,18g/ekor/hari, 0,36 g/ekor/hari dan 0,72

g/ekor/hari) dilarutkan dalam 9,18 ml aquades. Setelah itu, masing-masing larutan disaring menggunakan kertas saring kasar sebagai langkah awal, kemudian disaring menggunakan kertas saring halus. Hasil saringan tersebut merupakan ekstrak dari Rosela.

3.6.2.3 Pembagian Kelompok Sampel

Setelah 24 ekor tikus putih betina diaklimatisasi selama 1 minggu, tikus dibagi dalam empat kelompok secara acak, masing-masing kelompok sebanyak enam ekor.

- a. Kelompok I : Kontrol, diberi aquades selama 14 hari
- b. Kelompok II : Diberi ekstrak Rosela dengan dosis 0,18 g/ekor dalam 9,18 ml aquades selama 14 hari.
- c. Kelompok III : Diberi ekstrak Rosela dengan dosis 0,36 g/ekor dalam 9,18 ml aquades selama 14 hari.
- d. Kelompok IV : Diberi ekstrak Rosela dengan dosis 0,72 g/ekor dalam 9,18 ml aquades selama 14 hari.

3.6.2.4 Penentuan Dosis Natrium Nitrit

Menurut Muchtadi (1989), LD₅₀ rata-rata dari Natrium Nitrit secara oral pada tikus adalah 250 mg/kg berat badan. Pada penelitian ini, berat badan tikus 200 g, sehingga LD₅₀ untuk setiap ekor adalah :

$$\begin{aligned}LD_{50} &= \frac{X \text{ mg}}{200\text{g}} \times \frac{250\text{mg}}{100\text{g}} \\ &= \frac{200\text{g}}{1000} \times 250\end{aligned}$$

$$= 50 \text{ mg/ekor}$$

LD₅₀ efektif untuk membuat Anemia pada tikus sebanyak :

$$= \frac{1}{2} \times \text{LD}_{50}$$

$$= \frac{1}{2} \times 50 \text{ mg}$$

$$= 25 \text{ mg/ekor}$$

Jadi, dosis yang digunakan pada setiap ekor yaitu 25 mg yang dilarutkan dalam 1 ml aquades.

3.6.3 Kegiatan penelitian

3.6.3.1 Pengambilan Sampel Darah Tikus

Pengambilan Sampel darah tikus (Kusumawati, 2004), yaitu dengan cara:

1. Tikus dikeluarkan dari kandang dengan cara setengah bagian dari ekornya diangkat, kemudian tikus dimasukkan ke sungkup rangkap.
2. Bagian ekor tikus diolesi air hangat selama kurang lebih 2 menit, kemudian diolesi alkohol 70%.
3. Darah dari ekor tikus dikeluarkan secara perlahan-lahan dengan menggunakan syringe pada bagian vena, kemudian darah duhisap menggunakan mikropipet.
4. Darah yang keluar pertama kali dibuang, kemudian darah ditampung dalam eppendorf sampai mencukupi.
5. Darah dihisap dengan menggunakan mikropipet sampai dengan angka 0,2 μ l, kemudian sebelah luar pipet dibersihkan dengan kapas.

6. Pipet yang berisi darah tersebut, dimasukkan dalam tabung sampai ujung pipet menempel pada dasar tabung, kemudian tip ditekan sampai seluruh cairan bercampur.
7. Ekor tikus diolesi dengan betadin agar tidak terinfeksi.
8. Tikus dikembalikan lagi ke kandang.

3.6.3.2 Penghitungan Jumlah Eritrosit

1. Darah dari ekor tikus dikeluarkan secara perlahan-lahan dengan menekan pangkal ekor, kemudian diurut sampai ke ujung ekor.
2. Darah dihisap pipet thoma sampai angka 0,5 atau 1,0
3. Larutan pengencer hayem dihisap dengan pipet thoma sampai angka 101.
Terjadi pengenceran 1/200 atau 1/100
4. Kedua ujung pipet ditutup menggunakan ibu jari dan jari tengah, pengocokan dilakukan dengan cara bolak-balik
5. 1-2 tetes cairan dalam pipet thoma dikeluarkan dan dibuang, kemudian pada tetesan selanjutnya ujung pipet mikro ditempelkan pada salah satu sisi bilik hitung yang telah diberi gelas penutup dan kertas tissue pada sisi lainnya.
6. Cairan dalam pipet thoma akan mengalir memenuhi bilik hitung dan selanjutnya bilik hitung diletakkan di bawah mikroskop.
7. Eritrosit yang ada di dalam 5 bilik hitung R dihitung. Perhitungan dimulai dari sebelah kiri secara zigzag. Untuk menghindari perhitungan yang kurang tepat, eritrosit yang ada di garis batas sebelah kiri dan atas suatu bilik kecil dihitung sebagai eritrosit yang ada dalam bilik kecil tersebut.

8. Jumlah eritrosit sesungguhnya dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

Panjang sisi 1 bilik R = 0,2mm

Dalamnya bilik hitung = 0,1mm

Pengenceran darah (p) = 100 atau 200

Jumlah eritrosit dari 5 bilik hitung = N

Volume dari 5 bilik hitung = $V\text{mm}^3$

Jumlah eritrosit per $\text{mm}^3 = N p/V$ (S) (Gandasoebrata, 2007).

3.6.3.3 Penentuan Kadar Hemoglobin

Perlakuan kadar hemoglobin ini dilakukan secara spektrophotometri pada panjang gelombang 540 nm (Gandasoebrata, 2007), yaitu dengan cara sebagai berikut:

1. Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 5 ml larutan drabkin.
2. Darah diambil sebanyak 20 μl dengan menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi 5ml larutan Drabkin.
3. Sampel yang ada pada tabung reaksi dipindahkan pada cuvet.
4. Panjang gelombang ditetapkan pada 540 nm.
5. Larutan standar (Drabkin) dimasukkan pada spektrofotometer sebagai blanko, kemudian skala diatur hingga penuh (*full scale*) dan absorbansi 0.
6. Sampel dimasukkan, dilihat absorbansinya pada layar spectrophotometer, kemudian dimasukkan dalam rumus berikut ini:

Kadar Hb = Absorbansi x 36,8 g/dl.

3.6.3.4 Perlakuan Pathologis (Anemia)

Perlakuan pathologis (anemia), yaitu dengan pemberian Natrium Nitrit (NaNO_2) sebanyak 1ml/ekor/hari pada perlakuan II, III dan IV selama 18 Hari (Endreswari, 2000).

3.6.3.5 Perlakuan Pemberian Ekstrak Rosela

Perlakuan diberikan selama 10 hari, yaitu setelah tikus berhasil dibuat anemia. Perlakuan dilakukan secara oral dengan menggunakan spuit injeksi 3 ml yang ujungnya dilengkapi kanul.

3.7 Data dan Teknik Pengambilan Data

Data dalam penelitian ini berupa jumlah eritrosit dan kadar Hemoglobin dalam darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*). Data diperoleh dengan cara menghitung jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan, kemudian data yang diperoleh dimasukkan dalam tabel berikut:

Tabel: 3.7.1 Penentuan jumlah eritrosit dalam darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebelum dan sesudah perlakuan

Dosis (g/ekor/hari)	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)					
	X1	Y1	X2	Y2	X3	Y3
Kontrol						
0,18						
0,36						
0,72						

Keterangan:

X= Jumlah eritrosit sebelum perlakuan

Y= Jumlah eritrosit sesudah perlakuan

Tabel: 3.7.2 Kadar Hemoglobin dalam darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) sebelum dan sesudah perlakuan

Dosis (g/ekor/hari)	Kadar Hemoglobin (Hb) Mencit (g/dl)					
	X1	Y1	X2	Y2	X3	Y3
Kontrol						
0,18						
0,36						
0,72						

Keterangan:

X= Kadar Hemoglobin sebelum perlakuan

Y= Kadar Hemoglobin sesudah perlakuan

3.8 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin Tikus putih (*Rattus norvegicus*), dianalisis dengan kovarian (ANKOVA) 1 faktor. Apabila dengan analisis kovarian menunjukkan hasil yang berbeda nyata atau sangat nyata, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata (BNT) taraf signifikansi 5%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan perlakuan NaNO₂ dan ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang berbeda, dapat diuraikan sebagai berikut:

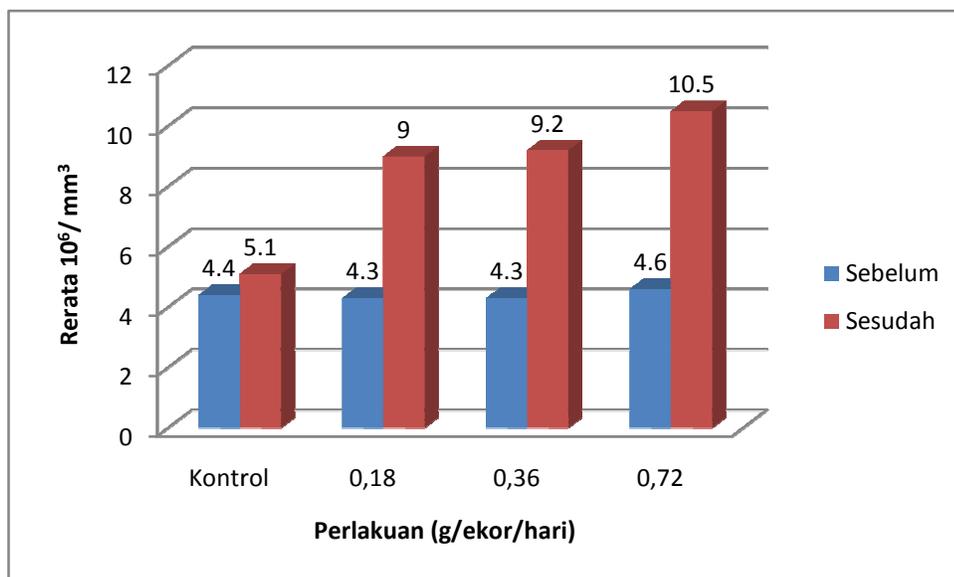
4.1. Jumlah Eritrosit Darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Berdasarkan tabel pada lampiran 4.5, diketahui bahwa hasil perhitungan jumlah eritrosit tahap deplesi (sesudah diberi NaNO₂ selama 18 hari dan sebelum diberi ekstrak kelopak rosela) $106,7 \times 10^6 / \text{mm}^3$ - $206,3 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel.

Tabel rerata jumlah eritrosit tikus putih anemia setelah diberi ekstrak kelopak Rosela selama 14 hari tertinggi dengan dosis 0,72 g/ekor/hari, yakni sebesar $10,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel, sedangkan terendah dengan dosis 0,18g/ekor/hari, yakni sebesar $9,0 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel. Sehingga kisaran rerata jumlah eritrosit darah tikus putih setelah diberi ekstrak kelopak Rosela, yakni antara $9,0 \times 10^6 / \text{mm}^3$ - $10,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel.

Kisaran rerata jumlah eritrosit setelah diberi ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) selama 14 hari yaitu kontrol sebanyak $5,6 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel, dosis 0,18 g/ekor/hari adalah $9,0 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel, dosis 0,32g/ekor/hari adalah $9,2 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel dan dosis 0,72g/ekor/hari adalah $10,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$ sel.

Kisaran rerata jumlah eritrosit sebelum dan sesudah diberi ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat dilihat pada diagram berikut:



4.1.1 Digram Rata-Rata Jumlah Eritrosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Sebelum Dan Sesudah Perlakuan

Data yang diperoleh, selanjutnya diuji dengan Analisis Kovarian (ANKOVA) yang dilakukan untuk mengoreksi atau membandingkan pengaruh sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap peningkatan jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. Hasil ANKOVA dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) memberikan hasil yang signifikan dalam meningkatkan jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. Tabel berikut adalah ringkasan hasil perhitungan ANKOVA:

4.1.2 Tabel Ringkasan Hasil Perhitungan ANKOVA Jumlah Eritrosit Tikus Putih

SK	Perlakuan	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	$78,21 \times 10^6$	$26,07 \times 10^6$	11,04	3,34
Galat	14	$33,1 \times 10^6$	$2,36 \times 10^6$		

Dari tabel ringkasan ANKOVA tersebut, dapat diketahui bahwa F hitung >F tabel pada taraf signifikansi 5%. Dengan demikian, hipotesis nol (H_0) ditolak dan Hipotesis 1 (H_1) diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat meningkatkan jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan dan dosis yang efektif dari setiap perlakuan, maka perlu dilakukan Uji Lanjut dengan menggunakan uji BNT pada taraf signifikansi 5% seperti yang terdapat pada lampiran 5.

Berdasarkan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata jumlah eritrosit terkoreksi, maka didapatkan notasi BNT pada tabel berikut:

4.1.3 Tabel Ringkasan Uji BNT Terhadap Jumlah Eritrosit Tikus Putih

Perlakuan	Rerata ($10^6/\text{mm}^3$)	Notasi BNT 5%
Kontrol (g/ekor/hari)	4,92	a
0,18	8,32	b
0,36	8,52	c
0,72	9,82	d

Berdasarkan hasil uji BNT (tabel 4.1.3) tersebut, menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata pada peningkatan jumlah eritrosit tikus putih yang mengalami anemia. Perlakuan ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,18 g/ekor/hari berbeda nyata dengan dosis 0,36 g/ekor/hari dan 0,72 g/ekor/hari serta kontrol. Perlakuan ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,36 g/ekor/hari berbeda nyata dengan dosis

0,72 g/ekor/hari dan kontrol. Begitu juga dengan perlakuan dosis 0,72 g/ekor/hari berbeda nyata dengan kontrol.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap peningkatan jumlah eritrosit, sebelum diberi perlakuan tikus putih dikondisikan anemia, yaitu dengan memberikan Natrium Nitrit (NaNO_2) selama 18 hari secara oral. Yuningsih (2000) menyatakan bahwa Natrium Nitrit (NaNO_2) yang merupakan kontaminan pada air minum, jika tertelan dan masuk ke dalam tubuh akan mempengaruhi proses pengangkutan oksigen oleh hemoglobin. Nitrit akan merubah besi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} sehingga proses pengangkutan oksigen akan terganggu dan bahkan tidak berfungsi lagi. Dengan demikian, hemoglobin tidak dapat melakukan tugasnya dengan baik. Jika hal ini terjadi secara terus-menerus, akan menyebabkan anemia.

Montgomery, et al (1993) dalam Sudirman (2007) juga menambahkan bahwa fungsi fisiologis utama hemoglobin adalah transport reversible oksigen dari paru-paru ke jaringan perifer dalam bentuk oksihemoglobin. Selama proses pengangkutan oksigen valensi dari besi dalam heme tetap tidak berubah. Jika karena suatu hal, valensi besi heme berubah dari fero menjadi feri hasil oksidasi yang terjadi dikenal sebagai methemoglobin, yang tidak dapat berfungsi sebagai alat pengangkut oksigen.

Methemoglobin merupakan hematin-globin yang mengandung Fe^{3+} -OH. Methemoglobin tidak dapat mengangkut oksigen untuk pernafasan. Pada metabolisme hemoglobin normal, diedarkan atau diautooksidasi dan reduksi melalui methemoglobin, walaupun kurang dari 1%. Gejala-gejala sianosis timbul bila 15 % hemoglobin (2,5 g/l) dan anoksia jika lebih dari 30% hemoglobin terdapat sebagai

methemoglobin. Methemoglobin disebabkan oleh sejumlah obat-obatan, terutama fenasetin atau sulfonamide; oleh nitrit yang dihasilkan di dalam usus dari nitrat yang berlebihan, biasanya digunakan sebagai pengawet (Montgomery, *et al* 1993; Riswan 2007).

Setelah diberi NaNO_2 , terbukti jumlah eritrosit turun dari jumlah normal seperti yang tertera pada tabel 4.1 dan 4.2 pada lampiran 4. Dosis 0,18 g/ekor/hari dari $8,0 \times 10^6/\text{mm}^3$ turun menjadi $4,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel, dosis 0,36 g/ekor/hari dari $7,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $4,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel dan dosis 0,72 g/ekor/hari dari $8,7 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $4,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel, sedangkan kontrol dari $9,5 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $4,4 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel. Kisaran rerata setiap perlakuan sebelum dan sesudah diberi NaNO_3 yaitu dari $33,5 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $17,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel. Hal ini sesuai dengan Kusumawati (2004) yang menyatakan bahwa jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) normal antara 5,00-12,00 ($10^6/\text{mm}^3$). Jika kurang dari jumlah tersebut, dikatakan anemia.

Hasil penelitian membuktikan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah eritrosit. Terdapat perbedaan yang nyata antara masing-masing dosis dengan kontrol. Perlakuan pertama yaitu dengan dosis 0,18 g/ekor/hari dari $4,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ meningkat menjadi $9,0 \times 10^6/\text{mm}^3$, dosis 0,36 g/ekor/hari dari $4,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $9,2 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel dan dosis 0,72 g/ekor/hari dari $4,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $10,5 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel. Sedangkan kontrol dari $4,4 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $5,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel. Total rerata jumlah eritrosit tikus putih sebelum diberi ekstrak rosella (setelah diberi NaNO_3) dan sesudah diberi ekstrak rosella dari $17,6 \times 10^6/\text{mm}^3$ menjadi $34,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ sel.

Hal ini terjadi karena kandungan Fe dan vitamin C yang tinggi pada kelopak rosela. Muchtadi (2008) menyatakan bahwa zat besi mempunyai peranan penting dalam tubuh, yaitu membawa oksigen dan karbon dioksida untuk pembentukan darah. Harper (2006) juga menambahkan bahwa jika tidak terdapat cukup besi untuk memenuhi kebutuhan tubuh, maka jumlah hemoglobin dalam sel darah merah berkurang dan keadaan tidak sehat timbul yang dikenal sebagai anemia (kurang darah).

Zat besi dalam tubuh terutama terdapat dalam haemoglobin, hanya sebagian kecil terdapat dalam enzim-enzim jaringan yaitu dalam setiap sel hidup dan penting untuk pernafasan sel (Laurentia Mihardja, 1994; Agung, 2003).

Dipertegas oleh Husaini (1997) bahwa jumlah zat besi di dalam badan manusia yang mempunyai berat badan 70 kg adalah 3,5 g, 70% di antaranya dalam bentuk haemoglobin. Senyawa zat besi lainnya dalam persentase yang sangat kecil umumnya berada di dalam jaringan badan. Senyawa-senyawa tersebut antara lain myoglobin jumlahnya kurang lebih 4 %, dan senyawa-senyawa besi sebagai enzim oksidatif seperti cytochromes, dan flavoprotein. Walaupun jumlahnya sangat kecil tetapi mempunyai peranan sangat penting. Myoglobin ikut dalam transportasi oksigen menerobos sel-sel membrane masuk ke dalam sel-sel otot. *Cytochrome*, *flavoprotein*, dan senyawasenyawa mitochondria yang mengandung zat besi lainnya, memegang peranan penting dalam proses oksidasi menghasilkan ATP (Agung, 2003).

Muchtadi (2008) menambahkan, bahwa alam proses metabolismenya, Fe mempunyai peranan yang sangat penting dalam pembentukan sel darah merah. Setelah diserap oleh usus, Fe diangkut oleh darah dan didistribusikan ke seluruh

jaringan tubuh dalam keadaan terikat pada protein transferrin. Fe tersebut digunakan untuk sintesis enzim-enzim pernafasan (*respiratory enzymes*) ke dalam jaringan. Sedangkan Fe dalam plasma darah, digunakan untuk produksi hemoglobin dan sel darah merah dalam tulang, hati dan limfa.

Deddy Muchtadi dalam Agung (2003) menambahkan juga, bahwa Fe berfungsi dalam pembentukan sel darah merah. Hemoglobin(Hb) merupakan komponen esensial sel-sel darah merah (eritrosit). Eritrosit dibentuk dalam sumsum tulang. Bila jumlah sel darah merah berkurang, hormon *eritpoietin* yang diproduksi oleh ginjal, akan menstimulir pembentukan sel darah merah. Karena sel darah merah tidak mengandung inti sel (nucleus), maka sel tersebut tidak dapat mensintesis enzim untuk kelangsungan hidupnya. Kehidupan sel darah merah hanya sepanjang masih terdapatnya enzim yang masih berfungsi (untuk membawa O₂ dan CO₂), dan biasanya hanya sekitar 4 bulan. Kecepatan penghancuran sel darah merah akan meningkat bila tubuh kekurangan vitamin C, vitamin E atau vitamin B12 (yang membantu pembentukan sel-sel darah merah). Karena kehidupan eritrosit hanya berlangsung sekitar 120 hari, maka 1/120 sel eritrosit harus diganti setiap hari, yang memerlukan sekitar 20 mg zat besi (Fe) per hari. Karena tidak mungkin menyerap Fe dari makanan sebanyak itu per hari, maka konversi Fe dalam tubuh sangat penting dilakukan.

Defisiensi besi biasanya terjadi dalam beberapa tingkat sebelum menjadi anemia. Pertama adalah keadaan cadangan zat besi dalam hati menurun, tetapi belum sampai penyediaan zat besi untuk pembentukan sel-sel darah merah terganggu. Tahap kedua adalah terjadi defisiensi penyediaan zat besi untuk eritropoiesis, yaitu

suatu keadaan di mana penyediaan zat besi tidak cukup untuk pembentukan sel-sel darah merah, tetapi kadar haemoglobin (Hb) belum lagi terpengaruh. Tahap ketiga adalah terjadi penurunan kadar Hb, yang disebut anemia (Agung, 2003).

Peningkatan jumlah eritrosit tikus putih anemia pada kontrol (namun tidak mengembalikan pada kondisi normal), disebabkan oleh adanya asupan makanan dan berupa pellet yang dimakan selama 14 hari.

Pada orang yang mengalami defisiensi besi, penyerapan meningkat menjadi 33 % untuk Fe heme dan sekitar 20 % untuk Fe non heme. Diketahui bahwa bentuk Fe tereduksi (ferro) lebih mudah diserap dibandingkan bentuk Fe teroksidasi (ferri). Hal ini terjadi karena di dalam plasma, Fe^{2+} dioksidasi menjadi Fe^{3+} dan berikatan dengan transferin. Transferin mengangkut Fe^{2+} ke dalam sum-sum tulang untuk bergabung membentuk hemoglobin. Besi dalam plasma ada dalam keseimbangan (Wahyuni, 2004).

Pengubahan Fe dari bentuk ferri menjadi ferro terjadi di dalam lambung, yaitu dengan bantuan HCL. Rendahnya asam klorida pada lambung (kondisi basa) dapat menurunkan penyerapan asam klorida akan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Adanya vitamin C gugus SH (sulfidril) dan asam amino sulfur dapat meningkatkan absorbs karena dapat mereduksi besi dari bentuk ferri menjadi ferro. Vitamin C dapat meningkatkan absorbs besi dari makanan melalui pembentukan kompleks ferro askorbat (Wahyuni, 2004).

Zat gizi yang telah dikenal luas sangat berperan dalam meningkatkan absorpsi zat besi adalah vitamin C, yaitu meningkatkan absorbs zat besi bukan non heme sampai empat kali lipat. Vitamin C dengan zat besi membentuk senyawa askorbat

besi kompleks yang larut dan mudah diabsorpsi. Oleh karena itu, sayuran –sayuran segar dan buah-buahan yang mengandung vitamin C baik dimakan untuk mencegah anemia kurang besi (Rasmaliah, 2004).

Kandungan Fe dan vitamin C yang tinggi pada kelopak bunga Rosela ternyata mampu meningkatkan jumlah eritrosit tikus putih pada kondisi normal setelah mengalami anemia defisiensi besi akibat perlakuan pathologis oleh NaNO_3 .

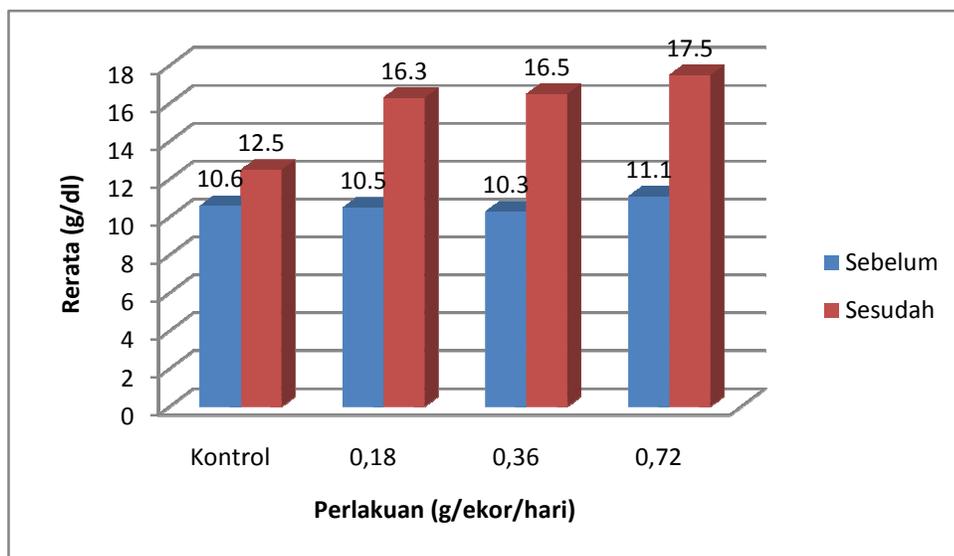
4.2 Kadar Hemoglobin (Hb) dalam darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Tabel kadar Hemoglobin pada lampiran 5.5, diketahui bahwa hasil perhitungan kadar Hb tahap deplesi (sesudah diberi NaNO_2 selama 18 hari dan sebelum diberi ekstrak kelopak rosela) antara 42,5 g/dl – 62,8 g/dl.

Tabel rerata kadar Hb tikus putih anemia setelah diberi ekstrak kelopak Rosela selama 14 hari tertinggi dengan dosis 0,72 g/ekor/hari, yakni sebesar 17,5 g/dl, sedangkan terendah dengan dosis 0,18 g/ekor/hari, yakni sebesar 16,3 g/dl. Sehingga kisaran rerata kadar Hb darah tikus putih setelah diberi ekstrak kelopak Rosela, yakni antara 16,3 g/dl -17,5 g/dl.

Kisaran rerata kadar Hb tikus putih anemia setelah diberi ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) selama 14 hari yaitu kontrol sebanyak 12,5 g/dl, dosis 0,18 g/ekor/hari adalah 16,3 g/dl, dosis 0,32 g/ekor/hari adalah 16,5 g/dl dan dosis 0,72 g/ekor/hari adalah 17,5 g/dl.

Kisaran rerata kadar Hb sebelum dan sesudah diberi ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat dilihat pada diagram berikut:



4.2.1 Digram Rata-Rata Kadar Hb Tikus Putih Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Data yang diperoleh, selanjutnya diuji dengan Analisis Kovarian (ANKOVA) yang dilakukan untuk mengoreksi atau membandingkan pengaruh sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap peningkatan kadar Hb tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. Hasil ANKOVA dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) memberikan hasil yang signifikan dalam meningkatkan kadar Hb tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. Tabel berikut adalah ringkasan hasil perhitungan ANKOVA:

4.2.2 Tabel Ringkasan Hasil Perhitungan ANKOVA Kadar Hb Tikus Putih

SK	Perlakuan	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	3	84,39	28,13	23,24	3,34
Galat	14	17,05	1,21		

Dari tabel ringkasan ANKOVA tersebut, dapat diketahui bahwa F hitung >F tabel pada taraf signifikansi 5%. Dengan demikian, hipotesis nol (H_0) ditolak dan Hipotesis 1 (H_1) diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat meningkatkan kadar Hb tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan dan dosis yang efektif dari setiap perlakuan, maka perlu dilakukan Uji Lanjut dengan menggunakan uji BNT pada taraf signifikansi 5% seperti yang terdapat pada lampiran.

Berdasarkan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar Hb terkoreksi, maka didapatkan notasi BNT pada tabel berikut:

4.2.3 Tabel ringkasan uji BNT kadar Hb tikus putih

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
Kontrol	12,53	a
0,18	16,38	b*
0,36	16,68	b*
0,72	17,28	b*

Keterangan: * notasi yang sama pada kolom, menyatakan adanya pengaruh yang sama.

Berdasarkan hasil uji BNT (tabel 4.2.3) tersebut, menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata antara kontrol dengan perlakuan pada masing-masing dosis pada peningkatan kadar Hb tikus putih yang mengalami anemia.

Perlakuan pada masing-masing dosis tidak memberikan perbedaan yang nyata, namun berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini berarti ada pengaruh yang sama dalam meningkatkan kadar Hb pada nilai normal, antara dosis 0,18g/ekor/hari dengan dosis 0,36g/ekor/hari dan 0,72 g/ekor/hari. Hal ini disebabkan menurut Kusumawati (2004), kadar Hb tikus normal antara 11,1-18,00 g/dl darah. Jika kurang dari nilai tersebut dikatakan anemia dan jika kelebihan akan merusak jaringan dan organ tikus serta system kekebalan menurun, sehingga mudah terinfeksi.

Dalam penelitian, pengukuran kadar Hb pada tikus putih dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu sebelum perlakuan anemia (kondisi normal), setelah mengalami anemia dan setelah mendapatkan perlakuan ekstrak kelopak Rosela dengan tiga macam dosis yang berbeda.

Metode yang digunakan untuk menghitung kadar hemoglobin dalam penelitian ini menggunakan *cyantmethemoglobin*. Hal ini terjadi karena kadar hemoglobin dan hematokrit merupakan metode yang banyak digunakan untuk menentukan ada tidaknya anemia dan defisiensi zat besi.

Widman (1989) menambahkan bahwa untuk mengukur kadar hemoglobin dengan panjang 540 pada spektrofotometer, eritrosit harus dihancurkan sehingga hemoglobin akan terlepas. Setiap bentuk molekul hemoglobin (oksihemoglobin, deoksihemoglobin, methemoglobin, karboksi hemoglobin) harus diubah menjadi suatu bentuk yang stabil.

Sebelum perlakuan, rata-rata kadar Hb tikus putih normal sebagaimana yang terdapat pada lampiran 6.5 6.6 pada lampiran 6. Setelah mendapatkan perlakuan patologis selama 18 hari, kadar Hb tikus putih berhasil diturunkan dari nilai normal.

Kontrol dari 16,1 g/dl turun menjadi 10,6 g/dl darah, dosis 0,18 g/ekor/hari dari 14,5 g/dl menjadi 10,5, dosis 0,32 g/ekor/hari dari 13,5g/dl menjadi 10,3 g/dl darah dan dosis 0,72 g/ekor/hari dari 15,0 g/dl menjadi 11,0 g/dl darah. Setelah mendapatkan perlakuan (diberi ekstrak Rosela) dari beberapa dosis, kadar Hb berhasil ditingkatkan, sebagaimana terlampir pada lampiran 6.3 pada lampiran 6 dengan total rerata kadar Hb sebelum diberi ekstrak Rosela (setelah anemia) dengan sesudah diberi ekstrak Rosela yaitu 42,5 g/dl menjadi 62,8 g/dl darah. Ekstrak Rosela dengan kandungan Fe dan vitamin C yang tinggi, tidak hanya meningkatkan jumlah eritrosit saja, namun kadar hemoglobin juga.

Piliang dan Al-Haj (2006). menyatakan bahwa hemoglobin merupakan pigmen merah pembawa oksigen yang terdapat di dalam sel darah merah. Sedangkan besi dalam darah berada dalam bentuk hemoglobin yang terdapat di dalam butir-butir darah merah (*erythrocyte*) dalam bentuk tranferin di dalam plasma darah dan dalam bentuk ferritin.

Patimah (2007) dalam Lee (1994) juga menambahkan bahwa sebagian zat besi terikat hemoglobin yang berfungsi khusus mengangkut oksigen, untuk keperluan metabolisme dalam jaringan. Proses metabolisme zat besi digunakan untuk biosintesa hemoglobin, dimana zat besi digunakan secara terus – menerus. Sebagian besar zat besi yang bebas dalam tubuh akan digunakan kembali, dan hanya sebagian kecil saja yang dieksresikan melalui air kemih, feses dan keringat. Sekitar 96% dari molekul hemoglobin ini adalah globulin dan sisanya berupa heme, yang merupakan suatu kompleks persenyawaan persenyawaan protoporfirin yang mengandung Fe ditengahnya.

Keberadaan/peran vitamin C menurut Nasoetion dan Karyadi (1987) yaitu mengatur penyerapan besi dan ketersediaannya di dalam usus sebanyak empat kali lipat atau lebih oleh masuknya 25-75 asam askorbat secara bersamaan dengan Fe. Vitamin C mudah diabsorpsi secara aktif dan mungkin pula secara difusi pada bagian atas usus halus lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta. Rata-rata absorpsi adalah 90% untuk konsumsi diantara 20 dan 120 mg perhari. Konsumsi tinggi samapi 12 g (sebagai pil) hanya diabsorpsi sebanyak 16%. Vitamin C kemudian dibawa ke semua jaringan (Alamatsier, 2004).

Eritrosit mengangkut hemoglobin, sedangkan hemoglobin mengangkut oksigen. Banyaknya oksigen yang diterima oleh jaringan bergantung kepada kadar dan fungsi hemoglobin yang tersedia (Widman, 1989). Guyton dan Hall (1997) menambahkan bahwa sel-sel darah merah mampu mengkonsentrasikan hemoglobin dalam cairan sel sampai sekitar 34 g/dl sel. Konsentrasi ini tidak pernah meningkat melebihi nilai tersebut. Hal ini terjadi karena merupakan batas metabolik dari mekanisme pembentukan hemoglobin sel.

Pada orang normal, persentase hemoglobin hampir selalu mendekati maksimum dalam setiap sel. Namun, bila pembentukan hemoglobin dalam sum-sum tulang berkurang, maka persentase hemoglobin dalam sel dapat turun sampai di bawah nilai normal dan volume sel darah merah juga menurun, karena hemoglobin untuk mengisi sel berkurang (Guyton dan Hall, 1997).

Besi merupakan unsur fital untuk pembentukan hemoglobin, juga merupakan komponen penting pada sistem enzim pemafoan seperti sitokrom-oksidadase, katalase

dan peroksidase. Fungsi utama zat besi adalah untuk mengantarkan oksigen ke dalam jaringan-jaringan tubuh (Fungsi hemoglobin) dan berperan pada mekanisme oksidase seluler (Fungsi sistem sitokro) (Riswan, 2003).

Di dalam tubuh, zat besi mempunyai fungsi yang berhubungan dengan pengangkutan, penyimpanan dan pemanfaatan oksigen yang berada dalam bentuk *hemoglobyn, myoglobin dan cytochrom*. Untuk memenuhi guna pembentukan hemoglobin, sebagian besar zat besi yang berasal dari pemecahan sel darah akan dimanfaatkan kembali. Apabila dalam pembentukan hemoglobin mengalami kekurangan, maka besi harus dipenuhi dan diperoleh melalui makanan (Rasmaliah, 2004).

Kekurangan zat besi menyebabkan kadar haemoglobin di dalam darah lebih rendah dari normalnya, keadaan ini disebut anemia, 99 % dari anemia disebabkan oleh kekurangan zat besi. Selain itu, hal itu akan menurunkan kekebalan tubuh sehingga sangat peka terhadap serangan bibit penyakit (Muchtadi, 2008).

Menurut Deddy Muchtadi (2001) zat besi merupakan komponen haemoglobin yang berfungsi mengangkut oksigen di darah ke sel-sel yang membutuhkannya untuk metabolisme glukosa, lemak, dan protein menjadi energi (ATP). Besi juga merupakan bagian dari mioglobin yaitu molekul yang mirip haemoglobin yang terdapat di sel-sel otot, yang juga berfungsi mengangkut oksigen. Mioglobin yang berkaitan dengan oksigen inilah membuat daging menjadi merah. Di samping sebagai komponen haemoglobin dan mioglobin, besi juga merupakan komponen dari enzim oksidasi, yaitu *sitokrom oksidasi, xanthine oksidase, suksinat dehidrogenase, katalase, dan peroksidase* (Agung, 2003).

Fungsi utama zat besi bagi tubuh adalah membawa (sebagai *carrier*), oksigen dan karbondioksida, serta untuk pembentukan darah (haemoglobin). Fungsi lainnya antara lain sebagai bagian dari enzim, untuk produksi antibodi dan untuk penghilangan (detoksifikasi) zat racun di dalam hati. Lebih jauh, disebutkan oleh Deddy Muchtadi (2001) dalam Agung (2003) sebagai berikut:

a. Pengangkutan (*carrier*) O₂ dan CO₂

Zat besi yang terdapat dalam haemoglobin (pigmen darah merah) dan mioglobin (pigmen daging) berfungsi untuk mengangkut O₂ dan CO₂, sehingga secara tidak langsung zat besi sangat esensial untuk metabolisme energi.

b. Pembentukan Sel Darah Merah

Hemoglobin(Hb) merupakan komponen esensial sel-sel darah merah (eritrosit). Eritrosit dibentuk dalam sumsum tulang. Bila jumlah sel darah merah berkurang, hormone *eritropoietin* yang diproduksi oleh ginjal, akan menstimulir pembentukan sel darah merah. Karena sel darah merah tidak mengandung inti sel (nucleus), maka sel tersebut tidak dapat mensintesis enzim untuk kelangsungan hidupnya. Kehidupan sel darah merah hanya sepanjang masih terdapatnya enzim yang masih berfungsi (untuk membawa O₂ dan CO₂), dan biasanya hanya sekitar 4 bulan. Kecepatan penghancuran sel darah merah akan meningkat bila tubuh kekurangan vitamin C, vitamin E atau vitamin B12 (yang membantu pembentukan sel-sel darah merah). Karena kehidupan eritrosit hanya berlangsung sekitar 120 hari, maka 1/120 sel eritrosit harus diganti setiap hari, yang memerlukan sekitar 20 mg zat besi (Fe) per hari. Karena tidak mungkin menyerap Fe dari makanan sebanyak itu per hari, maka konversi Fe dalam tubuh sangat penting dilakukan.

c. Fungsi Lain

Sebagian kecil Fe terdapat dalam enzim jaringan. Bila terjadi defisiensi zat besi, enzim ini berkurang jumlahnya sebelum Hb menurun. Zat besi diperlukan sebagai katalis dalam konversi betakaroten menjadi vitamin A, dalam reaksi sintesis purin (sebagai bagian integral asam nukleat dalam RNA atau DNA) dan dalam reaksi sintesis kolagen. Selain itu, zat besi diperlukan dalam proses penghilangan (detoksifikasi) zat racun dalam hati. Orang yang mengalami defisiensi zat besi lebih sulit memerangi infeksi bakteri, karena produksi antibodi terhambat.

Keseimbangan zat besi di dalam tubuh perlu dipertahankan, yaitu jumlah zat besi yang dikeluarkan dari tubuh sama dengan jumlah zat besi yang diperoleh tubuh dari makanan. Bila zat besi dari makanan tidak mencukupi, maka dalam waktu lama akan mengakibatkan anemia. Diketahui bahwa sel-sel darah merah berumur 120 hari, jadi sesudah 120 hari sel-sel darah merah mati dan diganti dengan yang baru. Proses ini dikenal juga dengan *turn over* (Rasmaliah, 2004).

Hemoglobin dalam eritrosit (SDM) berfungsi sebagai pengangkut oksigen, yang merupakan konyugasi dari 2 pasang rantai globin dengan berat molekul 64500. Sekitar 96 % dari molekul hemoglobin ini adalah globulin dan sisanya berupa heme, yang merupakan suatu kompleks persenyawaan protoporfirin yang mengandung Fe ditengahnya. Protoporfirin adalah suatu tetrapirrol dimana ke 4 cincin pirol ini diikat oleh 4 gugusan metan hingga terbentuk suatu rantai protoporfirin (Riswan, 2003).

Hb merupakan komponen essensial sel-sel darah merah. Eritrosit dibentuk dalam tulang. Bila jumlah sel darah merah berkurang, hormone eritropoietin yang diproduksi oleh ginjal akan menstimulir pembentukan sel darah merah. Pada waktu

sel menjadi dewasa, disintesis heme (protein yang mengandung besi) dari glisin dan Fe. Pada waktu yang sama, disintesis juga protein globin heme tersebut digabungkan dengan globin membentuk hemoglobin yang mengandung sel darah muda (Muchtadi, 2008).

4.3 Efektifitas Rosela Dalam Pandangan Islam.

Rosela merupakan tanaman Herba yang diketahui banyak manfaatnya, salah satu diantaranya karena kandungan vitamin C dan Fe yang tinggi, ia mampu meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar Hb dalam darah tikus putih anemia. Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan metode Jacob indometri, diketahui bahwa dalam 100 g kelopak Rosela terdapat 236 mg vitamin C dan dengan menggunakan metode vogel spektrofotometri, terdapat 264 mg Fe.

Vitamin C dan Fe merupakan sumber essensial penting dalam tubuh. Vitamin C dibutuhkan untuk meningkatkan penyerapan zat besi. Sedangkan Fe berikatan dengan hemoglobin untuk membawa oksigen keseluruh tubuh. Pada anemia defisiensi besi, kadar hemoglobin total turun di bawah nilai normal. Hal ini juga berpengaruh terhadap jumlah eritrosit yang berada dalam darah (Guyton dan Hall, 1997).

Dalam penelitian ini, tikus putih yang diberi ekstrak Rosela dengan dosis 0,18g/ekor/hari, 0,32 g/ekor/hari dan 0,72 g/ekor/hari selama 14 hari terbukti dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar Hb dalam darah tikus putih. Jumlah eritrosit dan kadar Hb yang kurang dari ukuran normal dalam darah merupakan parameter dalam mendeteksi penyakit anemia. Peningkatan jumlah eritrosit dan kadar Hb pada

tikus putih, karena perlakuan dari ekstrak rosela membuktikan bahwa rosella dapat digunakan sebagai obat dalam menanggulangi/mengatasi penyakit anemia, yang nantinya dapat diimplementasikan terhadap manusia. Fisiologis seperti ini telah disebutkan dalam dalam sebuah hadist berikut:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ. فَإِذَا أُصِيبُ دَوَاءُ الدَّاءِ بُرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: *Setiap penyakit pasti ada obatnya. Jikalau obat sudah bereaksi dengan suatu penyakit, maka penyakit tersebut pasti akan sembuh dengan seizin Allah (HR. Muslim).*

Hal ini juga didukung oleh sebuah hadist yang diriwayatkan oleh HR. Bukhari dan Muslim yang artinya sebagai berikut:

Apabila kamu mendengar suatu berita tentang wabah penyakit yang telah melanda di suatu negeri, janganlah kamu memasuki negeri tersebut. Dan apabila kamu sedang berada dalam negeri yang sedang dilanda wabah, janganlah kamu keluar dari negeri tersebut (HR. Bukhari dan Muslim).

Larangan untuk memasuki ataupun keluar dari tempat yang sedang dilanda wabah penyakit tersebut, sesungguhnya merupakan tindakan preventif/perintah agar kita tidak menghindar dari suatu penyakit, namun harus menghadapinya sehingga penyakit tersebut dapat dilokalisir dan segera diatasi (diobati) yang menderita atau menjadi korban pun dapat berkurang jumlahnya (Prabawati, 2007) .

Dalam pandangan Islam, Rosela dikategorikan sebagai makanan yang baik, karena terbukti dapat memberikan manfaat bagi manusia. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al-Maidah ayat 87:

يَتَأْتِيهَا الَّذِينَ ءَامَنُوا لَا تَحْرِمُوا طَيِّبَاتِ مَا أَحَلَّ اللَّهُ لَكُمْ وَلَا تَعْتَدُوا ۗ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ

الْمُعْتَدِينَ ﴿٨٨﴾

Artinya: Hai orang-orang yang beriman, janganlah kamu haramkan apa-apa yang baik yang telah Allah halalkan bagi kamu, dan janganlah kamu melampaui batas. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang melampaui batas.

Keterangan lebih lanjut juga ditambahkan pada surat al-Maidah ayat 88 berikut:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا ۗ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِء مُؤْمِنُونَ ﴿٨٨﴾

Artinya: dan makanlah makanan yang halal lagi baik dari apa yang Allah telah rezekikan kepadamu, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya.

Ayat bergaris bawah لَا تَحْرِمُوا طَيِّبَاتِ tersebut mengandung arti dilarang mengharamkan hal-hal atau sesuatu yang baik, sedangkan حَلَالًا طَيِّبًا, mengandung arti (makanan) halal lagi baik .

Dalam hal ini, suatu yang baik bagi tubuh adalah Fe dan vitamin C yang merupakan sumber esensial penting dalam tubuh yang terdapat dalam makanan. Masing-masing sumber esensial tersebut akan saling melengkapi untuk terpenuhinya kecukupan sumber zat tenaga, zat pembangun dan gizi bagi manusia. Keberadaan vitamin C pada tubuh, dapat meningkatkan penyerapan zat besi (Fe) dalam tubuh. Tanpa vitamin C, Fe sulit dicerna oleh tubuh. Tidak mungkin masing-masing unsur dapat berfungsi secara sempurna kecuali bila dalam makanan terdapat unsur-unsur lain secara berimbang (Mahran dan Mubasyir, 2006).

Menurut Qardhawi (1976), bahwa asal sesuatu yang diciptakan Allah adalah *halal* dan *mubah*. Tidak ada satupun yang haram, kecuali karena ada nas yang sah

dan tegas dari syari' yang menghararkannya. Hal ini telah dijelaskan dalam Al-Quran surat al-Baqarah ayat 29 dan al-Jatsiat ayat 13:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ
سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

Artinya: *Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu (al- Baqarah ayat 29).*

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

Artinya: *dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir (al – Jatsiat ayat 13).*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah tidak akan membuat segala-galanya ini yang diserahkan kepada manusia dan dikaruniakannya, kemudian dia sendiri mengharamkannya. Maka buat apa Dia mengaruniakan hal ini semua kepada manusia? (Qardhawi, 1976).

Menurut Yaqub (2009) menyatakan bahwa makanan dan minuman dikatakan halal manakala memiliki kriteria sebagai berikut:

1. *Thayyib* dan *Khabits*

Kata *Thayyib* diambil dari derivasi *thaba-yathibu-thayyib-thayyibah*; sesuatu yang baik maka disebut *thayib*. Kata ini memiliki banyak makna, diantaranya: *zaka wa thahara* (suci dan bersih), *jada wa hsunaa* (baik dan elok) *ladzda* (enak) dan

menjadi halal. Jadi, *Thayyib* adalah sesuatu yang dirasakan enak oleh indra atau jiwa atau segala sesuatu selain yang menyakitkan dan menjijikkan.

2. Tidak Menimbulkan *Dhahar* (Bahaya)

Bahaya disini dapat dikategorikan menjadi beberapa macam, diantaranya berdasarkan tempatnya (bahaya pada agama, jiwa, keturunan, harta dan akal), materi yang dikandungnya (bahaya yang cepat dan lambat), kekuatan sebagian orang dalam menjalaninya (mutlak dan nisbi) dan berdasarkan sifatnya (indrawi dan maknawi).

3. Tidak *Najasah* (Najis)

Najis merupakan salah satu kriteria haram untuk makanan dan minuman. Najis yang tidak dapat dihindari dinilai *ma'fu* (diampuni). Karenanya, ia tidak menghalangi sahnya salat dan boleh dikonsumsi dalam makanan dengan syarat harus menyatu dengan makanan tersebut.

4. Tidak *Iskar* (Memabukkan)

Iskar adalah salah satu kriteria yang menentukan keharaman, baik yang terdapat pada minuman-minuman yang bersifat cairan seperti khamar dan *nabidz* yang memabukkan, atau pada benda-benda yang padat seperti narkoba dan zat aktif lainnya. Setiap yang memabukkan, apapun jenisnya, cair atau padat, mentah atau matang, berasal dari perasan anggur atau bahan lainnya, adalah haram hukumnya.

5. Bukan Organ Tubuh Manusia

Keharaman mengonsumsi organ tubuh manusia ini, dijelaskan dalam al-Quran surat al-Isra' ayat 70 berikut:

﴿..... وَلَقَدْ كَرَّمْنَا بَنِي آدَمَ﴾

Artinya: dan Sesungguhnya telah Kami muliakan anak-anak Adam.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah memuliakan manusia. Memuliakannya dalam bentuk tidak boleh dimakan dan tidak boleh dijadikan sebagai bahan obat, kecantikan, penguat stamina dalam hubungan seksual dan lain sebagainya.

Berdasarkan beberapa kriteria tersebut, dapat disimpulkan bahwa Rosela merupakan makanan atau minuman yang halal untuk dikonsumsi. Selama Rosela bermanfaat baik bagi tubuh, tidak berbahaya, tidak bercampur dengan najis dan tidak memabukkan, maka Rosela halal untuk dikonsumsi.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan teori, dapat disimpulkan, bahwa

1. Ada Pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia.
2. Pemberian dosis yang optimal adalah 0,72 g/ekor/hari, kemudian diikuti oleh dosis 0,36 g/ekor/hari dan 0,18g/ekor/hari.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan, yaitu dengan menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dan tikus putih betina hamil.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggabungkan Fe dan vitamin C yang terdapat pada Rosela dengan tumbuhan lain yang mengandung Fe tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoreyo, FO. Agoreyo, BO. Onuorah, MN. 2008. Effect of aqueous extracts of Hibiscus sabdariffa and Zingiber Officinale on blood cholesterol and glucose levels of rats. *Department of physiology, School of Basic Medical Sciences. University of Benin, Nigeria*. Diakses Tanggal 29 April 2009.
- Agung, Igusti Ayu Ari. 2003. Pengaruh Perbaikan Gizi Kesehatan Terhadap Produktifitas Kerja. *Jurnal Penelitian*. Universitas Hindu Indonesia.
- Agustriadi, Omy dan Suega, Ketut. 2006. Hepcidin On Anemia Of Chronic Disease. *Tinjauan Pustaka. Denpasar: Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unud/RSUP Sanglah*. Diakses tanggal 3 Mei 2009.
- Agustina, Erna. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Bayam Merah (Amaranthus Janjeticus L.) Terhadap Kadar Hemoglobin Dalam Darah Mencit (Mus musculus L.). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Al-Mahalli, Imam Jalaluddin dan Imam Jalaluddin As-Suyuti. 2003. *Tafsir Jalalain 2*. Bandung: Sinar baru Algensindo.
- Almatsier, Sunita. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka.
- Arellano, A Herrera. Romero, S Flores. Soto, Chave. Tortoreallo, J. 2004. Effectiveness And Tolerability Of A Standardized Extract From Hibiscus sabdariffa In Patients With Mild To Moderate Hypertension: A Controlled And Randomized Clinical Trial. *Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)*. Argentina 1 Xochitepec, 62790 Morelos, Mexico. Diakses Tanggal 29 April 2009.
- Asmamik, 2005. Pengaruh Vitamin C Terhadap Leukosit Mencit (Mus musculus). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Azwar, Azrul. 2002. *Pesan Dasar Gizi Seimbang*. Jakarta: Bina Kesehatan Masyarakat.
- Budiyanto, Agus Krisno. 2002. *Gizi dan Kesehatan*. Malang: UM PRESS.
- BH, Ali,. 2005. Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspects of Hibiscus sabdariffa L. *Jurnal Penelitian*. Saudi Arabia: Department of Veterinary Medicine, Al-Gaseem University. Diakses Tanggal 29 April 2009.
- Campbell, Neil A. 2004. *Biologi Edisi Ke-V*. Jakarta: Erlangga.

- Endreswari, Sri. 2000. Penelitian Toksisitas Akut Natrium Nitrit Pada Hewan Uji Tikus. *Jurnal penelitian*. Puslitbang farmasi, Badan Litbang Kesehatan. Diakses Tanggal 25 April 2009.
- Farombi, E O dan Ige O O. 2007. Hypolipidemic and antioxidant effects of ethanolic extract from dried calyx of Hibiscus sabdariffa in alloxan-induced diabetic rats. *Drug Metabolism and Toxicology Unit, Department of Biochemistry, College of Medicine*. University of Ibadan, Nigeria. Diakses Tanggal 3 Mei 2009.
- Fikri, Bahrul dan Gando, Idham Jaya. 2005. Transport Oksigen. *Tinjauan Pustaka*. Makassar: Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Diakses Tanggal 3 Mei 2009.
- Gandasoebrata, R. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Ganong, W F. 1983. *Fisiologi Kedokteran Edisi 10*. Alih Bahasa: Adji Dharma. Jakarta: EGC.
- Guyton, Arthur C. 1996. *Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit*. Alih Bahasa: Petrus Andrianto. Jakarta: EGC.
- Guyton, Arthur C dan John E Hall. 1997. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Ham, Arthur W. 1969. *Histology Seventh Edition*. America: J.B. Lippincott Company. Philadelphia and Toronto.
- Harper, Laura Jane. 2006. *Pangan, Gizi Dan Pertanian*. Alih Bahasa: Suhardjo. Jakarta: UI PRESS.
- Hole, John W. 1998. *Human Anatomy Physiology Sixth Edition*. Dubuque, Iowa. Melbourne, Australia Oxford, England: Wm.c Brown Publishers.
- Jasin, maskoeri. 1984. *Sistematika Hewan*. Surabaya: Sinar Wijaya.
- Junquera, L Carlos. 1997. *Histologi Dasar*. Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Kumalaningsih, Sri. 2007. *Antioksidan Alami*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Kusmiati, Sri. 2004. *Studi Validitas Dan Reliabilitas Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin Dengan Metode Sahli Dan Metode Talqvist Untuk Deteksi Anemia Pada Ibu Hamil Di Puskesmas Wilayah Bojonagara Kota Bandung*. Thesis. Yogyakarta: Universitas Gadjahmada. Diakses Tanggal 3 Februari 2009.

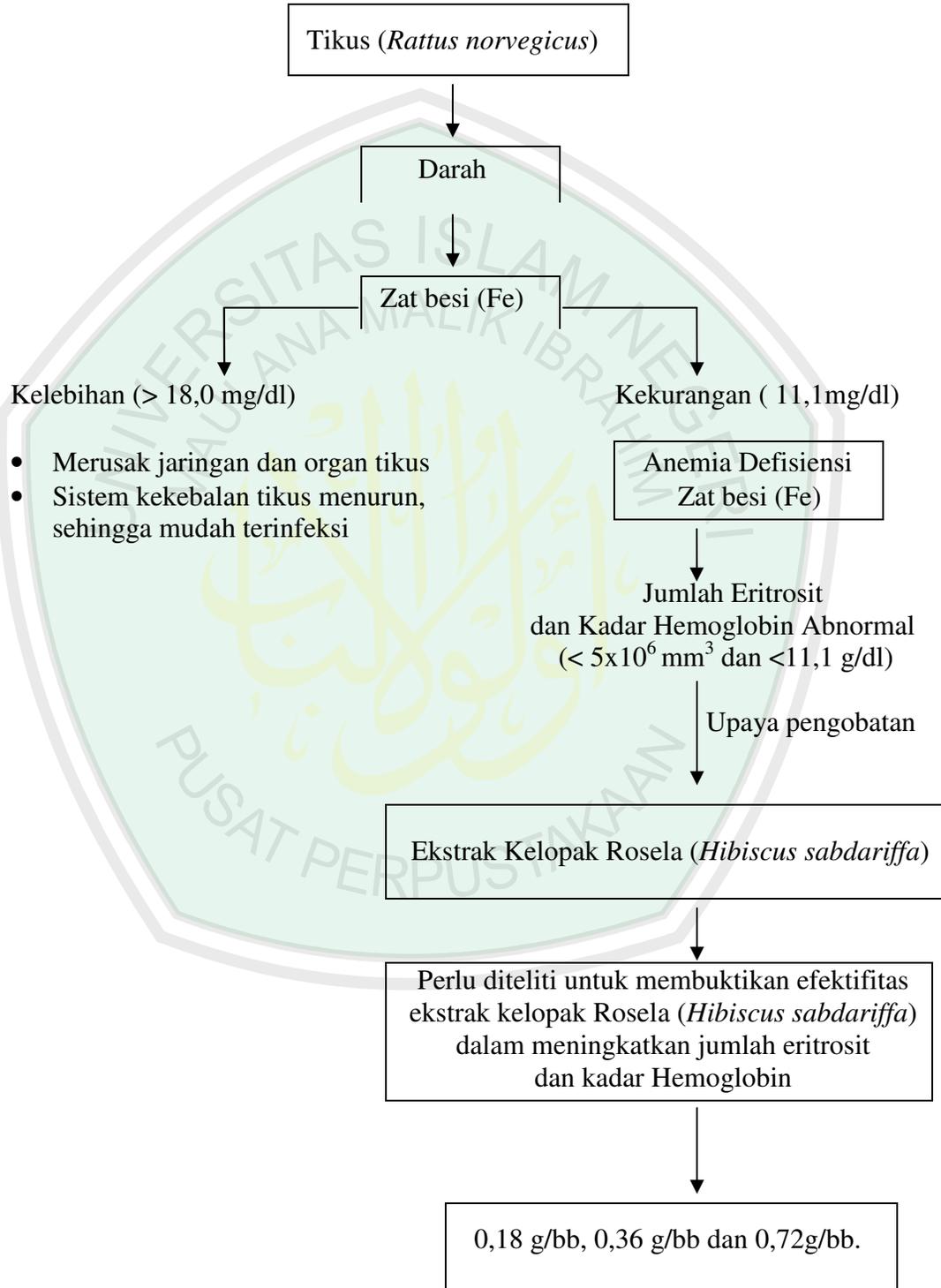
- Kustyawati, Maria Erna dan Sulastri Ramli. 2008. Pemanfaatan Hasil Tanaman Hias Rosella Sebagai Bahan Minuman. *Jurnal Penelitian*. Lampung: Universitas Lampung. Diakses Tanggal 3 Mei 2009.
- Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjahmada University Press.
- Mahrhan, Jamaluddin dan Abdul Azhim Hafna Mubasyir. 2006. *Al-Quran Bertutur Tentang Makanan Dan Obat-Obatan*. Yogyakarta: Mitra Pustaka.
- Maryani, Herti dan Lusi Kristiana. 2008. *Khasiat Dan Manfaat Rosela*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Marieb, Elaine N. 2005. *Anatomy And Physiology Second Edition*. San Fransisco Boston New York: Pearson Benjamin Cummings.
- Marieb, Elaine N dan Katja Hoehn. 2007. *Human Anatomy And Phisyology seventh edition*. San Fransisco, New York: Pearson Benjamin Cummings.
- Minarno, Eko Budi dan Liliek Hariani. 2008. *Gizi Dan Kesehatan Perspektif Al-Quran Dan Sains*. Malang: Universitas Islam Negeri Malang (UIN) PRESS.
- Muchtadi, Deddy. 1989. *Aspek Biokimia*. Bogor: Institut Tehnologi Bandung (ITB).
- Muchtadi, Deddy. 2008. *Pengantar Ilmu Gizi*. Bandung: Alfabeta.
- Mujiminiyi, F B O. Dikko, M. Muhammad, BY. Ojobor, PD. 2007. *Antihypertensive effect of an aqueous extract of the calyx of Hibiscus sabdariffa*. *Jurnal Penelitian*. Department of Physiology, Usman Danfodio University, Sokoto, Nigeria. Diakses Tanggal 26 April 2009.
- Mulyawati, Yenni. 2003. *Perbandingan Efek Suplementasi Tablet Tambah Darah Dengan Dan Tanpa Vitamin C Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Pekerja Wanita Di Perusahaan Plywood, Jakarta 2003*. Thesis. Jakarta: Universitas Indonesia. Diakses Tanggal 26 April 2009.
- Nasoetion, Andi Hakim dan Darwin Karyadi. 1987. *Vitamin*. Jakarta: PT Gramedia.
- Orisakwe, OE. Hussaini DC and Orish VN. 2003. Nephrotoxic Effects Of Hibiscus sabdariffa calyx In Rats. *Jurnal Penelitian*. Nigeria: Abia State university, Uturu. Diakses Tanggal 10 April 2009.
- Patimah, St. 2007. Pola Konsumsi Ibu Hamil Dan Hubungannya Dengan Kejadian Anemia Defisiensi Besi. *Jurnal Penelitian*. Jakarta: Badan Penelitian Sains dan Teknologi. Diakses Tanggal 10 April 2009.

- Piliang, Wiranda G dan Soewondo Djojosoebagio Al-Haj. 2006. *Fisiologi Nutrisi Volume II*. Bogor: IPB Press.
- Prabawati, Emie. 2007. *Menjadi Muslimah Yang Sehat*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Prihiyantoro, Eko. 2008. *Peningkatan Kematian Sel Neuroepithelium Akibat Induksi 2-Methoxyethanol (2-ME) Pada Masa Neurulasi Sebagai Penyebab Terjadinya Neural Tube Defects (NTDs)*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Rahmadi, Anton. 2007. *Pilar Utama Peradaban Islam: Pangan Halal. Kajian Pustaka*. Kalimantan Timur: Universitas Mulawarman.
- Rasmaliah. 2004. *Anemia Kurang Besi Dalam Hubungannya Dengan Infeksi Cacing Pada Ibu Hamil. Kajian Pustaka*. Sumatra Utara: Universitas Sumatra Utara.
- Retno, Endang, dkk. 2008. *Ekstraksi Zat Warna Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa Linn.) Sebagai Alternatif Pewarna Alami Bahan Pangan. Jurnal Penelitian*. Jakarta: Badan penelitian Teknologi Industri Pertanian Fak Teknik UWKS. Diakses Tanggal 3 Mei 2009.
- Riswan, Muhammad. 2003. *Anemia Defisiensi Besi Pada Wanita Hamil Di Beberapa Praktek Bidan Swasta Dalam Kota Madya Medan. Jurnal Penelitian*. Sumatra Utara: Universitas Sumatra Utara.
- Santoso, Heri Budi. 2006. *Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisialis Tibia Fetus Mencit (Mus musculus L.) Dari Induk Dengan Perlakuan Kafein. Jurnal Penelitian Hayati*. Kalimantan Selatan: Program studi Biologi FMIPA UNLAM. Diakses Tanggal 30 Juni 2008.
- Sediaoetama, Achmad Djaeni. 2006. *Ilmu Gizi Untuk mahasiswa Dan profesi Jilid I*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sediaoetama, Achmad Djaeni. 2006. *Ilmu Gizi Untuk Mahasiswa Dan Profesi Jilid II*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Shalilah, Putri Ayu. 2008. *Kemampuan Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) Untuk Mencegah Kerusakan Jaringan Testis Mencit (Mus-musculus) Akibat Induksi 2-Methoxyethanol*. Skripsi. Surabaya: Undewrgraduate of Airlangga University Library.
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. Alih Bahasa: Brahm U. Jakarta: EGC.

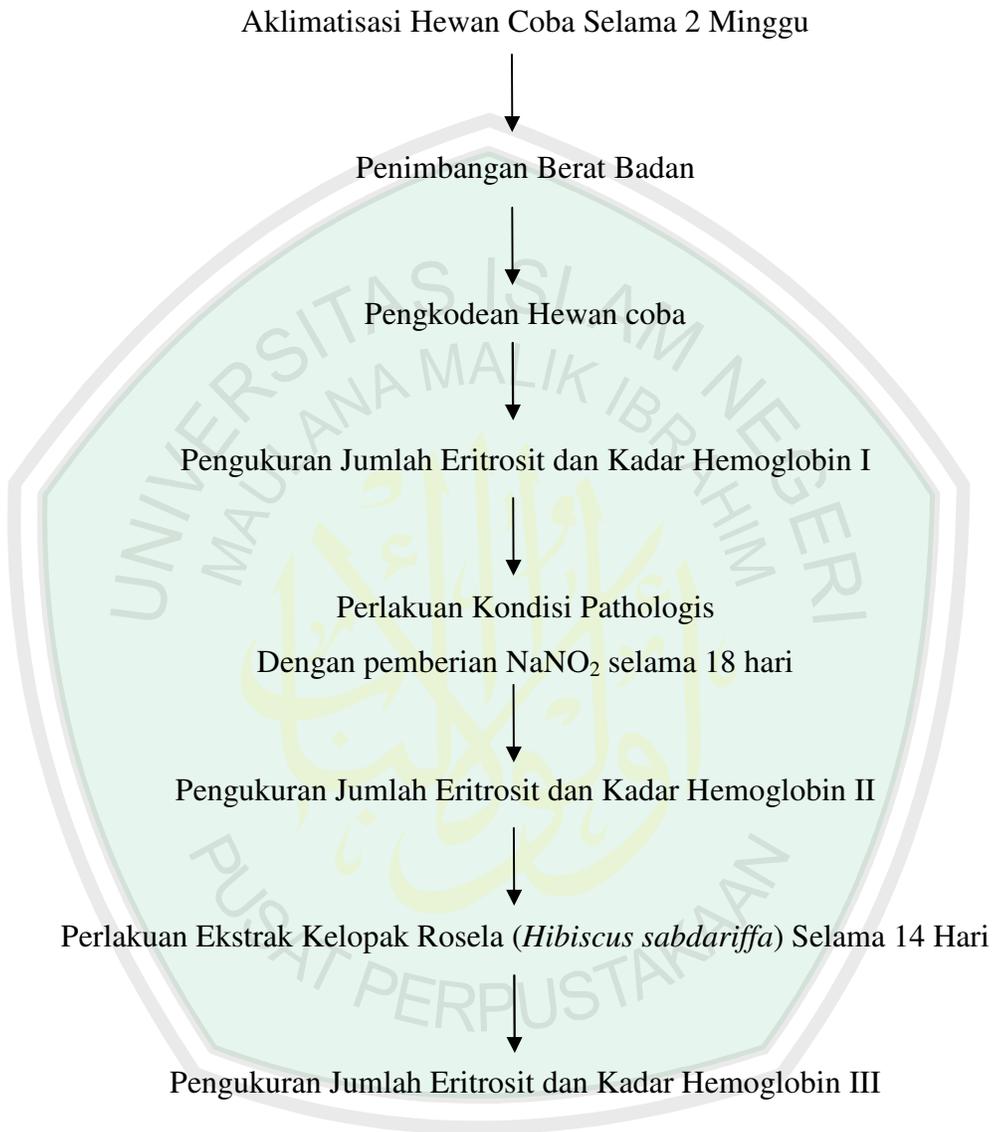
- Shier, David. 2004. *Human Anatomy Physiology Tenth Edition*. WI New York, San Fransisco St. Louis: Mc Graw Hill.
- Shihab, M Quraish. 2004. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M Quraish. 2009. Halan Thayyiba. *Majalah Alif*. Edisi: Februari 2009.
- Soewolo. 2005. *Fisiologi Manusia*. Malang: Universitas Negeri Malang (UM PRESS).
- Soewolo. 2000. *Pengantar Fisiologi Hewan*. Jakarta: Proyek Pengembangan Guru Sekolah Menengah IBRD Loan No. 3979.
- Sudirman, Kurniati. 2007. Pengaruh Konsentrasi Jus Pegagan (*Centella asiatica L.*) Terhadap Jumlah Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin Darah Tikus Putih Betina (*Rattus Norvegicus*). *Skripsi* Tidak Dipublikasikan. Malang: UMM.
- Sulaksono, M Edhie. 2002. Penentuan Nilai Rujukan Parameter Faal Hewan Percobaan Sebagai Model Penyakit Manusia Dan Hewan. *Jurnal Penelitian*. Jakarta: Litbang Kesehatan. Diakses Tanggal 6 Mei 2009.
- Tintus, Libertus. 2008. *Dosis Efektif Kombinasi Natrium Tiosulfat Dan Natrium Nitrit Sebagai Antidot Keracunan Sianida Akut Pada Mencit Jantan Galur Swiss*. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanatha Dharma. Diakses Tanggal 4 April 2009.
- Wahyuni, Arlinda Sari. 2004. Anemia Defisiensi Besi Pada Balita. *Karya Tulis Ilmiah, Ilmu Kedokteran komunitas*. Sumatra Utara: Universitas sumatra Utara. Diakses Tanggal 28 Mei 2009.
- Widman, Frances K. 1989. *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: EGC.
- Yuningsih. 2008. Keracunan Nitrat-Nitrit Pada Hewan Serta Kejadiannya Di Indonesia. *Jurnal Penelitian*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner. Diakses Tanggal 25 April 2009.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Konsep Penelitian



Lampiran 2. Diagram Cara Kerja



Lampiran 3. Pembuatan Reagen Hemolysin (Drabkin)

Menimbang bahan Kalium Ferrocyanida ($K_3F(CN)$) 200 mg



Menimbang bahan Kalium Cyanida (KCN) 50 mg



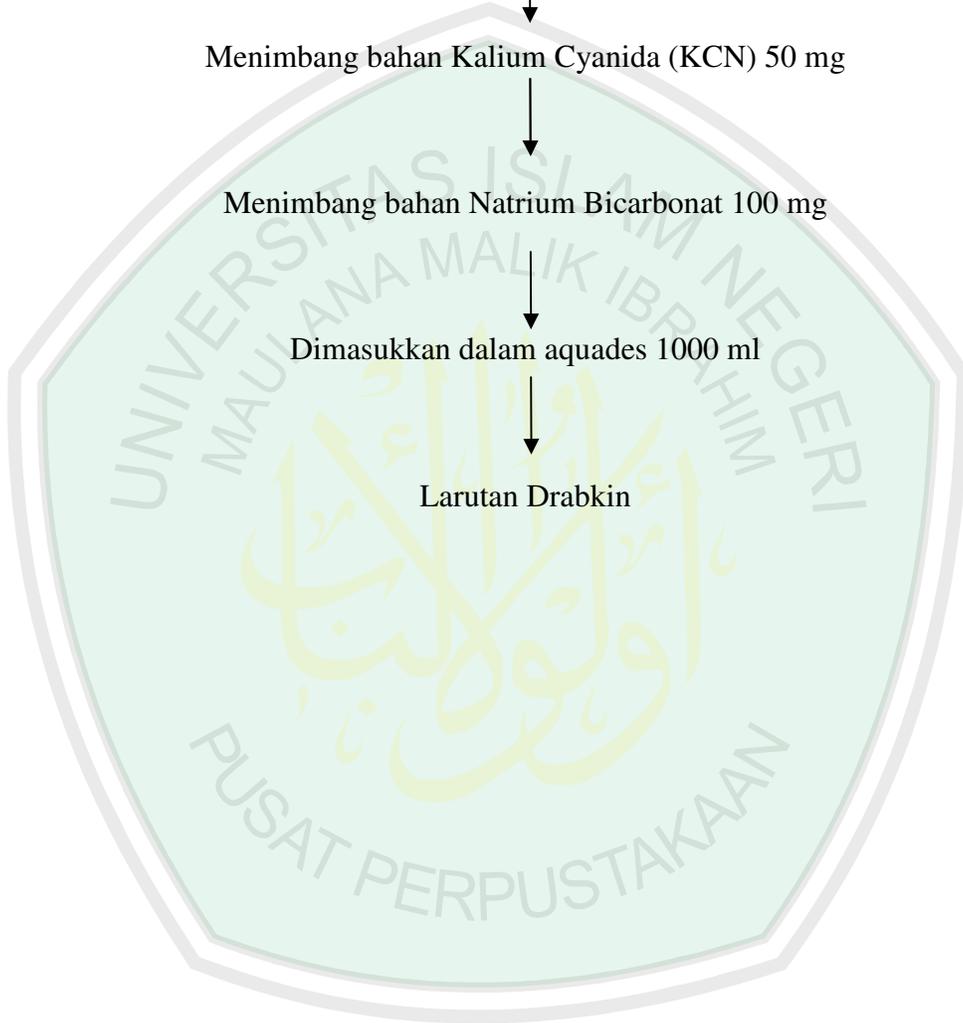
Menimbang bahan Natrium Bicarbonat 100 mg



Dimasukkan dalam aquades 1000 ml



Larutan Drabkin



Lampiran 4. Data Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

4.1 Data Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Sebelum Diberi NaNO_2 dan Ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	11,7	7,4	7,5	8,3	11,5	10,9	57,3	9,5
0,18	8,2	5,3	11,1	6,9	6,3	10,5	48,3	8,0
0,36	7,2	9,7	5,9	5,1	7,1	9,1	44,1	7,3
0,72	11,5	9,2	9,3	5,6	11,6	5,5	52,7	8,7
Total	38,6	31,6	33,8	25,9	36,5	36	202,4	33,5

4.2 Data Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) setelah diberi NaNO_2 dan sebelum diberi ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	4,8	4,8	4,2	4,0	4,4	4,6	26,8	4,4
0,18	3,5	2,3	4,7	5	4,1	6,7	26,3	4,3
0,36	3,8	6,4	2,5	2,8	6,9	3,5	25,9	4,3
0,72	5,0	7,3	3,5	3,8	3,4	4,7	27,7	4,6
Total	17,1	20,8	14,9	15,6	18,8	19,5	106,7	17,6

4.3 Data Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Tikus Anemia Setelah Diberi Ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	6,5	6,8	5	5,3	4,8	5,2	33,6	5,6
0,18	8,4	5,1	9,8	9,2	10,1	11,6	54,2	9,0
0,36	10,5	11	7,9	5,8	10,3	10,0	55,5	9,2
0,72	11,6	9,5	9,8	11,3	9,9	10,9	63	10,5
Total	37	32,4	32,5	31,6	35,1	37,7	206,3	34,3

4.4 Data Peningkatan Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) tikus anemia yang diberi ekstrak Rosela.

Dosis (g/ekor)	Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	1,7	2	0,8	1,3	0,4	0,6	6,8	1,1
0,18	4,9	2,8	5,1	4,2	6,0	4,9	27,9	4,6
0,36	6,7	4,6	5,4	3	3,4	6,5	29,6	4,9
0,72	6,6	2,2	6,3	7,5	6,5	6,2	33,3	5,8
Total	19,9	11,6	17,6	16	16,3	18,2	97,6	16,4

4.5 Jumlah eritrosit darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebelum dan sesudah perlakuan.

Dosis (g/ekor)	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$)												Total		Rerata	
	X1	Y1	X2	Y2	X3	Y3	X4	Y4	X5	Y5	X6	Y6	X1	Y1	X1	Y1
Kontrol	4,8	6,5	4,8	6,8	4,2	5,0	4,0	5,3	4,4	4,8	4,6	5,2	26,8	33,6	4,4	5,6
0,18	3,5	8,4	2,3	5,1	4,7	9,8	5,0	9,2	4,1	10,1	6,7	11,6	26,3	54,2	4,3	9,0
0,36	3,8	10,5	6,4	11	2,5	7,9	2,8	5,8	6,9	10,3	3,5	10,0	25,9	55,5	4,3	9,2
0,72	5,0	11,6	7,3	9,5	3,5	9,8	3,8	11,3	3,4	9,9	4,7	10,9	27,7	63,0	4,6	10,5
Total	17,1	37,0	20,8	32,4	14,9	32,5	15,6	31,6	18,8	35,1	19,5	37,7	106,7	206,3	17,6	34,3

X= Jumlah eritrosit sebelum perlakuan

Y= Jumlah eritrosit sesudah perlakuan

Lampiran 5. Perhitungan Analisis Kovarian (ANKOVA) Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) Darah Tikus Putih

A. Pengamatan XX (Sebelum Perlakuan)

- 1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(\sum X)^2}{t.r} \\
 &= \frac{(106,7)^2}{24} \\
 &= 474,37 \times 10^{12}
 \end{aligned}$$

- 2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$JK_{Total} = \sum X^2 - FK$$

$$\begin{aligned}
&= (4,8 \times 10^6)^2 + (4,8 \times 10^6)^2 + \dots + (4,7 \times 10^6)^2 - 474,37 \times 10^{12} \\
&= 514,55 \times 10^{12} - 474,37 \times 10^{12} \\
&= 40,18 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{[(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2]}{r} - FK \\
&= \frac{(26,8 \times 10^6)^2 + (26,3 \times 10^6)^2 + (25,9 \times 10^6)^2 + (27,7 \times 10^6)^2}{6} - 474,37 \times 10^{12} \\
&= \frac{2848,03 \times 10^{12}}{6} - 474,37 \times 10^{12} \\
&= 0,30 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}} \\
&= 40,18 \times 10^{12} - 0,30 \times 10^{12} \\
&= 39,88 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G})

$$\begin{aligned}
JK_{P+G} &= JK_{\text{Perlakuan}} + JK_{\text{Galat}} \\
&= 0,30 \times 10^{12} + 39,88 \times 10^{12} \\
&= 40,18 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

B. Pengamatan XY (Sebelum dan Sesudah Perlakuan)

1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum X \sum Y)}{t.r}$$

$$= \frac{(106,7 \times 10^6)(206,3 \times 10^6)}{24}$$

$$= 917,17 \times 10^{12}$$

2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$JK_{total} = \sum(X.Y) - FK$$

$$= [(4,8 \times 10^6)(6,5 \times 10^6) + (4,8 \times 10^6)(6,8 \times 10^6) + \dots + (4,7 \times 10^6)(10,9 \times 10^6)] - 917,17 \times 10^{12}$$

$$= 945,24 \times 10^{12} - 917,17 \times 10^{12}$$

$$= 28,07 \times 10^{12}$$

$$JK_{perlakuan} = \frac{(\sum X \cdot \sum Y) + \dots (\sum X \cdot \sum Y)}{6} - FK$$

$$= \frac{[(26,8 \times 10^6)(33,6 \times 10^6) + (26,3 \times 10^6)(54,2 \times 10^6) + \dots + (27,7 \times 10^6)(63,0 \times 10^6)]}{6}$$

$$917,17 \times 10^{12}$$

$$= \frac{5508,49 \times 10^6}{6} - 917,17 \times 10^{12}$$

$$= 0,91 \times 10^{12}$$

$$JK_{Galat} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$$

$$= 28,07 \times 10^{12} + 0,91 \times 10^{12}$$

$$= 27,16 \times 10^{12}$$

3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G})

$$JK_{P+G} = JK_{perlakuan} + JK_{Galat}$$

$$= 0,91 \times 10^{12} + 27,16 \times 10^{12}$$

$$= 28,07 \times 10^{12}$$

C. Pengamatan YY (Sesudah perlakuan)

- 1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} FK &= \frac{(\sum Y)^2}{t.r} \\ &= \frac{(206,3 \times 10^6)^2}{24} \\ &= 1773,32 \times 10^{12} \end{aligned}$$

- 2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum Y^2 - FK \\ &= [(6,5 \times 10^6)^2 + (6,8 \times 10^6)^2 + \dots + (10,9 \times 10^6)^2] - 1773,32 \times 10^{12} \\ &= 1904,23 \times 10^{12} - 1773,32 \times 10^{12} \\ &= 130,91 \times 10^{12} \\ JK_{perlakuan} &= \frac{[(\sum Y_1)^2 + (\sum Y_2)^2 + \dots + (\sum Y_4)^2]}{r} - FK \\ &= \frac{[(33,6 \times 10^6)^2 + (54,2 \times 10^6)^2 + \dots + (63,0 \times 10^6)^2]}{6} - 1773,32 \times 10^{12} \\ &= 79,32 \times 10^{12} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 130,91 \times 10^{12} - 79,32 \times 10^{12} \\ &= 51,59 \times 10^{12} \end{aligned}$$

- 3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G})

$$\begin{aligned}
 JK_{P+G} &= JK \text{ Perlakuan} + JK \text{ Galat} \\
 &= 79,32 \times 10^{12} + 51,59 \times 10^{12} \\
 &= 130,91 \times 10^{12}
 \end{aligned}$$

D. Menghitung Db Awal

$$\begin{aligned}
 1) \quad \text{Db Perlakuan} &= t-1 \\
 &= 4-1 \\
 &= 3 \\
 2) \quad \text{Db Galat} &= (rt-1) - (t-1) \\
 &= (6.4-1) - (4-1) \\
 &= 20 \\
 3) \quad \text{Db Total} &= (rt-1) \\
 &= (6.4-1) \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

E. Menghitung JK regresi

$$\begin{aligned}
 1) \quad JKR_{Galat} &= \frac{(JKGalat_{XY})^2}{JKGalat_{XX}} \\
 &= \frac{(JK_{XY})^2}{JK_{XX}} \\
 &= \frac{(27,16 \times 10^{12})^2}{39,88 \times 10^{12}} \\
 &= 18,49 \times 10^{12} \\
 2) \quad JKR_{P+G} &= \frac{(JKP_{XY} + JKG_{XY})^2}{P_{XX} + G_{XX}}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{(JK_{XY})^2}{JK_{XX}} \\
&= \frac{(28,07 \times 10^{12})^2}{40,18 \times 10^{12}} \\
&= 19,60 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

F. Menghitung JK Galat Regresi Terkoreksi (JKGTR)

$$\begin{aligned}
1) \text{JKGTR}_{Galat} &= G_{YY} - \frac{(G_{XY})^2}{G_{XX}} \\
&= JK_{yy} - \text{JK regresi} \\
&= 51,59 \times 10^{12} - 18,49 \times 10^{12} \\
&= 33,1 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
2) \text{JKGTR}_{P+G} &= P_{YY+G_{YY}} - \frac{(P_{XY+G_{XY}})^2}{P_{XX+G_{XX}}} \\
&= JK_{yy (P+G)} - \text{JK regresi}_{yy (P+G)} \\
&= 130,91 \times 10^{12} - 19,60 \times 10^{12} \\
&= 111,31 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

G. Menguji Perlakuan Terkoreksi (MPT)

$$\begin{aligned}
\text{MPT} &= \left[P_{YY+G_{YY}} - \frac{(P_{XY+G_{XY}})^2}{P_{XX+G_{XX}}} \right] - \left[G_{YY} - \frac{(G_{XY})^2}{G_{XX}} \right] \\
&= \text{JKGT}_{P+G} - \text{JKGT}_{Galat} \\
&= 111,31 \times 10^{12} - 33,1 \times 10^{12} \\
&= 78,21 \times 10^{12}
\end{aligned}$$

H. Menghitung Db Terkoreksi

$$1) \quad Db_{Galat} = [(r-t)(t-1)]-1$$

$$= 14$$

$$2) \quad Db_{P+G} = [r(t-1)]-1$$

$$= 17$$

$$3) \quad Db \text{ Perlakuan Terkoreksi} = Db_{P+G} - Db_{Galat}$$

$$= 17-14$$

$$= 3$$

I. Menghitung KT Galat Murni (KTGM)

$$1) \quad KTGM_{Galat} = G \frac{G_{XY} \cdot (G_{XY})G_{XY}}{[(r-1)(t-1)]-1}$$

$$= \frac{JK \text{ Regresi Terkoreksi}}{Db}$$

$$= \frac{33,1 \times 10^{12}}{14}$$

$$= 2,36 \times 10^{12}$$

$$2) \quad KT \text{ Perlakuan Terkoreksi} = \frac{JKGT}{Db}$$

$$= \frac{78,21 \times 10^{12}}{3}$$

$$= 26,07 \times 10^{12}$$

J. Tabel ANKOVA

SK	Db	JK (10) ¹²			JK Regresi (10) ¹²	Db	JK Galat Terkoreksi (10) ¹²	Db	KT Galat Murni (10) ¹²
		XX	X	YY					
Perlakuan	3	0,30	0,91	79,32	-	-	-	-	-
Galat	20	39,88	27,16	51,59	18,49	1	33,1	14	2,36
Perlakuan+Galat	23	40,18	28,07	130,91	19,60	1	111,31	17	-
Menguji Perlakuan	-	-	-	-	-	-	78,21	3	26,07

K. Mencari F Hitung

$$\begin{aligned}
 F \text{ hitung} &= \frac{KTGM (MPT)}{KTGM (G)} \\
 &= \frac{26,07 \times 10^{12}}{2,36 \times 10^{12}} \\
 &= 11,04
 \end{aligned}$$

L. Mencari BNT 5%

$$BNT 5\% = t_{0,05(dbG)} (S_d)$$

$$\begin{aligned}
 (S_d) &= \sqrt{\frac{KTGM}{r} \left[1 + \frac{JK_{Perlakuan_x}}{(Perlakuan-1)(JK_{Galat_x})} \right]} \\
 &= \sqrt{\frac{2,36 \times 10^{12}}{6} \left[1 + \frac{0,30}{119,64} \right]} \\
 &= \sqrt{0,39 \times 10^{12} \left[1 + \frac{0,30 \times 10^{12}}{(4-1)(39,8810^{12})} \right]}
 \end{aligned}$$

$$= \sqrt{0,39 \times 10^{12}}$$

$$= 6200$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{0,05(dbG)}(S_d)$$

$$= 2,14 \times 6200$$

$$= 13268$$

M. Menghitung Perlakuan Rata-rata Terkoreksi

$$1) \ b = \frac{G_{XY}}{G_{XX}}$$

$$= \frac{27,16 \times 10^{12}}{39,88 \times 10^{12}}$$

$$= 0,68 \text{ Type equation here.}$$

2) Menghitung \bar{x} (rata-rata

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{r.f}$$

$$= \frac{106,7 \times 10^6}{24}$$

$$= 4,44 \times 10^6$$

N. Tabel Perlakuan Rata-Rata Terkoreksi

Perlakuan	Rerata Jumlah Eritrosit Sebelum Perlakuan \bar{X}_i	Penyimpangan $(\bar{X}_i - \bar{X})(10^6)$	Koreksi $b_{Y.X}$ $(\bar{X}_i - \bar{X})(10^6)$	Rerata Jumlah Eritrosit sesudah perlakuan $\bar{Y}_i (10^6)$	Rerata Jumlah Eritrosit Terkoreksi $\bar{Y}_i - \text{Koreksi} (10^6)$
1	4,4	0,04	0,02	5,6	4,92
2	4,3	-0,14	-0,09	9,0	8,32
3	4,3	-0,14	-0,09	9,2	8,52
4	4,6	0,16	0,10	10,5	9,82

O. Ringkasan Uji BNT 5% dari peningkatan jumlah eritrosit darah Tikus Putih anemia yang diberi ekstrak kelopak Rosela

Perlakuan	Rerata (10^6)	Notasi BNT 5%
Kontrol	4,92	a
0,18	8,32	b
0,36	8,52	c
0,72	9,82	d

Lampiran 6. Data kadar Hemoglobin Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

6.1 Data kadar Hemoglobin dalam darah tikus sebelum diberi NaNO_2 dan ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Kadar Hemoglobin (Hb) (g/dl)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	18	14	14	15	18	18	97	16,1
0,18	14	12	18	14	13	16	87	14,5
0,36	14	15	13	11	14	14	81	13,5
0,72	18	15	15	12	18	12	90	15,0
Total	64	56	60	52	63	60	355	59,1

6.2 Data kadar Hemoglobin dalam darah tikus setelah diberi NaNO_2 dan sebelum diberi ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Kadar Hemoglobin (Hb) (g/dl)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	11	12	10	10	10	11	64	10,6
0,18	9	7	11	12	10	14	63	10,5
0,36	10	13	7	8	14	10	62	10,3
0,72	11	14	10	10	10	12	67	11,1
Total	41	46	38	40	44	47	256	42,5

6.3 Data kadar Hemoglobin dalam darah tikus anemia setelah diberi ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Kadar Hemoglobin (Hb) (g/dl)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	13	13	12	12	12	13	75	12,5
0,18	16	13	17	17	17	18	98	16,3
0,36	17	18	14	14	18	18	99	16,5
0,72	18	17	16	18	18	18	105	17,5
Total	64	61	59	61	65	67	377	62,8

6.4. Data Peningkatan kadar Hemoglobin (Hb) tikus anemia yang diberi ekstrak Rosela

Dosis (g/ekor)	Kadar Hemoglobin (Hb) (g/dl)						Total	Rerata
	X1	X2	X3	X4	X5	X6		
Kontrol	2	1	2	2	2	2	11	1,8
0,18	7	6	6	5	7	4	35	5,8
0,36	7	5	7	6	4	8	37	6,1
0,72	7	3	6	8	8	6	38	6,3
Total	23	15	21	21	21	20	121	2,0

6.5 Kadar Hemoglobin dalam darah Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebelum dan sesudah perlakuan

Dosis (g/ekor)	Kadar Hemoglobin (Hb) (g/dl)												Total		Rerata	
	X1	Y1	X2	Y2	X3	Y3	X4	Y4	X5	Y5	X6	Y6	X1	Y1	X1	Y1
Kontrol	11	13	12	13	10	12	10	12	10	12	11	13	64	75	10,6	12,5
0,18	9	16	7	13	11	17	12	17	10	17	14	18	63	98	10,5	16,3
0,36	10	17	13	18	7	14	8	14	14	18	10	18	62	99	10,3	16,5
0,72	11	18	14	17	10	16	10	18	10	18	12	18	67	105	11,1	17,5
Total	41	64	46	61	38	59	40	61	44	65	47	67	256	375	42,5	62,8

X= Kadar Hemoglobin sebelum perlakuan

Y= Kadar Hemoglobin sesudah perlakuan

Lampiran 7. Perhitungan Analisis Kovarian (ANKOVA) Kadar Hemoglobin Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus nurvegicus*)

A. Pengamatan XX (Sebelum Perlakuan)

- 1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{t.r}$$

$$= \frac{(256)^2}{24}$$

$$= 2730,66$$

- 2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\sum K_{Total} = \sum X^2 - FK$$

$$= (11)^2 + (12)^2 + \dots + (12)^2 - 2730,66$$

$$= 2816 - 2730,66$$

$$= 85,34$$

$$JK_{\text{perlakuan}} = \frac{[(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2]}{r} - FK$$

$$= \frac{(64)^2 + (63)^2 + \dots + (67)^2}{6} - 2730,66$$

$$= \frac{16398}{6} - 2730,66$$

$$= 2,34$$

$$JK_{\text{Galat}} = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}}$$

$$= 85,34 - 2,34$$

$$= 83$$

3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G})

$$JK_{P+G} = JK_{\text{Perlakuan}} + JK_{\text{Galat}}$$

$$= 2,34 + 83$$

$$= 85,34$$

B. Pengamatan XY (Sebelum dan Sesudah Perlakuan)

1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum X \sum Y)}{t.r}$$

$$= \frac{(256)(377)}{24}$$

$$= 4021,33$$

2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum(X.Y) - FK \\ &= [(11 \times 13) + (12 \times 13) + \dots (12 \times 18)] - 4021,33 \\ &= 4068 - 4021,33 \\ &= 46,67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{perlakuan} &= \frac{(\sum X . \sum Y) + \dots (\sum X . \sum Y)}{6} - FK \\ &= \frac{[(64 \times 75) + (63 \times 98) + \dots (67 \times 105)]}{6} - 4021,33 \\ &= \frac{24147}{6} - 4021,33 \\ &= 3,17 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 46,67 - 3,17 \\ &= 43,5 \end{aligned}$$

3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G})

$$\begin{aligned} JK_{P+G} &= JK_{Perlakuan} + JK_{Galat} \\ &= 3,17 + 43,5 \\ &= 46,67 \end{aligned}$$

C. Pengamatan YY (Sesudah perlakuan)

1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} FK &= \frac{(\sum Y)^2}{t.r} \\ &= \frac{(377)^2}{24} \end{aligned}$$

$$= 5922,04$$

2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum Y^2 - FK \\ &= [(13)^2 + (13)^2 + \dots + (18)^2] - 5922,04 \\ &= 6049 - 5922,04 \\ &= 126,96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{perlakuan} &= \frac{[(\sum Y_1)^2 + (\sum Y_2)^2 + \dots + (\sum Y_4)^2]}{r} - FK \\ &= \frac{[(75)^2 + (98)^2 + \dots + (105)^2]}{6} - 5922,04 \end{aligned}$$

$$= 87,12$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 126,96 - 87,12 \\ &= 39,84 \end{aligned}$$

3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G})

$$\begin{aligned} JK_{P+G} &= JK_{Perlakuan} + JK_{Galat} \\ &= 87,12 + 39,84 \\ &= 126,96 \end{aligned}$$

D. Menghitung Db Awal

$$\begin{aligned} 1) \text{ Db Perlakuan} &= t-1 \\ &= 4-1 \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$2) \text{ Db Galat} = (rt-1) - (t-1)$$

$$= (6.4-1) - (4-1)$$

$$= 20$$

$$3) \text{ Db Total} = (rt-1)$$

$$= (6.4-1)$$

$$= 23$$

E. Menghitung JK regresi

$$1) \text{JKR}_{Galat} = \frac{(JKGalat_{XY})^2}{JKGalat_{XX}}$$

$$= \frac{(JK_{XY})^2}{JK_{XX}}$$

$$= \frac{(43,5)^2}{83}$$

$$= 22,79$$

$$2) \text{JKR}_{P+G} = \frac{(JKP_{XY} + JKG_{XY})^2}{P_{XX} + G_{XX}}$$

$$= \frac{(JK_{XY})^2}{JK_{XX}}$$

$$= \frac{(46,67)^2}{85,34}$$

$$= 25,52$$

F. Menghitung JK Galat Regresi Terkoreksi (JKGTR)

$$1) \text{JKGTR}_{Galat} = G_{YY} - \frac{(G_{XY})^2}{G_{XX}}$$

$$= JK_{yy} - \text{JK regresi}$$

$$= 39,84 - 22,79$$

$$= 17,05$$

$$\begin{aligned} 2) \text{JKGTR}_{P+G} &= P_{YY+} G_{YY} - \frac{(P_{XY+} G_{XY})^2}{P_{XX+} G_{XX}} \\ &= \text{JK}_{YY (P+G)} - \text{JK regresi}_{YY (P+G)} \\ &= 126,96 - 25,52 \\ &= 101,44 \end{aligned}$$

G. Menguji Perlakuan Terkoreksi (MPT)

$$\begin{aligned} \text{MPT} &= \left[P_{YY+} G_{YY} - \frac{(P_{XY+} G_{XY})^2}{P_{XX+} G_{XX}} \right] - \left[G_{YY} - \frac{(G_{XY})^2}{G_{XX}} \right] \\ &= \text{JKGT}_{P+G} - \text{JKGT}_{Galat} \\ &= 101,44 - 17,05 \\ &= 84,39 \end{aligned}$$

H. Menghitung Db Terkoreksi

$$\begin{aligned} 1) \text{Db}_{Galat} &= [(r-t)(t-1)] - 1 \\ &= 14 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2) \text{Db}_{P+G} &= [r(t-1)] - 1 \\ &= 17 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3) \text{Db Perlakuan Terkoreksi} &= \text{Db}_{P+G} - \text{Db}_{Galat} \\ &= 17 - 14 \\ &= 3 \end{aligned}$$

I. Menghitung KT Galat Murni (KTGM)

$$1) \text{KTGM}_{Galat} = G \frac{G_{XY} - (G_{XY})G_{XY}}{[(r-1)(t-1)] - 1}$$

$$= \frac{\text{JK Regresi Terkoreksi}}{\text{Db}}$$

$$= \frac{17,05}{14}$$

$$= 1,21$$

$$2) \text{KT Perlakuan Terkoreksi} = \frac{\text{JKGT}}{\text{Db}}$$

$$= \frac{84,39}{3}$$

$$= 28,13$$

J. Tabel ANKOVA

SK	Db	JK			JK Regresi	Db	JK Galat Terkoreksi	Db	KT Galat Murni
		XX	X	YY					
Perlakuan	3	2,34	3,17	87,12	-	-	-	-	
Galat	20	83	43,5	39,84	22,79	1	17,05	14	
Perlakuan+Galat	23	85,34	46,67	126,96	25,52	1	101,44	17	
Menguji Perlakuan	-	-	-	-	-	-	84,39	3	28,13

K. Mencari F Hitung

$$F \text{ hitung} = \frac{\text{KTGM (MPT)}}{\text{KTGM (G)}}$$

$$= \frac{28,13}{1,21}$$

$$= 23,24$$

L. Mencari BNT 5%

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t_{0,05(dbG)} (S_d) \\ (S_d) &= \sqrt{\frac{KTGM}{r} \left[1 + \frac{JKPerlakuan_x}{(Perlakuan - 1)(JKGalat_x)} \right]} \\ &= \sqrt{\frac{1,21}{6} \left[1 + \frac{2,34}{(4-1)(83)} \right]} \\ &= \sqrt{0,20 \left[1 + \frac{2,34}{249} \right]} \\ &= \sqrt{0,20} \\ &= 0,44 \\ \text{BNT 5\%} &= t_{0,05(dbG)} (S_d) \\ &= 2,14 \times 0,44 \\ &= 0,94 \end{aligned}$$

M. Menghitung Perlakuan Rata-rata Terkoreksi

$$\begin{aligned} 1) \quad b &= \frac{G_{XY}}{G_{XX}} \\ &= \frac{43,5}{83} \\ &= 0,52 \text{ Type equation here.} \end{aligned}$$

2) Menghitung \bar{x} (rata-rata)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{r.t}$$

$$= \frac{256}{24}$$

$$= 10,66$$

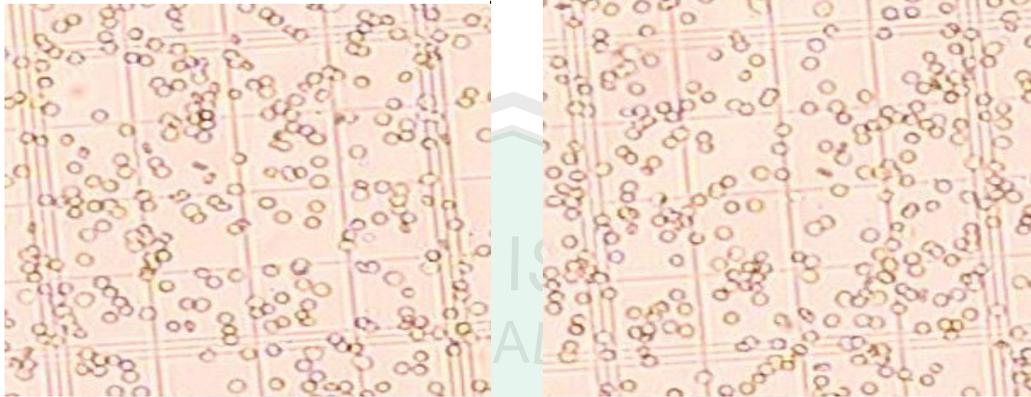
N. Tabel Perlakuan Rata-Rata Terkoreksi

Perlakuan	Rerata Kadar	Penyimpangan $(\bar{x}_i - \bar{x})$	Koreksi $b_{Y.X}$ $(\bar{x}_i - \bar{x})$	Rerata Kadar	Rerata Kadar Hemoglobin Terkoreksi \bar{Y}_i -Koreksi
	Hemoglobin Sebelum Perlakuan (\bar{x}_i)			Hemoglobin sesudah perlakuan \bar{Y}_i	
1	10,6	-0,06	-0,03	12,5	12,53
2	10,5	-0,16	-0,08	16,3	16,38
3	10,3	-0,36	-0,18	16,5	16,68
4	11,1	0,44	0,22	17,5	17,28

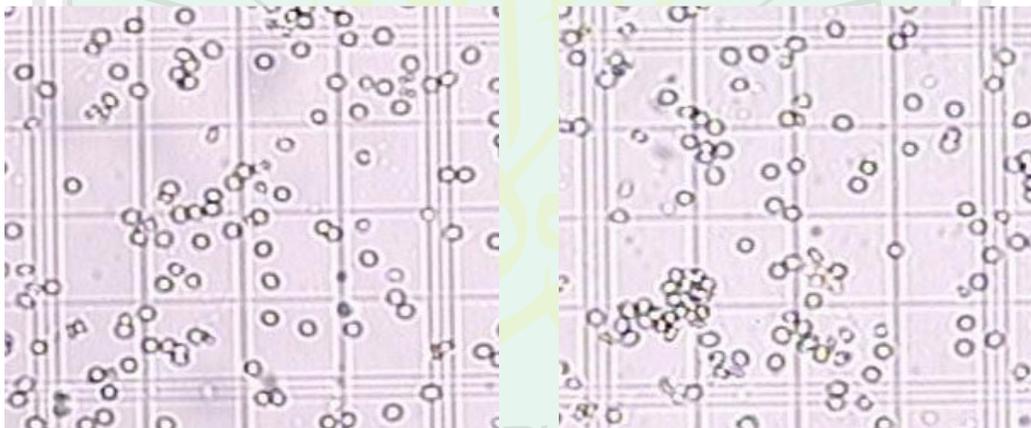
O. Ringkasan Uji BNT 5% dari Peningkatan kadar hemoglobin Darah Tikus Putih Anemia yang Diberi Ekstrak Kelopak Rosela

Perlakuan (g/ekor/hari)	Rerata (10^6)	Notasi BNT 5%
Kontrol	12,53	a
0,18	16,38	b*
0,36	16,68	b*
0,72	17,28	b*

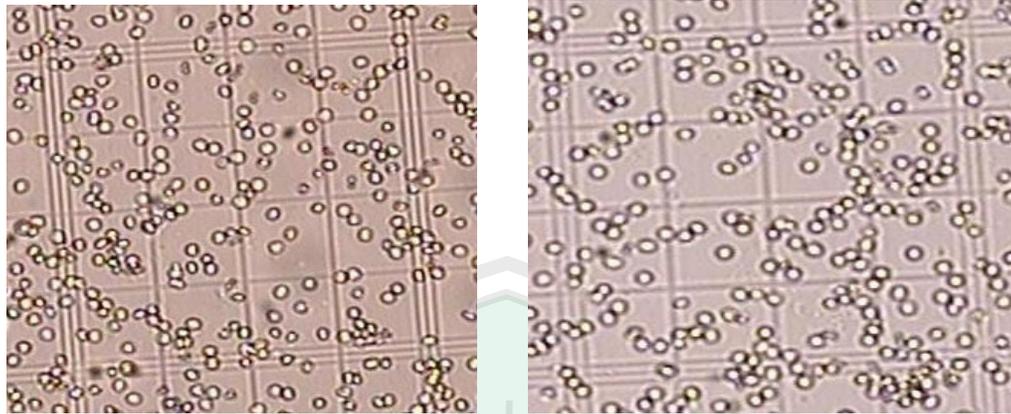
Lampiran 8. Hasil Pengamatan



Gambar: 8.1 Jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada bilik hitung sebelum diberi NaNO_3 dan sebelum diberi ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*)



Gambar: 8.2 Jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada bilik hitung sesudah diberi NaNO_3 dan sebelum diberi ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*)



Gambar: 8.3 Jumlah eritrosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada bilik hitung sesudah diberi NaNO_3 dan sesudah diberi ekstrak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

Lampiran 9 Alat dan Bahan Penelitian



a



b



c



d



e



f



g



h

Keterangan:

- a. Timbangan Analitik
- b. Spektrofotometer
- c. Haemocytometer
- d. Alkohol, Betadine, Kapas dan Syringe
- e. Drabkin, Hayem dan Mikropipet
- f. Proses pembuatan Ekstrak Rosela
- g. Proses pencekogan pada tikus
- h. Proses pengambilan darah