

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn) TERHADAP
KUANTITAS LEUKOSIT DAN PERSENTASE LIMFOSIT
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) ANEMIA**

SKRIPSI

Oleh :

**SUSILAWATI
NIM. 05520032**



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

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn)
TERHADAP KUANTITAS LEUKOSIT DAN PERSENTASE LIMFOSIT
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) ANEMIA**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibarahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :

SUSILAWATI
NIM. 05520032



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

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn)
TERHADAP KUANTITAS LEUKOSIT DAN PERSENTASE LIMFOSIT
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)**

SKRIPSI

Oleh :

**SUSILAWATI
NIM.05520032**

Telah disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

**Dr. Bayyinatul M, M.Si
NIP. 19710919 200003 2 001**

**Ahmad Barizi, MA
NIP. 19731212 199804 1001**

**Tanggal, 18 Oktober 2009
Mengetahui**

Ketua Jurusan

**Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114 199903 1 003**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH EKSTRAK KELOPAK ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* Linn)
TERHADAP KUANTITAS LEUKOSIT DAN PERSENTASE LIMFOSIT
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)**

SKRIPSI

Oleh :

**SUSILAWATI
NIM.05520032**

Telah Dipertahankan Di Depan Dewan Penguji Tugas Akhir Dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 18 Oktober 2009

Susunan Dewan Penguji	Tanda Tangan
1. Penguji Utama : <u>Dra. Retno Susilowati, M.Si</u> NIP. 1967113 199 402 2 001	()
2. Ketua : <u>Kiptiyah, M.Si</u> NIP. 19731005 200 212 2 003	()
3. Sekretaris : <u>Dr. Bayyinatul M, M.Si</u> NIP. 19710919 200003 2 001	()
4. Anggota : <u>Ahmad Barizi, MA</u> NIP. 19731212 199804 1001	()

**Mengetahui
Ketua Jurusan**

Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114 199903 1 003

PERSEMBAHAN



**Karya kecil ini
kupesembhan kepada
ayahanda dan ibunda tercinta**

MOTTO

حَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُ النَّاسِ

(SEBAIK-BAIK MANUSIA YAITU
SESORANG YANG BERMANFAAT
BAGI ORANG LAIN)

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Wr.Wb.

Tiada tepi batas samudera sanjung madah hanya kepada Allah SWT, Dzat yang patut disembah dan diagungkan, dimana dengan rahmat dan taufik-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Shalawat dan salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa cahaya kebenaran pada umatnya.

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, iringan doa dan ucapan terima kasih penulis sampaikan, terutama kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulan Malik Ibrahim Malang .
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, SU, D.Sc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulan Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Eko Budi Minarno, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulan Malik Ibrahim Malang. ^{viii}
4. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku dosen pembimbing, yang telah meluangkan waktunya dan pengarahan selama penulisan skripsi ini.
5. Ahmad Barizi, MA, selaku dosen pembimbing agama, yang telah memberikan bimbingan, arahan serta waktu untuk membimbing penulis skripsi ini.

6. Seluruh Dosen Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh studi.
7. Ayahanda dan Ibunda tercinta, serta saudaraku yang selalu memberikan motivasi dan doanya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. *Someone special*, terimakasih telah setia menunggu dan selalu memberikan doa serta dukungan selama ini
9. Sahabat-sahabat PKLI (Siti, Ifnaini, Noris dan Marcopolo) yang selalu memberikan suport, doa serta memori yang tak terlupakan
10. Teman-teman seperjuangan Biologi 2005 yang telah memberikan kenangan selama masa kuliah
11. Teman-teman kos (Indah, Afifah, Emy, Mbak Cocom, Mbak Ratna, Mbak Yani), terimakasih telah memberikan doa, dukungan serta kenangan indah kebersamaan.
12. Semua pihak yang tidak mungkin penulis sebut satu persatu, atas keikhlasan bantuan moril dan sprituil penulis ucapkan terima kasih.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan dan semoga skripsi ini bermanfaat dan menambah khazanah ilmu pengetahuan. Amien.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, 10 Oktober 2009

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	
xiii	
ABSTRAK	viii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Hipotesis Penelitian	5
1.5. Manfaat Penelitian	6
1.6. Batasan Masalah	6
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Deskripsi Rosela (<i>Hibiscus sabdarifaa</i> Linn)	7
2.1.1 Morfologi	7
2.1.2 Habitat	10
2.1.3 Kandungan Kimia	12
2.1.4 Manfaat	13
2.2 Leukosit	13
2.2.1 Pembentukan Leukosit	13
2.2.2 Jenis dan Fungsi Leukosit	16
2.3 Deskripsi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	22
2.3.1 Morfologi	22
2.3.2 Klasifikasi	
2.4	
2.4 Natrium Nitrit (NaNO ₃)	24
2.5 Anemia	26
2.5.1 Definisi Anemia	26
2.5.2 Klasifikasi Anemia	27
2.5.3 Penyebab Anemia	27
2.5.4 Tanda-tanda Anemia	27
2.6 Zat besi	28
2.6.1 Peranan Zat Besi	28
2.6.2 Metabolisme Zat Besi	29
2.7 Vitamin C	31
2.7.1 Peranan Vitamin C	31
2.7.2 Metabolisme Vitamin C	32
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	33

3.2. Variabel Penelitian	33
3.3. Waktu dan Tempat	33
3.4. Populasi dan Sampel	34
3.5. Alat dan Bahan	34
3.5.1 Alat	34
3.5.2 Bahan	34
3.6. Prosedur Kerja	34
3.6.1 Persiapan Hewan coba	34
3.6.2 Persiapan Perlakuan	35
3.6.3 Pembagian Kelompok	35
3.6.4 Penentuan Dosis Ekstrak Kelopak Rosela	35
3.6.5 Penentuan Dosis Natrium Nitrit (NaNO_3)	36
3.6.6 Metode Ekstraksi	36
3.6.7 Tahapan Pelaksanaan	36
3.6.8 Analisis Data	39

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (<i>Hibiscus sabdarifaa</i> Linn) Terhadap Kuantitas Leukosit Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>).....	40
4.2 Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (<i>Hibiscus sabdarifaa</i> Linn) Terhadap Persentase Limfosit Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>)	49

BAB V : PENUTUP

5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN-LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1	Morfologi Tanaman Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)	10
2	Skema Hematopoiesis	14
3	Jenis Leukosit Granulosit	19
4	Jenis Leukosit Agranulosit	21
5	Skema perjalanan besi dalam tubuh	30
6	Vitamin C (Asam askorbat) dan bentuk oksidasinya (asam dehidroaskorbat)	31
4.1	Diagram batang nilai rerata perubahan kuantitas leukosit tikus putih sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela	40
4.2	Diagram batang nilai rerata perubahan persentase limfosit tikus putih sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1	Kadar Normal Hemoglobin Berdasarkan Kelompok Umur	26
2	Anemia Berdasarkan Berat–ringan	27
3	Tanda Dan Gejala Anemia Berdasarkan Berat–Ringan	27
4.1.1	Ringkasan ANKOVA pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit tikus Anemia	41
4.1.2	Tabel ringkasan uji BNT 5%	42
4.2.1	Ringkasan ANKOVA pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap persentase limfosit tikus Anemia	50
4.2.2	Tabel ringkasan uji BNT 5%	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Kerangka Konsep Penelitian	56
2	Bagan Desain Penelitian	57
3	Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Kelopak Rosela	58
4	Data Kuantitas Leukosit Tikus Putih	59
5	Perhitungan ANKOVA Kuantitas Leukosit Tikus Putih	61
6	Data Persentase Limfosit Tikus Putih	66
7	Perhitungan ANKOVA Persentase Limfosit Tikus Putih	68
8	Hasil Analisis Nilai Gizi Serbuk Kelopak Rosela	73
9	Alat dan Bahan dalam Penelitian	74
10	Metode ekstraksi, Pengambilan darah dan Pencekohan	75

ABSTRAK

Susilawati. 2009 **Pengaruh Pemberian Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap Kuantitas Leukosit Dan Persentase Limfosit Tikus Putih (*Rattus novergicus*).**
Pembimbing: Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Ahmad Barizi, MA

Kata kunci: Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn), Leukosit, Limfosit, Tikus Putih (*Rattus novergicus*).

Tubuh yang selalu rentan dengan mikroorganisme yang mengganggu membutuhkan sistem perlindungan yang bagus, hal tersebut dilakukan oleh leukosit sebagai benteng perlindungan dari serangan virus, bakteri dan lain-lain. Leukosit sangat dipengaruhi oleh adanya zat besi yang sangat berperan dalam proliferasi serta fungsi leukosit. Pada kasus penyakit anemia karena defisiensi besi yang banyak terjadi menjadikan penderita mudah terinfeksi karena penurunan sistem imun tubuh, oleh karena itu dibutuhkan solusi untuk mengatasinya, salah satunya yaitu dengan pemanfaatan kelopak Rosela.

Rosela merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat. Kandungan gizi dalam 100 g kelopak bunga Rosela diantaranya sebagai berikut: zat besi sebanyak 339,60 mg; vitamin C sebanyak 234,93 mg; serta asam folat sebanyak 63,32 mg dan beberapa asam amino esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahlim Malang pada bulan Juni sampai Agustus 2009. Rancangan Penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis kovarian ANKOVA dengan taraf signifikansi 5% dan untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil 5%. Berdasarkan hasil analisis tersebut, menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus putih. Perlakuan dengan pemberian dosis 0,72 g/ekor/hari menunjukkan hasil peningkatan kuantitas leukosit tertinggi dengan nilai rata-rata yaitu 8400 sel, begitupula dengan persentase limfosit dengan nilai rata-rata tertinggi yaitu 78,8 %

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT telah menciptakan langit dan bumi beserta isinya termasuk tumbuh-tumbuhan adalah untuk kemaslahatan manusia. Hal tersebut telah dijelaskan dalam Al-Quran sebagai sarana bagi kita untuk lebih mendekatkan diri kepada Allah SWT. Penjelasan tentang tumbuh-tumbuhan dalam Al-quran salah satu diantaranya sebagai berikut :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ
مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya : *“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”* (Q.S. Tha-ha : 53).

Pada ayat tersebut telah dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan bumi sebagai hamparan yang terbentang luas. Kata سُبُلًا yang bermakna “banyak jalan” dapat diartikan sebagai jalan yang dapat dilewati oleh manusia ataupun bentuk sarana bagi manusia untuk memanfaatkan apa yang terdapat di muka bumi. Contohnya yaitu dengan bercocok tanam sehingga hasilnya dapat dimanfaatkan oleh manusia. Bahkan pada ayat tersebut juga dijelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air berupa hujan agar berbagai jenis tanaman yang ada di bumi dapat tumbuh.

Allah menurunkan hujan dari langit untuk menumbuhkan beberapa jenis tanaman yang beraneka ragam dan salah satunya yaitu tanaman Rosela. Pada ayat tersebut kata yang menunjukan tumbuhan yang beraneka ragam yaitu نَبَاتٍ شَتِّ .

Bila kita telaah kembali pada ayat tersebut, sesungguhnya Allah SWT telah memberikan semua kebaikan dan fasilitas bagi manusia, maka kewajiban manusialah untuk memelihara dan memanfaatkannya. Pemanfaatan suatu tanaman juga dijelaskan dalam hadits yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari dalam Kitab “Pertanian” bab “Keutamaan Menanam dan Makanan dari Tanaman Tersebut” sebagai berikut :

حَدِيثُ أَنَسٍ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَا مِنْ مُسْلِمٍ يَغْرِسُ غَرْسًا أَوْ يَزْرَعُ زَرْعًا فَيَأْكُلُ مِنْهُ طَيْرٌ أَوْ إِنْسَانٌ أَوْ بَهِيمَةٌ إِلَّا كَانَ لَهُ بِهِ صَدَقَةٌ

Artinya : Anas r.a berkata, bahwa Rasulullah SAW bersabda : “tiada seorangpun muslimpun yang menanam tanaman kemudian dimakan oleh burung, manusia, atau binatang lainnya melainkan tercatat untuk sebagai sedekah”

Hadits tersebut menganjurkan untuk membudidayakan suatu tanaman (يَزْرَعُ)

(زَرْعًا), serta menjelaskan bahwa tanaman yang tumbuh dapat dimanfaatkan baik itu oleh manusia maupun hewan. Pemanfaatan tanaman merupakan kewajiban bagi semua manusia. Beberapa penelitian berhasil membuktikan manfaat dari beberapa tanaman, hal tersebut merupakan bukti bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidak ada yang sia-sia. Penelitian yang banyak dilakukan diantaranya

yaitu pemanfaatan tanaman dalam bidang medis, mengingat pentingnya kesehatan bagi manusia.

Tanpa kita sadari, mikroorganisme yang bersifat merugikan seperti bakteri, virus dan parasit dengan mudah masuk dan menginfeksi seseorang. Hal tersebut dapat dihindari apabila seseorang memiliki sistem pertahanan tubuh yang bagus. Soewolo (2000) menyatakan, bahwa dalam tubuh manusia telah memiliki sistem pertahanan tubuh sejak lahir yang disebut *kekebalan bawaan* dengan adanya leukosit. Leukosit memiliki peranan penting dalam melawan mikroorganisme yang merusak dengan cara fagositosis dan melalui respon imun.

Komponen leukosit yang berperan dalam fagositosis yaitu sel mononuklear (monosit dan makrofag) dan polimorfonuklear, sedangkan komponen leukosit yang berperan dalam sistem pertahanan imun yaitu sel limfosit yang dapat menghasilkan antibody (Sherwood, 2001).

Sistem kekebalan tubuh seseorang dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu zat besi. Santos (1990) dalam Ekiz dkk; (2005) melaporkan, bahwa keadaan defisiensi besi dapat menurunkan jumlah total limfosit sebagai komponen dari leukosit. Penurunan pembentukan sel-sel limfosit disebabkan oleh berkurangnya sintesis DNA. Berkurangnya sintesis DNA ini disebabkan gangguan enzim reduktase ribonukleotida yang membutuhkan besi untuk dapat berfungsi (Almatsier, 2003).

Beberapa penelitian di Indonesia menunjukkan bahwa kekurangan zat besi merupakan penyebab utama terjadinya penyakit Anemia. Penderita Anemia karena defisiensi besi akan mudah terserang penyakit karena menurunnya sistem

pertahanan tubuh (Muhilal dan Karyadi, 1980). Penelitian Nalder (1972) telah membuktikan, bahwa defisiensi besi dapat menurunkan produksi antibody sebagai bentuk respon imun.

Terjadinya defisiensi besi merupakan salah satu contoh adanya gangguan metabolisme, maka apabila terjadi gangguan metabolisme yang parah produksi leukosit dapat berkurang (Guyton, 1983). Produksi leukosit yang berkurang dapat terjadi apabila komponen pendukung seperti zat besi dalam jumlah sedikit.

Kuantitas leukosit yang terdiri dari beberapa jenis memiliki peranan tersendiri dalam sistem imun. Keberadaan dan aktifitas leukosit dalam tubuh sebagai sistem pertahanan sangat patut untuk dipertahankan terutama sel limfosit. Limfosit berperan penting dalam memproduksi antibody, sedangkan produksi antibody dapat menurun bila terjadi defisiensi besi sebagaimana yang dijelaskan dalam penelitian Nalder tahun 1972.

Apabila leukosit sebagai sistem pertahanan berkurang, maka mikroorganisme mudah untuk menginfeksi seseorang. Hal tersebut menjadikan peneliti untuk mencari alternative dalam hal peningkatan kuantitas leukosit serta persentase limfosit tikus putih (*Rattus novergicus*) Anemia dengan memanfaatkan ekstrak kelopak Rosela.

Rosela merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat. Kandungan zat besi dalam 100 g kelopak bunga Rosela yaitu 8,98 mg serta memiliki kandungan vitamin C sebanyak 260-280 mg. Kelopak Rosela juga memiliki kadungan vitamin B dan beberapa asam amino esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh (Depkes RI; Kustyawati dan Ramli, 2008).

Vitamin C dapat mereduksi ion ferri (Fe^{3+}) menjadi ion ferro (Fe^{2+}) yang ada dalam saluran pencernaan sehingga mudah untuk diabsorpsi, selain itu juga dapat melepaskan besi dari transferin dalam plasma agar dapat bergabung dalam feritin yang ada pada jaringan (Winarno, 2004). Vitamin C dapat membantu konversi asam folat menjadi bentuk aktif serta dapat pemeliharaan fungsi imun seluler dan terbukti dapat melindungi fungsi sel-sel neutrofil (Subowo, 1993).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka dirumuskan permasalahan yaitu apakah ada pengaruh ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus putih (*Rattus novergicus*) Anemia ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus putih (*Rattus novergicus*) Anemia

1.4 Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus putih (*Rattus novergicus*) Anemia

1.5 Manfaat Penelitian

- 1) Secara teoritis penelitian ini sebagai sumbangan dalam bidang gizi dan kesehatan tentang pengobatan Anemia serta pemanfaatan tanaman obat di sekitar kita sebagai bentuk aplikasi *back to nature*
- 2) Secara praktis penelitian ini sebagai informasi bagi masyarakat tentang manfaat tanaman Rosela sebagai salah satu tanaman yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh

1.6 Batasan Masalah

- 1) Bagian Rosela yang digunakan berupa kelopak dan didapatkan dari Balai Materi Medica Batu
- 2) Hewan coba adalah tikus betina yang berumur ± 5 bulan dan memiliki berat badan ± 200 gr
- 3) Penelitian ini difokuskan pada kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus Anemia.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn)

2.1.1 Morfologi

Setiap jenis tumbuh-tumbuhan memiliki morfologi berupa bentuk, ukuran dan warna yang berbeda-beda. Allah SWT telah menjelaskan dalam Al-Quran sebagai berikut :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا
مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ
وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا
إِلَى ثَمَرِهِمْ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِمْ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya : “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”. (Q.S. al-An’am : 99).

Secara eksplisit ayat tersebut tidak menyebutkan kata morfologi secara langsung, tetapi ayat tersebut cukup menjelaskan karakteristik dari aspek morfologi suatu tumbuhan. Hal tersebut dijelaskan dengan adanya kata “hijau” (خَضِرًا), biji-bijian yang banyak (حَبًّا مُتَرَاكِبًا) dan tangkai- tangkai yang menjulang

(قنوان). Kata “hijau” (خَضِرًا) pada ayat tersebut secara morfologi menunjukkan warna daun yang mayoritas berwarna hijau, salah satu contohnya yaitu daun Rosela. Warna hijau yang terdapat pada daun menunjukkan adanya kandungan klorofil yang berperan dalam proses fotosintesis. Walaupun mayoritas daun berwarna hijau, tetapi secara morfologi masing-masing daun berbeda baik itu dalam bentuk, bagian-bagian daun, susunan tulang daun, warna maupun susunan daun itu sendiri.

Pada kalimat (حَبًا مُتْرَاكِبًا) bermakna “biji-bijian yang banyak”. Biji sebagai bentuk morfologi suatu tanaman juga memiliki perbedaan yang menjadi ciri khas suatu tanaman. Perbedaan tersebut dapat diketahui dengan adanya perbedaan warna, bentuk biji serta susunan biji tersebut. Pada umumnya biji terdiri dari kulit biji (*spermodermis*), tali pusar (*funiculus*) dan isi biji (*nucleus seminis*).

Selain kedua kata pada ayat tersebut, karakteristik morfologi juga ditunjukkan pada kata (قنوان) yang memiliki arti tangkai- tangkai. Kata tersebut dalam kitab tafsir *Jalalain* diartikan sebagai tunas-tunas buah yang tumbuh dari pucuknya (مِنْ طَلْعِهَا). Tunas-tunas buah yang dimaksud dalam ayat tersebut yaitu bunga sebagai alat reproduksi tumbuhan. Bunga merupakan salah satu bentuk luar dari suatu tumbuhan yang terdiri dari mahkota, kelopak, putih dan benang sari. Bentuk dan warna bunga berbeda antara suatu tumbuhan dan Rosela memiliki bunga yang berwarna merah muda.

Morfologi tumbuhan yang beraneka ragam tidak hanya menjadi pembeda antar setiap tumbuhan, tetapi juga menentukan fungsi masing-masing dalam kehidupan tumbuhan tersebut serta untuk mengetahui dari mana asal bentuk dan

susunannya. Morfologi yang berbeda pada setiap tumbuhan menjadi ciri khas tanaman.

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) merupakan herba tahunan yang bisa mencapai ketinggian 0,5-3 m. Batang bulat, berkayu dan berwarna merah. Daun tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cm dan lebar 5-8 cm (Maryani dan Kristiana, 2005).

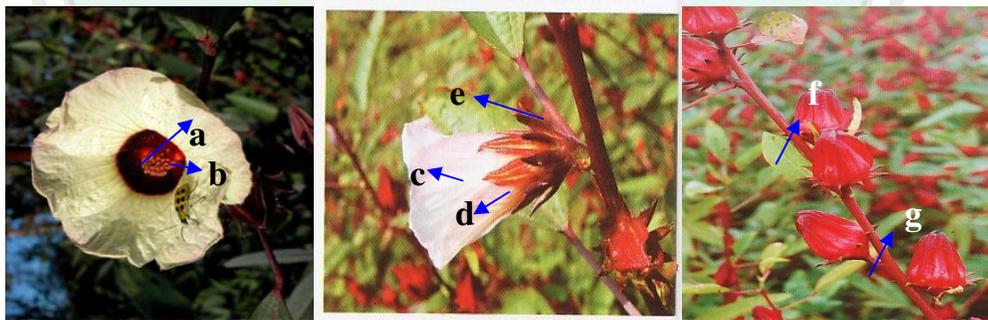
Menurut Loebis (1970), ukuran dan bentuk daun Rosela yaitu membesar dari bawah ke atas dan pada bagian atas akan membentuk daun yang lebih kecil terutama pada saat pembentukan bunga. Daun bercabang tiga dan pada ujung batang terdapat daun tunggal yang menyerupai lanset. Perubahan letak, besar dan ukuran daun tergantung dari varietas tanaman. Tangkai daun berwarna hijau dengan panjang 4-7 cm.

Bunga yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal, terdiri dari 8-11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan dan berwarna merah. bunga Rosela akan gugur dalam 24 jam setelah mekar, diikuti dengan menutupnya kelopak tambahan sebagai pelindung biji. Bunga Rosela disebut juga bunga duduk karena ukuran tangkainya yang pendek (Loebis, 1970).

Tangkai bunga Rosela beruas dengan panjang 1-2 cm. daun kelopak terbagi dalam 5 tajuk berbentuk lanset, berdaging tebal, merah tua atau kuning muda dengan tulang daun merah. Daun mahkota bulat telur terbalik dengan panjang 3-5 cm (Steenis, 2006).

Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian panjangnya 3-5 cm. tangkai sari yang merupakan tempat melekatnya kumpulan benang sari berukuran pendek dan tebal, panjangnya sekitar 5 mm dan lebar sekitar 5 mm. Putik berbentuk tabung berwarna kuning atau merah. Buahnya berbentuk kotak kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal berbulu, dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Biji berwarna putih saat masih muda dan setelah tua berwarna abu-abu. Akar tunggang dan berwarna putih (Maryani dan Kristiana, 2005).

Buah Rosela terbentuk 1-2 hari setelah penyerbukan terjadi dan umumnya beruang 5. pada setiap ruang terdapat dua barisan biji. Buah muda diselubungi oleh kulit tipis yang berwarna hijau kuning mengkilat. Seluruh bagian buah diselubungi oleh daun kelopak. Bentuk buah bulat, meruncing pada bagian ujung, menyerupai kapsul dan berwarna hijau kemerah-merahan (Loebis, 1970).



Gambar 1: Morfologi Tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) (a: Putik; b: Serbuk sari; c: Mahkota bunga; d: kelopak; e: tangkai daun; f: daun; g: tangkai bunga)(Yadong, 2005).

2.1.2 Habitat

Allah menumbuhkan jenis tumbuh-tumbuhan pada tanah subur dan cocok bagi setiap jenis tumbuhan. Hal tersebut telah dijelaskan dalam Al-quran pada surat Al-a'raf ayat 58 sebagai berikut :

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا
نَكِذًّا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya : “Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur”.

Suatu tanaman biasa ditanam atau tumbuh pada suatu jenis tanah sebagai habitatnya. Pada ayat tersebut Allah SWT membedakan jenis tanah menjadi dua macam, yaitu tanah subur (البلد الطيب) dan tanah tidak subur (خَبثَ). Tanah subur Kalimat البلد الطيب (tanah subur) pada ayat tersebut menjelaskan bahwa setiap tanaman dapat tumbuh dengan baik pada tanah subur yaitu tanah yang sesuai dan memiliki unsur hara yang cukup untuk pertumbuhan. Unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman berupa unsur hara makro meliputi : Ca, Mg, K, N, P, dan S dan unsur mikro yang terdiri dari : Fe, Mn, Bo, Cu, Zn, Mo, Cl (Salisbury , 1992).

Kata خَبثَ (tanah tidak subur) pada ayat tersebut, menjelaskan tentang tanah yang tandus ataupun jenis tanah yang tidak memiliki unsur hara yang cukup untuk pertumbuhan tanaman, sehingga tanaman tersebut tidak dapat tumbuh dengan baik. Suatu jenis tanaman yang ditanam pada tanah yang tidak subur, maka tidak akan mendapatkan hasil yang maksimal karena unsur hara yang terdapat dalam tanah sangat mendukung dalam proses perkembangan dan pembelahan sel tanaman tersebut.

Bila kita telaah kembali, pembagian jenis tanah berdasarkan komponen yang terdapat di dalamnya merupakan bukti tanda kebesaran Allah SWT, sehingga menjadi kewajiban manusia untuk mengolah tanah tersebut sebagai bentuk rasa syukur atas nikmat yang telah diberikan-Nya. Hal tersebut telah dijelaskan pada kalimat **كذلك نصرف الايت لقوم يشكرون**

Suatu tanaman dapat tumbuh pada habitat yang sesuai dan memiliki unsur hara yang cukup, begitupula dengan tanaman Rosela yang dapat tumbuh baik di daerah beriklim tropis dan subtropis. Tekstur tanah liat berpasir dengan pH tanah antara 5,2-6,4 merupakan kondisi yang cocok bagi tanaman Rosela (Santoso, 2006).

Rosela dapat tumbuh dengan baik pada daerah dengan ketinggian maksimum 900 m dpl dan curah hujan 182 cm selama musim pertumbuhannya (Ayu, 2005). Rosela dapat tumbuh pada suhu 25°C- 27° C. kelembaban yang baik akan mempercepat pertumbuhan, sedangkan suhu yang dingin, angin yang kencang dan kondisi kabut akan memberikan pengaruh yang sebaliknya (Loebis, 1970).

2.1.3 Kandungan Kimia dan Nilai Gizi Kelopak Rosela

Kandungan kimia yang terdapat dalam Rosela diantaranya sebagai berikut : *flavanoid*, *saponin* dan *polifenol*. Zat aktif yang paling berperan dalam kelopak bunga Rosela meliputi *gossypetin*, *antosianin* sebagai anti oksidan, dan *glukosida hibiscin*. DepKes RI No SPP 1065/35.15/05 menyatakan bahwa setiap 100 gram kelopak bunga Rosela kering mengandung 260-280 mg vitamin C, vitamin D, vitamin B, kalsium 486 mg, Omega-3, magnesium, beta karoten, serta asam

amino esensial seperti lysine dan arginin. Selain itu juga terdiri dari protein 1,145 gr, lemak 2,61 gr, serat 12 gr, kalsium 1,263 gr, fosfor 273,2 mg, zat besi 8,98 mg, malic acid 3,31%, fruktosa 0,82%, sukrosa 0,24%, karoten 0,029%, tiamin 0,117mg dan niasin 3,765 mg (Kustiywati dan Ramli, 2008).

2.1.4 Manfaat

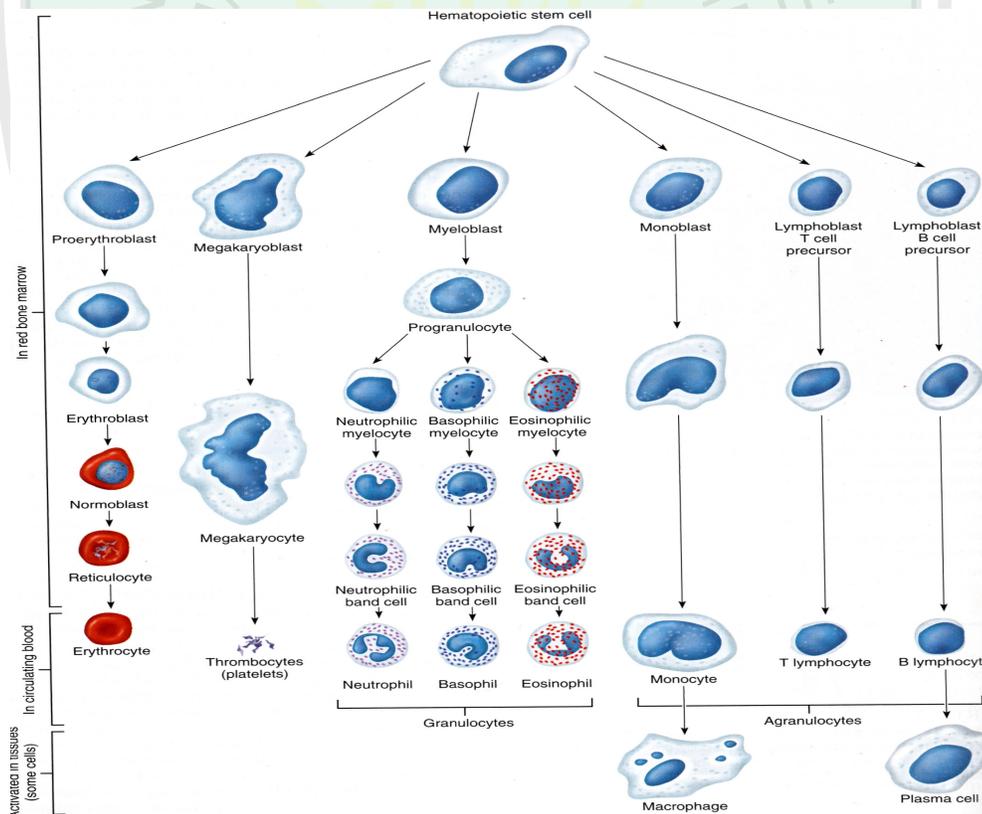
Penggunaan daun dan kelopak bunga yang direbus dengan air di negara India, Afrika dan Meksiko diakui berkhasiat sebagai peluruh kencing dan merangsang keluarnya empedu dari hati serta dapat menurunkan tekanan darah, menurunkan absorpsi alkohol, mengurangi kekentalan darah, sebagai antiseptik usus dan meningkatkan peristaltik usus. Manfaat lain dari kelopak bunga Rosela sebagai berikut : antikejang, mengobati cacingan, mengurangi batuk dan sebagai anti bakteri. Daun rosela bermanfaat untuk mengobati kaki pecah-pecah, mempercepat pematangan bisul sekaligus bersifat melembutkan kulit. Biji tanaman ini bermanfaat sebagai diuretik, tonikum, menyembuhkan gangguan pencernaan, merangsang defekasi dan meningkatkan stamina (Maryani dan Kristiana, 2005).

Beberapa penelitian tentang ekstrak kelopak Rosela telah dilakukan, salah satunya yaitu penelitian Arellano (2004) menyatakan, bahwa ekstrak kelopak Rosela mampu menurunkan tekanan darah tinggi. Pemberian ekstrak Rosela juga dapat menghambat terjadinya atherosklerosis serta dapat menurunkan kadar trigliserida, dan kolesterol (Chen, 2003; Maryani dan Kristina, 2005).

2.2 Leukosit

2.2.1 Pembentukan Leukosit

Soewolo (2005) menyatakan bahwa proses pembentukan sel-sel darah disebut hematopoiesis atau hemopoiesis. Selama masa embrional dan fetal, produksi sel darah dapat dilakukan oleh hati, limpa, kelenjar tymus, nodus limfe dan sumsum tulang. Pada saat dewasa, jaringan hemopoietik dipisah menjadi dua jenis yaitu *jaringan mieloid* atau sumsum tulang dan *jaringan limfoid* yang banyak terdapat pada nodus limfe. Skema pembentukan sel darah ditunjukkan pada gambar berikut :



Gambar 2 : Skema Hematopoiesis (Tortora, 1978; Soewolo, 2005).

Semua leukosit berasal dari sel batang (*Hemositoblas*) yang diproduksi oleh jaringan sumsum tulang. Pada pembentukan leukosit, Hemositoblas (sel batang atau sel induk) akan berdiferensiasi menjadi Mioloblas, limfoblas dan monoblas. Mioloblas akan berkembang menjadi neutrofil, eosinofil dan basofil dewasa, sedangkan limfoblas akan berkembang menjadi limfosit, sedangkan monoblas berkembang menjadi monosit (Soewolo, 2005).

Mieloblas adalah sel imatur yang memiliki kromatin yang tersebar merata, nukleoli dapat dilihat. Pada tahap berikutnya, promielosit ditandai oleh sitoplasma basofiliknya dan granula azurofilik. Granula ini mengandung enzim lisosomal dan mieloperoksidase. Tanda diferensiasi pertama muncul dalam mielosit, dimana granula spesifik secara bertahap meningkat dalam jumlah dan akhirnya menempati hampir sebagian besar sitoplasma. Mielosit neutrofilik, basofilik, dan mielosit eosinofil menjadi matang dengan pepadatan nukleus lebih lanjut dan sangat meningkat kandungan granula spesifiknya (Junquire, 1993).

Monoblas adalah progenitor yang memiliki morfologi yang sebenarnya identik dengan mieloblas. Diferensiasi selanjutnya menghasilkan promonosit yang merupakan sel besar dengan diameter sampai 18 μm dengan sitoplasma basofil dan sebuah inti besar yang sedikit berlekuk. Kromatin jarang dan nukleolus jelas, promonosit membelah dua kali dalam perjalanan perkembangannya menjadi monosit. Terdapat sejumlah retikulum endoplasma kasar, dan sebuah kompleks golgi yang memperlihatkan kondensasi granula (Junquire, 1993).

Kelompok leukosit Granular dan monosit hanya dihasilkan di sumsum tulang dan dikeluarkan dalam darah dengan bentuk leukosit matang. Limfosit

semula berasal dari sumsum tulang, tetapi sebagian besar limfosit baru dihasilkan oleh limfosit yang sudah dan berdiam di jaringan limfoid (jaringan yang mengandung limfosit) seperti pada nodus limfatikus, thymus, dan limpa dari stem sel yang berasal dari sumsum tulang (Sherwood, 2001).

Organ limfoid adalah organ yang diperlukan untuk pematangan, diferensiasi dan proliferasi limfosit. Organ limfoid terbagi menjadi dua bagian yaitu : *organ limfoid primer* atau sentral yang diperlukan untuk pematangan sel T dan sel B menjadi limfosit yang dapat mengenal antigen dan *organ limfoid sekunder* yang diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit yang sudah disensitisasi (*antigen committed lymphocyte*). Organ limfoid primer terdiri dari kelenjar timus dan *Bursa Fabricus*, sedangkan organ limfoid sekunder terdiri dari : limpa, kelenjar limfoid dan *peyer's patches* yang tersebar di dinding saluran cerna, tonsil dan apendiks (Baratawidjaja, 1996).

2.2.2 Jenis dan Fungsi Leukosit

Dalam mikroskop cahaya, leukosit memiliki granula spesifik (granulosit) yang dalam keadaan hidup berupa tetesan setengah cair, dalam sitoplasma memiliki bentuk inti yang bervariasi, yang tidak mempunyai granula sitoplasma homogen dengan inti bentuk bulat atau ginjal (Effendi, 2003).

Soewolo (2000) menyatakan bahwa, leukosit merupakan salah satu bagian dari komposisi darah dan berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh yang bergerak. Leukosit memiliki inti tetapi tidak memiliki hemoglobin, sehingga tidak berwarna kecuali apabila diberi pewarna. Leukosit bervariasi dalam struktur, fungsi dan jumlah.

Leukosit terbagi atas dua kelompok yaitu leukosit granulosit (sel yang mengandung granula) polimorfonukleus (banyak bentuk nukleus) dan agranulosit (sel tanpa granula) mononukleus (satu nukleus). Jenis leukosit granulosit yaitu Neutrofil, Basofil dan Eosinofil, sedangkan jenis leukosit agranulosit yaitu limfosit dan monosit (Sherwood, 2001). Pendeskripsikan jenis-jenis leukosit dijelaskan sebagai berikut :

a) Neutrofil

Neutrofil dibentuk dalam sumsum tulang, berdiameter 12 μm , inti 2-5 lobli (umum 3 lobli). Tiap lobus dihubungkan oleh kromatin. Granula dalam sitoplasma berdiameter 0,3-0,8 μm , dapat diwarnai dengan cara Romanovsky yang bersifat netral, menjadi warna merah muda. Dapat bergerak amoeboid, ke luar kapiler darah, dan aktif memfagosit terhadap benda asing terutama bakteri dan virus. Neutrofil meningkat jumlahnya pada saat tubuh mengalami penyakit infeksi bakteri (Yatim, 1996).

Granul pada neutrofil ada dua yaitu *granul Azurofilik* yang mengandung enzim neutromidase (lisozim), myloperoksidase dan hidrolase asam dan *granul spesifik* yang lebih kecil mengandung fosfatase alkali dan zat-zat bakterisidal (protein kationik) yang dinamakan *fagositin*. Adanya asam amino D oksidase dalam granula azurofilik penting dalam penceran dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D (Effeendi, 2003).

Apabila bakteri menyerang tubuh, maka sumsum tulang akan dirangsang untuk menghasilkan dan mengeluarkan neutrofil dalam jumlah

banyak. Neutrofil merupakan garis pertahanan utama terhadap infeksi bakteri dengan cara fagositosis (Ganong, 1983).

Neutrofil dan monosit dapat ditekan melalui pori-pori pembuluh darah dengan proses *Diapedesis*, selain itu neutrofil dan makrofag akan bergerak menuju jaringan yang mengalami peradangan dengan adanya zat kimia dalam jaringan tersebut, fenomena tersebut dikenal dengan sebutan *Kemotaksis*.

b) Eosinofil

Eosinofil terdiri dari 1% - 3% dari semua leukosit, dibentuk dalam sumsum tulang berdiameter 9 μm , inti memiliki 2 lobi. Granula dapat diwarnai dengan eosin (granula yang bersifat asidofilik) sehingga berwarna kemerahan, diameter 0,5 -1,5 μm . Dapat bergerak amoeboid, ke luar kapiler darah (*diapedesis*), dan aktif memfagositosis, tapi lebih kurang aktif daripada neutrofil. Jumlahnya akan meningkat pada penyakit infeksi karena parasit dan pada penderita alergi (Yatim, 1996).

Eosinofil tidak dapat memakan cacing parasitik yang berukuran jauh lebih besar, tetapi sel-sel ini melekat pada cacing dan mengeluarkan bahan-bahan yang dapat mematikan cacing tersebut. Rseptor yang dimiliki oleh eosinofil yaitu IgE yang terdapat pada permukaannya dan berperan pada imunitas parasit (Sherwood, 2001).

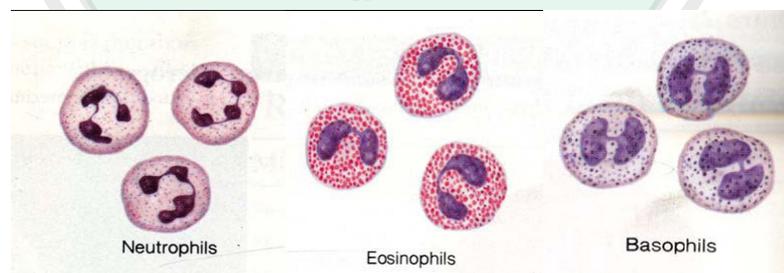
Eosinofil memfagositosis kompleks antigen dan anti bodi, ini merupakan fungsi eosinofil untuk melakukan fagositosis selektif terhadap kompleks antigen dan antibody. Eosinofil mengandung profibrinolisin,

diduga berperan mempertahankan darah dari pembekuan, khususnya bila keadaan cairnya diubah oleh proses-proses Patologi (Effeendi, 2003).

c) Basofil

Basofil kurang dari 1% dari semua leukosit, dibentuk dalam sumsum tulang diameter 12 μm , granula berdiameter 1-1,5 μm , dapat diwarnai dengan cara Romanovsky sehingga berwarna violet. Sebagai respon terhadap Ag sel ini mengeluarkan histamin dan heparinnya. Sel ini juga dapat bergerak amoeboid, keluar dari pembuluh kapiler, lalu memfagositosis. Jumlahnya akan meningkat pada reaksi alergi (Yatim, 1996).

Granula mengandung histamin dan heparin. Histamin dikeluarkan ketika terjadi alergi, sedangkan heparin berfungsi untuk mempercepat pembersihan partikel-partikel dari darah setelah pengonsumsi makanan berlemak (Sherwood, 2001). Fungsi lain dari histamin dan heparin yaitu berperan dalam mempertahankan keseimbangan normal antara sistem pembekuan dan sistem anti pembekuan (Ganong, 1983).



Gambar 3: Jenis Leukosit Granulosit (Heru, 2008).

d) Limfosit

Limfosit berupa sel bundar, berdiameter 6-15 μm (yang terkecil kira-kira sebesar eritrosit). Inti relatif sangat besar dibandingkan dengan sitoplasma, yang tinggal berupa selaput tipis, kemampuan bergerak amoeboid dan memfagositosis lebih lemah dari leukosit bentuk lain yang bergranular tetapi dapat membentuk antibodi (Yatim, 1996). Smith (1998) dalam Malrasari (2003) menyatakan bahwa, persentase limfosit dalam darah yaitu 63-84%.

Limfosit terdiri dari 2 jenis yaitu limfosit T dan limfosit B. Limfosit B menghasilkan antibodi yang beredar dalam darah. Antibodi berikatan dan memberi tanda untuk destruksi (melalui fagositosis) benda asing tertentu, misalnya bakteri yang menginduksi pembentukan antibodi tersebut. Limfosit T tidak dapat menghasilkan antibodi, tetapi sel-sel ini langsung menghancurkan sel-sel sasaran spesifik (Sherwood, 2001). Limfosit T juga berperan dalam pengaktifan makrofag dalam fagositosis serta mengontrol ambang dan kulaitas sistem imun (Baratawidjaja, 1996).

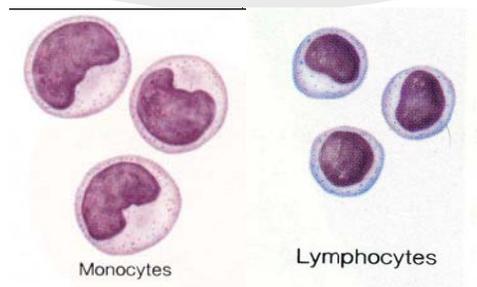
Limfosit B berperan dalam sistem imun humoral. Sistem imun humoral merupakan suatu bentuk sintesa dengan masuknya antibodi dalam aliran darah dan cairan tubuh. Anti bodi ini akan mengikat dan menetralsir antigen seperti toksin bakteri ataupun mikroorganisme lain. Limfosit T berperan dalam sistem imun seluler, yaitu dengan terjadinya pembentukan limfosit yang terangsang dan menimbulkan kekebalan seluler (Sujudi, 1994).

Perbedaan antara limfosit T dan limfosit B yaitu, pada limfosit T mempunyai permukaan sel yang rata, sedangkan limfosit B mempunyai sangat banyak penonjolan halus yang tampak sangat aktif. Perbedaan keduanya hanya dapat diketahui dengan menggunakan *scanning elektron microscope* (Sujudi, 1994).

e) Monosit

Monosit dibentuk dalam sumsum tulang, 7% dari semua leukosit. Diameter 10-12 μm . Inti lonjong melengkung seperti bentuk huruf U, terletak di tepi (eksentrik). Nukleoli 2-3 biji dan mengandung mikrovilli. Dapat keluar pembuluh kapiler secara amoeboid, lalu berdiferensiasi menjadi makrofag untuk memfagositosis bakteri atau benda asing serta sel-sel yang sudah mati (Yatim, 1996).

Monosit merupakan sel fagosit aktif yang mengandung peroksidase dan enzim lisosom. Monosit masuk dalam sirkulasi dari sumsum tulang, tetapi setelah kira-kira 24 jam monosit masuk jaringan untuk menjadi makrofag jaringan seperti sel-sel kupffer hati, sel alveolar paru-paru, mikroglia dalam otak dan makrofag tetap dalam jaringan subkutis (Ganong, 1983).



Gambar 4: Jenis Leukosit Agranulosit (Heru, 2008).

Makrofag dapat hidup lama berkisar bulanan sampai tahunan, Sel fagositik hanya dapat memakan benda asing dalam jumlah terbatas sebelum akhirnya mati (Sherwood, 2001). Makrofag merupakan sel fagositik yang aktif dan mengandung banyak lisosom, yakni granula dalam sitoplasma yang berisi berbagai enzim penghancur mikroba (Utama dan Tjokronegoro, 1982).

2.3 Deskripsi Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

2.3.1 Morfologi

Semua makhluk ciptaan Allah SWT dapat dibedakan antara satu dengan yang lain baik itu dari morfologi maupun cara berjalan. Allah berfirman sebagai berikut :

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya : “Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendakinya, sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu. (Q.S. An-Nur : 45).

Pada ayat tersebut Allah menggolongkan hewan berdasarkan cara berjalan mereka. Jenis hewan pertama; hewan melata yang berjalan dengan perutnya, jenis hewan kedua; hewan yang berjalan dengan 2 kaki dan yang ketiga; hewan yang berjalan dengan 4 kaki. Contoh hewan yang berjalan dengan perutnya yaitu : cacing, ular, kadal, ulat dan sebagainya; hewan yang berjalan dengan 2 kaki

diantaranya yaitu burung, ayam, manusia dan sebagainya. Tikus merupakan hewan yang berjalan dengan 4 kaki, namun kaki bagian depan berfungsi sebagai tangan bila tikus tersebut makan.

Tikus termasuk pada golongan hewan mamalia dan memiliki organ tubuh yang hampir sama dengan manusia. Oleh karena itu, tikus digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian. Selain itu, tikus memiliki kemampuan untuk membedakan makanan atau minuman yang bagus untuknya. Hal tersebut dijelaskan dalam suatu hadits yang diriwayatkan oleh Bukhari dan Muslim dalam kitab Al-Bayan sebagai berikut :

أَرَاهَا إِلَّا الْفَأْرَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ فَقَدَتْ أُمَّةٌ مِنْ بَنِي إِسْرَائِيلَ لَا يُدْرِمَا فَعَلَتْ وَلَا
أَلَا تَرَوْنَهَا إِذَا وُضِعَ لَهَا الْبَّانُ الْإِبِلِ لَمْ تَشْرَبْهُ وَإِذَا وُضِعَ لَهَا الْبَّانُ الشَّاءِ شَرِبَتْهُ قَالَ أَبُو هُرَيْرَةَ فَحَدَّثْتُ

Artinya : *Suatu kaum dari Bani Israil telah hilang lenyap tanpa diketahui sebab apa yang dikerjakan dan tidak terlihat kecuali (dalam bentuk) tikus. Tidaklah kamu lihat jika tikus itu diberi susu unta, ia tidak meminumnya, tetapi jika diberi susu kambing ia meminumnya (H.R. Bukhari dan Muslim).*

Hadits tersebut menjadikan tikus sebagai perumpamaan, karena tikus dapat memiliki kemampuan untuk membedakan sesuatu, salah satunya yaitu minuman. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang memiliki ukuran tubuh lebih besar dibandingkan dengan mencit. Tikus putih berbeda dengan hewan coba lainnya karena tikus tidak pernah muntah. Tubuh tikus tertutupi bulu dan lambung tikus terdiri dari dua bagian yaitu nonglandular dan glandular serta memiliki *small intestine* yang terdiri dari *duodenum*, *junenum* dan *ileum*. Pada umur 2 bulan berat badan dapat mencapai 200-300 gram (Kusumawati, 2004).

Mitruka (1981) dan Loeb (1989) dalam Kusumawati (2004), menyatakan bahwa gambaran hematologi leukosit tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai berikut : leukosit = 3000-15000 /mm³, neutrofil= 1100-4000/ mm³, eosinofil = 0-80/ mm³, basofil = 0-4000/ mm³, limfosit = 4000-10000/ mm³ dan monosit = 0-100 mm³.

2.3.2 Klasifikasi Tikus (*Rattus norvegicus*)

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

Sub kingdom : Metazoa
Pylum : Chordata
Class : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*.

2.4 Natrium Nitrit (NaNO₂)

Nitrit dan nitrat adalah komponen yang mengandung nitrogen berikatan dengan oksigen, nitrat mengikat tiga atom oksigen, sedangkan nitrit mengikat dua atom oksigen. Nitrat sudah diubah di alam menjadi bentuk nitrit atau bentuk lainnya. Bentuk garam nitrat dan nitrit tidak berwarna dan tidak berbau serta tidak berasa dan bersifat higroskopis (Winarno, 2002).

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. Penggunaan natrium nitrat tidak tanpa risiko karena bila berlebihan dapat mengakibatkan methemoglobinemia yang dapat menyebabkan hipoksia atau hipotensi, untuk itu maka jumlah methemoglobin harus dikontrol. Penggunaan natrium nitrit tidak direkomendasikan untuk pasien yang memiliki kekurangan glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6DP) dalam sel darah merahnya karena dapat menyebabkan reaksi hemolisis yang serius (Meredith, 1993; Tintus 2008).

Linder (1993) dalam Agustina (2007), menyatakan bahwa aspek yang kurang higienis dari Nitrit adalah bila dikonsumsi secara berlebihan dapat menyebabkan terjadinya oksidasi hemoglobin menjadi met-hemoglobin dalam eritrosit berkurang. Efek lain yang timbul karena pengonsumsiannya yang berlebihan diantaranya dapat menyebabkan keracunan, mempengaruhi kemampuan sel-sel darah dalam membawa oksigen ke seluruh tubuh, menyebabkan sulit bernafas, sakit kepala, anemia, radang ginjal dan muntah-muntah.

Methemoglobin diperoleh apabila oksihemoglobin atau hemoglobin tereduksi oksidasi dengan menggunakan $\text{Fe}(\text{CH})_3$. Methemoglobin biasanya kehilangan afinitas terhadap oksigen. Dalam peredaran darah dalam keadaan normal sebetulnya ada sedikit methemoglobin ($\pm 0,1\%$) yang dihasilkan dari oksidasi oleh oksidator yang ada dalam darah atau oleh faktor keturunan. Beberapa obat yang mengandung nitrit, klorat, sulfanilamid dapat meningkatkan persentase methemoglobin dalam darah (Soewolo, 2000).

2.5 Anemia

2.5.1 Definisi Anemia

Anemia merupakan suatu kondisi penurunan kadar Hemoglobin darah di bawah normal. Anemia dapat disebabkan oleh kekurangan salah satu atau beberapa zat gizi yang dapat membantu dalam pembentukan Hemoglobin. Zat gizi tersebut diantaranya adalah : zat besi, vitamin C, vitamin B₁₂, protein dan asam folat (Muhilal dan Karyadi, 1980).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penyebab utama terjadinya Anemia yaitu dikarenakan kekurangan zat besi dalam tubuh. Hal tersebut dikarenakan ketidak seimbangan antara kebutuhan zat besi untuk proses metabolisme dalam tubuh dengan zat besi yang dikeluarkan. Penyakit Anemia karena defisiensi besi pada umumnya diderita oleh wanita terutama oleh ibu hamil karena kebutuhan zat besi yang semakin banyak dalam proses perkembangan janin yang juga membutuhkan zat besi (Riswan, 2003).

Batas kadar normal hemoglobin berdasarkan kelompok umur menurut WHO dalam Rasmaliah (2004), adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Kadar Normal Hemoglobin Berdasarkan Kelompok Umur

Kelompok Umur	Kadar Hb (g/100ml)
6 bulan s/d 6 tahun	11
6 tahun s/d 14 tahun	12
Laki-laki dewasa	13
Wanita dewasa tidak hamil	12
Wanita hamil	11

(Sumber : WHO, 1968)

2.5.2 Klasifikasi Anemia

Hughes (1994), dalam Panjaitan (2003), menyatakan bahwa berdasarkan berat ringannya Anemia dibagi atas 3 tingkatan yaitu ringan, sedang, dan berat yang ditunjukkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 2. Anemia Berdasarkan Berat–ringan

Jenis Anemia	Ringan	Sedang	Berat
Hemoglobin (gr/dL)	> 10 – 12	8 – 10	< 8

2.5.3 Penyebab Anemia

Hilman (2001) dalam Riswan (2003), menyatakan bahwa banyak faktor yang dapat menyebabkan timbulnya Anemia defisiensi besi, antara lain kurangnya asupan zat besi dan protein dari makanan, adanya gangguan absorpsi di usus, perdarahan akut maupun kronis, dan meningkatnya kebutuhan zat besi seperti pada wanita hamil, masa pertumbuhan, dan masa penyembuhan dari penyakit

2.5.4 Tanda-Tanda Anemia

Faibank dkk (2001) dalam penelitian Panjaitan (2003), menyatakan bahwa tanda dan gejala Anemia yang dijumpai berdasarkan berat–ringannya anemia adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Tanda Dan Gejala Anemia Berdasarkan Berat–Ringan

No	Anemia ringan	Anemia sedang	Anemia berat
1	Kelelahan	Kelelahan	Overwhelming
2	Peningkatan detak jantung	Sulit konsentrasi	Kelelahan
3	Penurunan perfusi jaringan	Detak jantung > 100 x / menit	Pening
4	Dilatasi sistem vaskular	Berdebar–debar	Pusing
5	Ekstraksi O ₂ jaringan naik	Dispnea saat aktivasi	Depresi–Gangguan tidur

2.6 Zat Besi

2.6.1 Peranan Zat Besi

Besi merupakan mineral mikro dan hanya terdapat dalam jumlah yang kecil dalam tubuh manusia yaitu 35 mg per kg berat badan wanita atau 50 mg per kg berat badan pria. Besi dalam tubuh sebagian terleak dalam eritrosit sebagai *heme*, suatu pigmen yang mengandung inti sebuah atom besi. Dalam sebuah molekul hemoglobin terdapat empat *heme* (Winarno, 2004).

Besi dalam eritrosit berfungsi dalam sintesis dan metabolisme eritrosit. Mineral tersebut bertindak sebagai pembawa oksigen yang diperlukan untuk melepas tenaga dalam tubuh (Harper, 2006). Besi juga terdapat dalam sel-sel otot khususnya mioglobin. Mioglobin hanya terdiri dari satu pigmen *heme* untuk setiap protein (Winarno, 2004).

Keberadaan zat besi juga mempengaruhi terhadap leukosit sebagai sistem imun. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa kekurangan zat besi akan meningkatkan infeksi yang diikuti dengan gangguan pada perkembangan jaringan sistem imun. Dampak lain karena kekurangan zat besi yaitu dapat mengurangi sintesis protein yang terlibat dalam respon imun seperti antibody, mengakibatkan gangguan aktivitas seluler dan respon imun seluler seperti sel NK, sel Neutrofil dan fungsi pembunuhan sel-sel tumor (Subowo, 1993).

Sumber yang baik akan besi meliputi hati, telur, daging, kacang-kacangan, sayur yang berwarna hijau dan lain-lain (Harper, 2006). Zat besi pada hewan mempunyai ketersediaan biologis tinggi, sedangkan kacang-kacangan memiliki ketersediaan biologis sedang karena adanya lapisan luar biji-bijian yang

mengandung asam fitat yang dapat menghambat absorpsi zat besi. Pada sayur-sayuran memiliki ketersediaan rendah karena sayuran mengandung asam oksalat dan serat yang juga dapat menghambat absorpsi zat besi (Winarno dan Hariani, 2008).

2.6.2 Metabolisme Zat Besi

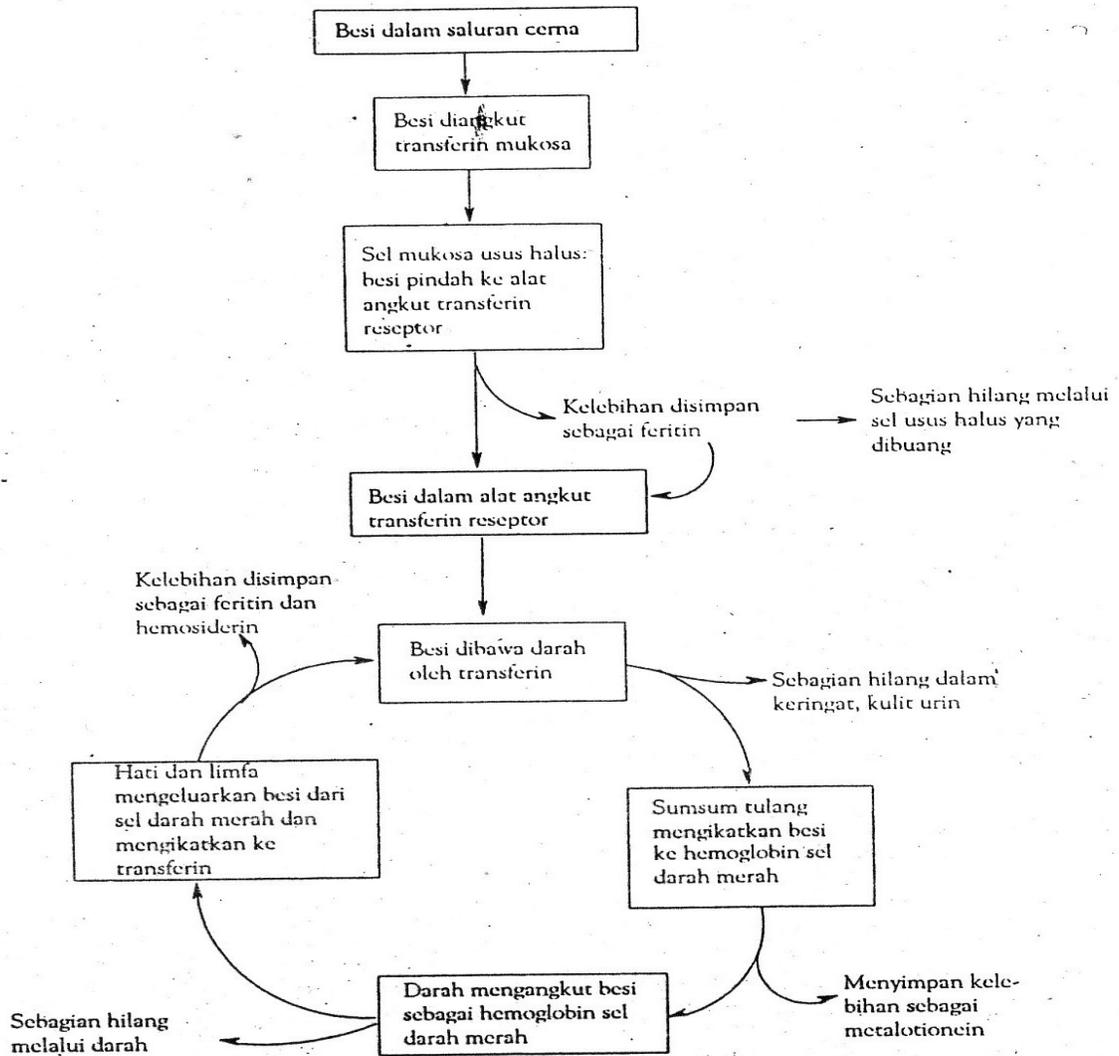
Besi dalam tubuh berasal dari tiga sumber yaitu besi hasil perusakan eritrosit (hemolisis), besi dari penyimpanan dalam badan dan besi yang diserap dari saluran pencernaan. Beberapa sumber besi tersebut besi hasil hemolisis merupakan sumber utama (Winarno, 2004).

Absorpsi besi terjadi di bagian atas usus halus dengan bantuan alat angkut protein khusus yaitu transferin dan feritin. Transferin merupakan protein yang disintesis dalam hati dan terdiri dari 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 (Almatsier, 2003).

Pada saluran pencernaan besi mengalami proses reduksi dari bentuk feri menjadi ferro yang mudah diserap. Proses reduksi dibantu oleh adanya vitamin C dan asam amino (Winarno, 2004).

Husaini (1989), dalam penelitian Rasmaliah (2004), menyatakan bahwa setiap hari *turn over* zat besi ini berjumlah 35 mg, tetapi tidak semuanya harus didapatkan dari makanan. Sebagian besar yaitu sebanyak 34 mg didapat dari penghancuran sel-sel darah merah yang tua, yang kemudian disaring oleh tubuh

untuk dapat dipergunakan lagi oleh sum-sum tulang untuk pembentukan sel-sel darah merah baru. Hanya 1 mg zat besi dari penghancuran sel-sel darah merah tua yang dikeluarkan oleh tubuh melalui kulit, saluran pencernaan dan air kencing. Jumlah zat besi yang hilang lewat jalur ini disebut sebagai kehilangan basal

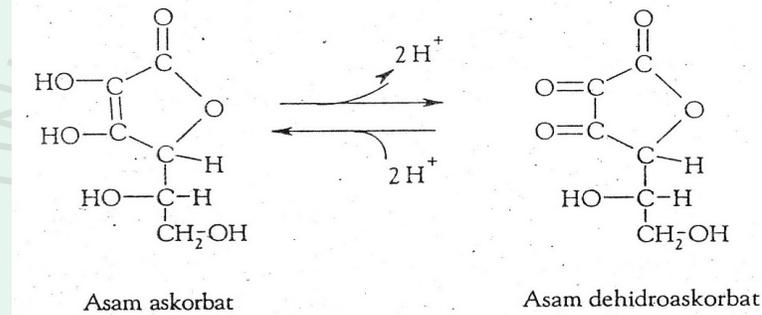


Gambar 5 : Skema perjalanan besi dalam tubuh (Whitney dan Rolfes, 1993; Almtsier, 2003).

2.7 Vitamin C

2.7.1 Peranan Vitamin C

vitamin C merupakan vitamin larut dalam air. Vitamin C dapat berbentuk sebagai asam L-askorbat dan asam L-dehidroaskorbat, keduanya mempunyai keaktifan sebagai vitamin C. vitamin C sangat mudah teroksidasi secara reversibel menjadi asam L-dehidroaskorbat, asam L-dehidroaskorbat secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan vitamin C lagi (Winarno, 2004)



Gambar 6 : Vitamin C (Asam askorbat) dan bentuk oksidasinya asam dehidroaskorbat (Almatsier, 2003)

Peranan vitamin C dalam sistem metabolisme tubuh sangat dibutuhkan, salah satunya yaitu dapat meningkatkan absorpsi besi dalam bentuk non-hem serta berperan dalam memindahkan besi dari transferin dalam plasma ke feritin hati. Fungsi lain dari vitamin C yaitu dapat meningkatkan daya tahan terhadap infeksi yang berhubungan dengan fungsi kekebalan tubuh, serta mencegah dan menyembuhkan kanker dengan cara mencegah pembentukan nitrosiamin yang bersifat karsinogenik (Almatsier, 2003).

Sumber pangan yang memiliki vitamin C yaitu buah-buahan, sayuran berwarna hijau dan tomat. Daun yang hijau tua seperti daun singkong, pepaya, atau ubi jalar menyediakan lebih banyak vitamin C (Harper, 2006).

2.7.1 Metabolisme Vitamin C

Vitamin C menghambat pembentukan hemosiderin yang sukar dimobilisasi untuk membentuk besi bila diperlukan. 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 sehari. Vitamin C akan dibawa ke semua jaringan. Konsentrasi tertinggi di dalam jaringan adrenal, pituitari, dan retina (Almatsier, 2003).

Vitamin C dapat dioksidasi secara reversibel menjadi dehydro vitamin C dan katabolisme lebih lanjut menghasilkan asam oksalat. Kadar vitamin C dalam jaringan tubuh dan dalam darah yang dianggap normal adalah : 0,8 – 10 mg tanpa Buffy Coat kadarnya 24,2 mg (Sediaoetomo, 1985).

Kelebihan vitamin C dibuang melalui urin. Apabila seseorang mengkonsumsi makanan yang bergizi tinggi, maka sebagian besar vitamin C akan keluar melalui urin, namun apabila seseorang mengkonsumsi makanan dengan gizi yang rendah maka vitamin C akan ditahan oleh jaringan (Winarno, 2004).

Menurut Field dkk (2002), vitamin C merupakan komponen esensial pada kehidupan setiap sel. Dalam leukosit, vitamin C terdapat dalam konsentrasi yang tinggi dan digunakan sebagai komponen pertahanan bila terjadi infeksi.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 ulangan yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kuantitas leukosit tikus (*Rattus novergicus*) Anemia

3.2 Variabel Penelitian

- 1) Variabel bebas : pemberian dosis ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*)
- 2) Variabel terikat : penghitungan jumlah leukosit dan persentase limfosit tikus putih (*Rattus novergicus*)
- 3) Variable terkendali : jenis kelamin, umur, kandang, perawatan (pelet dan minun).

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2009 di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Populasi dan Sampel

Populasi dalam percobaan ini adalah tikus putih betina yang berada di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Jumlah sampel yang digunakan adalah 24 ekor berumur 5 bulan dengan berat badan \pm 200 gram.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut : kandang (bak plastik), gelas ukur, mikroskop, timbangan, haemocytometer, hand counter, spuit tumpul, papan section, tutup kasa kawat, botol dengan pipa logam dan syringe 3 ml

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut : hewan coba Tikus putih (*Rattus novergicus*) betina sebanyak 24 ekor, bahan makanan tikus berupa pellet, bahan minum tikus berupa air ledeng, alkohol 70 %, metil alkohol, Giemsa 10 %, Na Sitrat, tissue, serbuk gergaji, kapas, larutan turk, aquades serta serbuk kelopak Rosela dengan dosis 0,18 g/ekor /hari, 0,36 g/ekor /hari, 0,72 g/ekor /hari.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Persiapan hewan coba

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus novergicus*) betina sebanyak 24 ekor diaklimatisasi dalam kandang selama 1 minggu

3.6.2 Persiapan Perlakuan

- a) Ekstrak rosela dengan dosis 0,18 g/ekor /hari, 0,36 g/ekor /hari dan 0,72 g/ekor /hari dipersiapkan

3.6.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

- a) Kelompok I : diberi air ledeng.
- b) Kelompok II : diberi ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,18 g/ekor /hari.
- c) Kelompok III : diberi ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,36 g/ekor /hari.
- d) Kelompok IV : diberi ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,72 g/ekor /hari.

3.6.4 Penentuan Dosis Ekstrak Kelopak Rosela

Penelitian Arellano (2004), pemberian ekstrak kelopak Rosela dalam 10 gram kelopak kering dengan penambahan air 0,51 liter menunjukkan hasil penurunan tekanan darah secara signifikan. Konversi dosis dilakukan pada berat badan manusia 70 kg dan tikus 200g (Laurence dan Bacharach, 1964; Ahmadjie, 2000). Konversi dosis untuk manusia 70 kg ke tikus 200g adalah 0,018 (tabel Laurence dan Bacharach, 1964; Ahmadjie, 2000), sehingga konversi dosis untuk kelopak rosela yang digunakan adalah $0,018 \times 10g = 0,18 \text{ g/ekor /hari}$. Dosis yang digunakan yaitu

Dosis I : 0,18 g/ekor /hari

Dosis II : 0,36 g/ekor /hari

Dosis III : 0,72 g/ekor /hari

3.6.6 Penentuan Dosis Natrium Nitrit (NaNO_3)

Menurut Muchtadi (1989), LD_{50} rata-rata dari Natrium Nitrit secara oral pada tikus adalah 250 mg/kg berat badan. Pada penelitian ini berat badan rata-rata tikus adalah 227 g, sehingga LD_{50} untuk setiap ekor adalah :

$$\begin{aligned}\text{LD}_{50} &= \frac{X \text{ mg}}{227\text{g}} \times \frac{250\text{mg}}{1000\text{g}} \\ &= \frac{227}{1000} \times 250 \\ &= 56,75 \text{ mg/ekor}\end{aligned}$$

LD_{50} efektif untuk membuat Anemia pada tikus sebanyak :

$$\begin{aligned}&= \frac{1}{2} \times \text{LD}_{50} \\ &= \frac{1}{2} \times 56,75 \text{ mg} \\ &= 28,375 \text{ mg/ekor}\end{aligned}$$

3.6.7 Metode Pengekstrakan

Ekstrak rosela didapatkan dari serbuk kelopak Rosela kering dan dilarutkan dalam air aquades sebagai pelarutnya. Hasil larutan tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring.

3.6.8 Tahapan Pelaksanaan

- 1) Pengambilan sample darah. Menurut Kusumawati (2004), pengambilan sampel darah tikus, yaitu dengan cara:
 - a. Tikus dikeluarkan dari kandang dengan cara setengah bagian dari ekornya diangkat, kemudian tikus dimasukkan ke sungkup rangkap.

- b. Ujung ekor tikus diolesi alkohol 70 %.
 - c. Ekor ditusuk dengan menggunakan Syringe 3 ml.
 - d. Darah dari ekor tikus dikeluarkan secara perlahan-lahan dengan menekan pangkal ekor, kemudian diurut sampai ke ujung ekor.
 - e. Darah yang keluar pertama kali dibuang, kemudian darah ditampung sesuai kebutuhan.
 - f. Ekor tikus diolesi dengan betadin agar tidak terinfeksi dan tikus dikembalikan lagi ke kandang.
- 2) Penghitungan kuantitas leukosit darah Tikus putih dengan cara :
- a. Darah dihisap dengan pipet leukosit sampai pada tanda 0,5 pada pipet dan disusul dengan larutan turk sampai tanda 11. (Larutan Turk terdiri dari : 1 ml Acid Acetid Cone, 1 ml Gentian Violet dan 100 ml Aquades).
 - b. Salah satu ujung pipet ditutup dengan satu ibu jari dan yang lain dengan telunjuk selama 1-3 menit.
 - c. Satu sampai dua tetes pertama dibuang, kemudian ujung pipet mikro ditempelkan pada salah satu sisi bilik hitung yang telah diberi gelas penutup dan kertas tissue pada sisi lawannya.
 - d. Darah yang ada pada 4 bilik W (*White*) diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400.
 - e. Penghitungan dilakukan terhadap leukosit yang terdapat dalam persegi 1,2,3,4 atau kamar hitung Hemocytometer.

- f. Jumlah leukosit dihitung per mm^3 dengan ketentuan rumus yang telah ditentukan. Rumus untuk menghitung jumlah leukosit per- mm^3 darah dengan ketentuan :

$$\text{Luas persegi panjang} = 4 \text{ mm}^2$$

$$\text{Tinggi kamar hitung} = 0,1 \text{ mm}$$

$$\text{Pengenceran} = 20 \text{ kali}$$

Jadi jumlah leukosit per mm^3 adalah $\frac{1}{0,4} \times 20 \times N = 50N$ (Triana dan Hidayat, 2006)

- 3) Penghitungan persentase limfosit darah tikus putih dilakukan dengan pembuatan preparat ulas
- Satu tetes darah diletakkan pada ujung gelas obyek posisi permukaan datar
 - Gelas obyek kedua ditempatkan dengan ujung menyentuh permukaan gelas obyek pertama sehingga membentuk sudut $30-45^\circ$
 - Gelas obyek kedua ditarik ke samping dan darah dibiarkan mengalir sehingga mencapai luasan $\frac{2}{3}$ gelas obyek pertama
 - Gelas obyek kedua didorong dengan sudut yang sama sehingga membentuk lapisan tipis
 - Preparat apus dibiarkan mengering di udara terbuka
 - Preparat apus darah difiksasi dengan metil alcohol selama 3-5 menit
 - Preparat dibiarkan kering di udara, setelah kering preparat direndam dengan pewarnaan Giemsa yang baru selama 15-60 menit

- h. Preparat dicuci dengan air berkali-kali dan dibiarkan mengering di rak.
 Penghitungan persentase limfosit dilakukan perbesaran obyektif 100 x,
- 4) Depleksi (penurunan kadar Hemoglobin darah dengan pemberian natrium nitrat selama 18 hari)
 - 5) Setelah 18 hari dilakukan penghitungan kuantitas leukosit serta persentase limfosit darah tikus putih
 - 6) Diberi perlakuan dengan pemberian ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,18 g/ekor /hari, 0,36 g/ekor /hari dan 0,72 g/ekor /hari.
 - 7) Kemudian dilakukan penghitungan kuantitas leukosit dan persentase limfosit darah tikus putih
 - 8) Tabulasi Data

Setelah data jumlah leukosit dan persentase limfosit darah tikus dihitung, kemudian dimasukkan dalam tabel berikut :

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
Kontrol								
Dosis 1								
Dosis 2								
Dosis 3								

3.7. Analisis Data

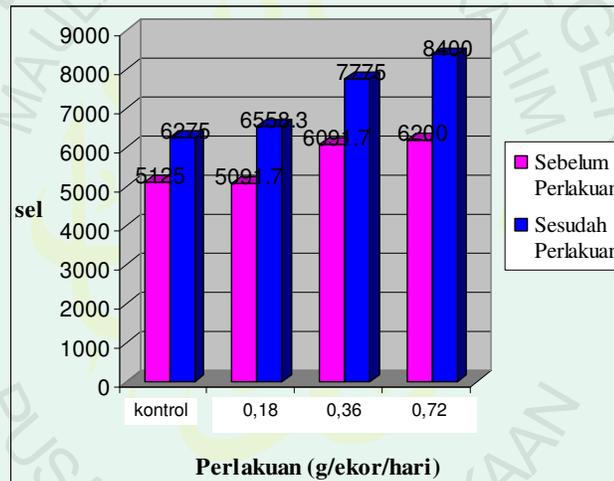
Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan Analisis Kovariansi ANKOVA. Apabila hasil menunjukkan pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT 5%

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap Kuantitas Leukosit Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Data hasil pengamatan kuantitas leukosit sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak rosela disajikan pada tabel 4.4 (lampiran 4). Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, didapatkan perubahan nilai rerata sebagai berikut :



Gambar 4.1: Diagram batang nilai rerata perubahan kuantitas leukosit tikus putih sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela

Gambar diagram batang pemberian ekstrak kelopak Rosela tersebut menunjukkan perubahan kuantitas leukosit tikus putih antara sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela. Pada perlakuan pertama diketahui nilai rerata kuantitas leukosit sebelum perlakuan yaitu 5.125 dan meningkat menjadi 6.275 setelah perlakuan, begitu juga pada perlakuan kedua dengan nilai rerata yaitu 5.091,7 dan meningkat menjadi 6.558,3. Pada perlakuan ketiga nilai rerata yaitu

6.091,7 sebelum perlakuan dan meningkat menjadi 7.775 setelah perlakuan, sedangkan pada perlakuan keempat nilai rerata sebelum perlakuan yaitu 6.200 dan meningkat menjadi 8.400 setelah perlakuan.

Metode analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis kovarian dengan taraf signifikansi 5%. Hasil perhitungan dapat dilihat selengkapnya pada lampiran 5, sedangkan tabel ringkasan ANKOVA dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 4.1.1 Ringkasan ANKOVA pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit tikus Anemia

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3	3082168,8	1027389,6	4,5	3,3
Galat	14	3082168,8	227592,9		

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit tikus Anemia, dapat dilakukan dengan membandingkan antara F hitung dan F tabel. Hasil yang diperoleh pada tabel ringkasan ANKOVA tersebut yaitu $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf signifikansi 5%, dengan demikian hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit tikus putih anemia.

Setelah mengetahui adanya pengaruh ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit, maka dilakukan uji lanjut BNT 5% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada setiap perlakuan. Ringkasan hasil uji BNT ditunjukkan pada tabel 4.1.2

Tabel 4.1.2 : Tabel ringkasan uji BNT 5%

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
1 (kontrol)	6275	a
2 (dosis 0,18 g)	6558,3	a
3 (dosis 0,36 g)	7775	b
4 (dosis 0,72 g)	8400	c

Perbedaan huruf yang terdapat pada tabel ringkasan uji BNT 5% tersebut menunjukkan adanya perbedaan pada setiap perlakuan. Huruf yang sama antara perlakuan pertama dan perlakuan kedua menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata dalam peningkatan kuantitas leukosit, sedangkan perlakuan ketiga dan keempat menunjukkan hasil yang berbeda nyata dalam peningkatan kuantitas leukosit. Berdasarkan hasil uji BNT 5% pada tabel 4.1.2 menunjukkan bahwa perlakuan keempat yaitu pemberian ekstrak kelopak Rosela dengan dosis 0,72 g dapat meningkatkan kuantitas leukosit dengan nilai rata-rata tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Hal tersebut dapat disebabkan karena pada dosis ketiga memiliki kandungan gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan dosis pertama dan kedua, kandungan gizi tersebut diantaranya sebagai berikut : vitamin C, zat besi, asam folat dan asam amino. Kandungan gizi tersebut memiliki peranan penting untuk leukosit. Hasil Analisis kandungan kimia serbuk kelopak Rosela disajikan pada lampiran 8.

Pada penelitian ini menggunakan tikus putih yang mengalami anemia dengan pemberian Natrium nitrit, hal tersebut ditujukan agar tikus putih mengalami anemia karena defisiensi besi. Natrium nitrit merupakan bahan kimia yang biasa digunakan untuk bahan pengawet daging dan ikan untuk memperoleh warna yang baik dan mencegah pertumbuhan mikroba, namun untuk

pengonsumsiannya yang terus-menerus dapat menimbulkan efek yang membahayakan bagi kesehatan.

Montgomery (1993) dalam Islamiyah (2009) menyatakan bahwa, Natrium nitrit yang masuk dalam tubuh akan diabsorpsi oleh darah dan mempengaruhi proses pengangkutan oksigen oleh hemoglobin. Nitrit akan mengoksidasi ferro (Fe^{2+}) menjadi ferri (Fe^{3+}) sehingga, proses pengangkutan oksigen terganggu dan bahkan tidak berfungsi lagi. Hal tersebut menjadikan hemoglobin tidak dapat melakukan tugas dengan baik. Jika hal ini terjadi terus menerus, maka dapat menyebabkan anemia. Nitrit juga dapat berikatan dengan amino atau amida dan akan membentuk turunan nitrosamin yang bersifat toksik yang menyebabkan kanker.

Setelah pemberian Natrium nitrit sebanyak 0,028 g/hari/ekor yang dilarutkan dalam aquades 1 ml selama 18 hari, maka dilakukan pengamatan kuantitas leukosit tikus putih. Data hasil pengamatan tersebut disajikan pada tabel 4.2 (lampiran 4). Setelah pemberian Natrium nitrit selama 18 hari, didapatkan data yang menunjukkan penurunan kuantitas leukosit dibandingkan dengan kuantitas leukosit awal. Kuantitas leukosit awal tikus masih dalam keadaan normal, sedangkan kuantitas leukosit normal tikus yaitu antara 300 sampai 15.000 sel (Mitruka (1981); Kusumawati (2004)). Data sebelum perlakuan pemberian ekstrak kelopak Rosela diambil dari data setelah pemberian Natrium nitrit

Perlakuan pemberian ekstrak kelopak Rosela dilakukan dengan pemberian 3 dosis yang berbeda sebagai berikut : 0,18 g/hari/ekor, 0,36 g/hari/ekor dan 0,72 g/hari/ekor. Perlakuan ini dilakukan selama 14 hari, kemudian dilakukan

pengamatan kuantitas leukosit kembali. Data hasil pengamatan kuantitas leukosit setelah pemberian ekstrak kelopak Rosela disajikan dalam tabel 4.3 (lampiran 4).

Data hasil pengamatan tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan kuantitas leukosit, jika dibandingkan dengan kuantitas leukosit setelah pemberian Natrium nitrit. Hal tersebut menunjukkan bahwa, pemberian ekstrak kelopak Rosela dapat membantu meningkatkan kuantitas leukosit. Data hasil pengamatan kuantitas leukosit sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela ditunjukkan pada tabel 4.4 (lampiran 4).

Peningkatan kuantitas leukosit tersebut dapat terjadi karena adanya beberapa kandungan gizi pada kelopak Rosela yang memiliki peranan dalam hal peningkatan kuantitas leukosit. Hasil analisis serbuk kelopak Rosela menunjukkan bahwa, pada serbuk kelopak Rosela memiliki kandungan gizi diantaranya yaitu vitamin C, Fe, asam folat dan beberapa asam amino. Semua kandungan gizi tersebut merupakan komponen yang sangat dibutuhkan untuk metabolisme tubuh khususnya leukosit.

Vitamin C dalam leukosit terdapat dalam konsentrasi yang tinggi yang merupakan salah satu komponen penunjang bagi kehidupan sel tersebut. Schmidt (1985) dalam Asamanik (2005) menyatakan bahwa, konsentrasi vitamin C dalam sel granulosit yaitu 10-40 kali lebih tinggi daripada konsentrasi dalam plasma. Hal tersebut menunjukkan adanya transport vitamin C ke dalam sel secara aktif.

Keberadaan vitamin C dalam leukosit sangat menunjang kehidupan sel tersebut, karena vitamin berfungsi sebagai antioksidan yang dapat melindungi dari radikal bebas. Hariyatmi (2004) dalam Iswara (2009) menyatakan bahwa,

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif.

Radikal bebas dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Bahan radikal bebas tersebut sebenarnya merupakan senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan itulah yang mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya yaitu dengan cara mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada di sekitarnya. Umumnya radikal bebas mengikat molekul besar seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat). Apabila itu terjadi, akibatnya adalah kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan (bisa menimbulkan kanker) (Sunardi, 2007).

Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas biasanya bersifat kronis, yaitu membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata. Radikal bebas yang mengambil elektron dari sel tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbulah sel-sel mutan.

Bila perubahan DNA ini terjadi bertahun-tahun, maka dapat menjadi penyakit kanker (Sunardi, 2007).

Secara terus-menerus radikal bebas terbentuk melalui peristiwa metabolisme, peradangan, kekurangan gizi serta respon terhadap pengaruh dari luar tubuh, sehingga peranan vitamin C sangatlah dibutuhkan. Vitamin C sebagai antioksidan dapat melindungi membran sel dari destruksi radikal bebas dengan menyumbangkan satu elektron pada radikal bebas agar lebih stabil dan tidak reaktif.

Peranan vitamin C dalam penelitian ini dengan terjadinya peningkatan kuantitas leukosit yaitu dengan melakukan perlindungan terhadap sel-sel leukosit tersebut dari radikal bebas. Hal tersebut dilakukan agar jumlah sel tersebut tidak mengalami penurunan yang disebabkan penuaan sel dan berakhir pada apoptosis. Selain berfungsi sebagai antioksidan, vitamin C dapat membantu mempercepat pengabsorbsian Fe yang juga terdapat pada kelopak Rosela dengan cara mereduksi ferri (Fe^{3+}) menjadi fero (Fe^{2+}). (Steinkamp dkk, (1995) dalam Winarno (2004) menjelaskan bahwa, suatu penelitian telah membuktikan bahwa pengonsumsi roti yang mengandung besi bersamaan dengan 1 g vitamin C dapat meningkatkan penyerapan besi menjadi tiga kali lipat

Apabila zat besi mudah untuk diabsorpsi, maka zat besi tersebut dapat mengaktifkan enzim reduktase ribonukleotida. Enzim tersebut merupakan salah satu komponen yang dibutuhkan untuk sintesis DNA sebagai salah satu tahapan mitosis pada sel, sehingga membantu terjadinya pembentukan sel baru.

Besi merupakan mineral mikro yang esensial bagi tubuh, terutama pada proses hemopoiesis (pembentukan sel darah). Bentuk konjugasi Fe yang bertugas mentransport Fe ke jaringan hemopoietik pada sumsum tulang sebagai pusat produksi sel darah adalah transferin (Sediaoetma, 1985). Transferin terdapat dalam dua bentuk yaitu transferin mukosa dan transferin reseptor. Transferin mukosa membawa Fe dari saluran cerna ke dalam sel mukosa dan memindahkannya pada transferin reseptor yang terdapat pada sel mukosa. Transferin reseptor mengangkut Fe melalui darah ke jaringan tubuh yang membutuhkan, sedangkan transferin mukosa kembali mengikat Fe dari saluran cerna (Almatsier, 2003).

Peningkatan jumlah leukosit yang terjadi pada penelitian ini juga disebabkan oleh kandungan asam folat yang terdapat pada kelopak Rosela. Asam folat dikenal sebagai folasin yang turut serta dalam pembentukan beberapa asam amino dan pembentukan beberapa komponen penting termasuk pembentukan sel darah dengan cara membantu proses sintesis DNA (Harper, 2006).

Folat dalam makanan terdapat sebagai poliglutamat yang harus dihidrolisis menjadi monoglutamat dalam mukosa usus halus agar dapat diserap oleh aliran darah. Pencernaan ini dilakukan oleh enzim hidrolase, terutama *conjugase* pada mukosa bagian atas usus halus. Hidrolisis poliglutamat dibantu oleh seng. Setelah dihidrolisis, monoglutamat folat diikat oleh reseptor folat khusus pada mikrovili dinding usus halus yang juga merupakan alat angkut vitamin tersebut. Folat dalam sel kemudian diubah menjadi 5-metil-tetrahidrofolat dan dibawa ke hati diubah menjadi asam tetrahidrofolat (THFA) dengan gugus metil disumbangkan pada

metionin. Tetrahidrofolat bereaksi dengan enzim poliglutamat sintetase untuk membentuk kembali poliglutamil folat yang kemudian berikatan dengan beberapa enzim dan melakukan sebagian besar fungsi metabolik diantaranya yaitu dalam proses pembentukan sel darah (Almatsier, 2003).

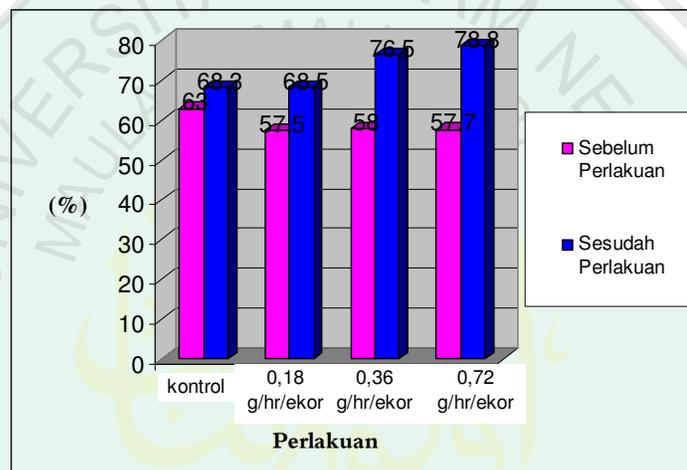
Asam folat diekskresikan melalui urine, cairan empedu dan ditemukan pula dalam tinja. Sebagian asam folat dalam cairan empedu mengalami *enterohepatic cycle* asam folat yang ditemukan dalam tinja sebagian berasal dari hasil sintesis mikroflora usus (Sediaoetma, 1985).

Pada penelitian ini, telah membuktikan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela juga dapat meningkatkan kuantitas leukosit. Peningkatan kuantitas leukosit tersebut dapat terjadi dikarenakan kandungan gizi yang terdapat pada kelopak Rosela yang memiliki potensi dalam hal membatu proliferasi limfosit. Beberapa kandungan gizi tersebut akan menstimulasi proliferasi leukosit yang terjadi di sumsum tulang.

Selain dilakukan pengamatan pengaruh ekstrak kelopak Rosela terhadap kuantitas leukosit, juga dilakukan pengamatan pengaruh ekstrak kelopak Rosela terhadap persentase limfosit. Hasil pengamatan persentase limfosit dijelaskan pada sub bab selanjutnya.

4.1.2 Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap Persentase Limfosit Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Data hasil pengamatan persentase limfosit tikus putih sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela ditunjukkan pada tabel 6.4 (lampiran 6). Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, maka didapatkan perubahan nilai rerata persentase limfosit sebagai berikut :



Gambar 4.2: Diagram batang nilai rerata perubahan persentase limfosit tikus putih sebelum dan sesudah pemberian ekstrak kelopak Rosela

Data hasil pengamatan yang disajikan pada gambar 5 tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan pertama nilai rerata sebelum perlakuan yaitu 63 % dan meningkat menjadi 68,3 % setelah perlakuan, begitu juga pada perlakuan kedua dengan nilai rerata yaitu 57,5 % dan meningkat menjadi 68,5 %. Pada perlakuan ketiga nilai rerata yaitu 58 % sebelum perlakuan dan meningkat menjadi 76,5 % setelah perlakuan, sedangkan pada perlakuan keempat nilai rerata sebelum perlakuan yaitu 57,7 % dan meningkat menjadi 78,8 % setelah perlakuan.

Pengamatan persentase limfosit pada penelitian ini juga menggunakan metode analisa kovarian (ANKOVA) dengan taraf signifikansi 5 %. Hasil penghitungan persentase limfosit disajikan pada lampiran 7, sedangkan tabel ringkasan ANKOVA dijelaskan sebagai berikut :

Tabel 4.2.1 Ringkasan ANKOVA pengaruh pemberian ekstrak kelopak Rosela terhadap persentase limfosit tikus Anemia

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	3	659,4	219,8	16,6	3,3
Galat	14	185,3	13,2		

Pada tabel ringkasan ANKOVA tersebut diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf signifikansi 5%, dengan demikian hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak kelopak Rosela terhadap persentase limfosit tikus putih anemia.

Data yang sudah didapatkan diuji dengan uji lanjut BNT 5% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan, hasil uji BNT dapat dilihat pada tabel 4.2.2 berikut :

Tabel 4.2.2 : Tabel ringkasan uji BNT 5%

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
1 (Kontrol)	68,3	a
2 (dosis 0,18 g)	68,5	a
3 (dosis 0,36 g)	76,5	b
4 (dosis 0,72 g)	78,8	b

Dengan BNT 5% maka dapat disimpulkan bahwa antara perlakuan pertama dan kedua memiliki kemampuan yang tidak berbeda nyata dalam peningkatan persentase limfosit. Hal tersebut juga terjadi pada perlakuan ketiga

dan keempat yang juga menunjukkan tidak adanya perberbedaan yang nyata dalam peningkatan persentase limfosit. Bila dibandingkan, maka perlakuan ketiga dan keempat yaitu pada pemberian dosis 0,36 g/hari/ekor dan 0,72 g/hari/ekor memiliki kemampuan meningkatkan persentase limfosit dibandingkan dengan perlakuan pertama dan kedua.

Pengamatan persentase limfosit juga dilakukan pada tikus putih anemia yang telah diberi Natrium nitrit selama 18 hari. Data hasil pengamatan persentase limfosit setelah pemberian Natrium nitrit disajikan pada tabel 6.2 (lampiran 6) Data hasil pengamatan tersebut menunjukkan terjadinya penurunan persentase limfosit tikus antara sebelum pemberian Natrium nitrit dan sesudah pemberian Natrium nitrit. Hal tersebut terjadi karena dalam proses limfopoiesis sangat membutuhkan Fe untuk proses proliferasi sel tersebut, sedangkan pemberian Natrium nitrit mengoksidasi fero (Fe^{2+}) menjadi ferri (Fe^{3+}) yang sulit untuk diabsorpsi oleh tubuh.

Besi memegang peranan dalam sistem kekebalan tubuh. Respon kekebalan sel oleh limfosit T terganggu karena berkurangnya pembentukan sel-sel tersebut, yang kemungkinan disebabkan oleh berkurangnya sintesis DNA yang disebabkan oleh gangguan enzim reduktase ribonukleotida yang membutuhkan besi untuk dapat berfungsi. Selain menghambat pembentukan limfosit, juga dapat mengurangi kinerja leukosit umumnya (Almatsier, 2003). Jika terjadi kekurangan Fe, maka akan mengakibatkan gangguan aktivitas seluler dan respon imun seluler seperti sel NK, sel Neutrofil, dan fungsi pembunuhan sel-sel tumor S(ubowo, 1993).

Setelah pemberian Natrium nitrit, maka dilakukan pemberian ekstrak kelopak Rosela dengan beberapa dosis yang berbeda. Pemberian ekstrak kelopak Rosela diberikan selama 14 hari, kemudian dilakukan pengamatan persentase limfosit tikus putih. Data hasil pengamatan tersebut ditunjukkan pada tabel 6.3 (lampiran 6). Hasil data persentase limfosit tersebut menunjukkan peningkatan bila dibandingkan dengan hasil pengamatan setelah pemberian Natrium nitrit. Data tersebut disajikan pada tabel 6.4 (lampiran 6) .

Nilai persentase limfosit setelah pemberian ekstrak kelopak Rosela menunjukkan peningkatan, walaupun peningkatan tersebut tidak terlalu banyak. Hal tersebut dapat disebabkan oleh adanya kandungan gizi seperti Fe, Vitamin C dan asam folat serta asam amino yang juga memiliki kemampuan untuk membantu proses proliferasi limfosit.

Santos (1990) dalam penelitian Ekiz dkk (2005), melaporkan bahwa Proliferasi limfosit sangat didukung oleh adanya zat besi. Bila terjadi defisiensi besi, maka akan terjadi penurunan jumlah total limfosit. Terjadinya peningkatan persentase limfosit tersebut dapat dikarenakan adanya zat besi pada kelopak Rosela.

Pada penelitian ini, telah membuktikan bahwa pemberian ekstrak kelopak Rosela juga dapat meningkatkan persentase limfosit sebagai salah satu jenis leukosit yang mampu memproduksi antibodi. Peningkatan persentase limfosit tersebut dapat terjadi dikarenakan kandungan gizi yang terdapat pada kelopak Rosela yang memiliki potensi dalam hal membantu proliferasi limfosit.

Pada dasarnya, konsep terjadinya peningkatan persentase limfosit pada penelitian ini hampir sama dengan proses terjadinya peningkatan kuantitas leukosit, namun beberapa kandungan zat gizi tersebut juga disalurkan pada organ limfoid. Kandungan gizi tersebut akan menstimulusi proliferasi limfosit di organ limfoid sekunder yaitu limpa, kelenjar limfoid dan *peyer's patches* yang tersebar di dinding saluran cerna, tonsil dan apendiks (Baratawidjaja, 1996).

Besi mempunyai peranan penting dalam sistem imunitas, terutama dalam hal proliferasi dan aktivasi imun host seperti sel T, B, sel *natural killer*, interaksi antara *cell-mediated immunity* dan sitokin. Pada sistem imun komunikasi antar sel umumnya melibatkan sitokin. Sitokin merupakan protein sebagai mediator dan regulator respon imun alami dan didapat. Mediator ini diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi sel-sel hematopoitik dan untuk mengatur serta menentukan respon imun akan tetapi, Sitokin akan mengalami penurunan bila terjadi defisiensi besi (Suega, 2001).

Hal tersebut dapat dihindari bila didukung dengan adanya vitamin C yang dapat membantu mempercepat penyerapan zat besi dengan cara mengubah ferri menjadi ferro.

Vitamin C dapat memperkuat resistensi tubuh terhadap berbagai macam penyakit, termasuk penyakit infeksius dan kanker. Vitamin C dapat memperkuat dan melindungi sistem imun melalui stimulasi aktivasi antibodi dan sel-sel imun seperti sel fagosit yang akan menyerang antigen asing seperti bakteri maupun virus.

Guyton (1983), menyatakan bahwa dalam pembentukan leukosit salah satunya yaitu pembentukan limfosit, maka dibutuhkan vitamin dan asam amino yang dapat membantu dalam memproduksi sel-sel leukosit tersebut. Kandungan gizi yang terdapat pada kelopak Rosela yang juga memiliki kemampuan dalam meningkatkan persentase limfosit yaitu asam folat dan asam amino. Hasil analisis dari 100 g serbuk kelopak Rosela memiliki kandungan asam folat sebanyak 63,322 mg.

Almatsier (2003) menyatakan bahwa, asam folat dibutuhkan untuk pembentukan sel darah merah dan sel darah putih dalam sumsum tulang serta pendewasaan sel-sel darah tersebut, sedangkan limfosit merupakan salah satu jenis dari leukosit. Asam folat dapat digunakan dalam proses hematopoiesis, bila asam folat tersebut telah diubah menjadi tetra hidrofolat, sedangkan proses tersebut terjadi di dalam hati. Tetra hidrofolat akan bereaksi dengan poliglutamat sintetase untuk membentuk kembali poliglutamil folat yang kemudian berikatan dengan bermacam-macam enzim, bentuk akhir itulah yang akan dikirimkan ke sumsum tulang untuk proses hematopoiesis

Hasil analisis dari 100 g serbuk kelopak Rosela juga memiliki kandungan asam amino yang terdapat pada kelopak Rosela diantaranya adalah : Prolin, Valin, Asam Glutamat, Glisin, Isoleusin, Leusin dan Lisin. Sediaotama (2004) menjelaskan bahwa, asam amino yang memiliki peranan penting dalam kehidupan sel, salah satunya yaitu berfungsi dalam pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan, penggantian sel-sel yang mati.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

- 1) Pemberian ekstrak kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn) berpengaruh terhadap kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus putih (*Rattus novergicus*)
- 2) Pemberian ekstrak kelopak rosela dengan dosis 0,72 merupakan pemberian dosis yang terbaik dalam meningkatkan kuantitas leukosit tikus putih dengan nilai rata-rata yaitu 8400 sel
- 3) Pemberian ekstrak kelopak rosela dengan dosis 0,72 merupakan pemberian dosis yang terbaik dalam meningkatkan persentase limfosit tikus putih dengan nilai rata-rata yaitu 78,8 %

5.2 Saran

Dalam penelitian ini telah membuktikan bahwa kelopak Rosela dapat meningkatkan kuantitas leukosit dan persentase limfosit tikus putih. Harapan peneliti bagi peneliti selanjutnya untuk mengetahui manfaat lain yang terdapat pada tanaman Rosela, terutama dalam bidang kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

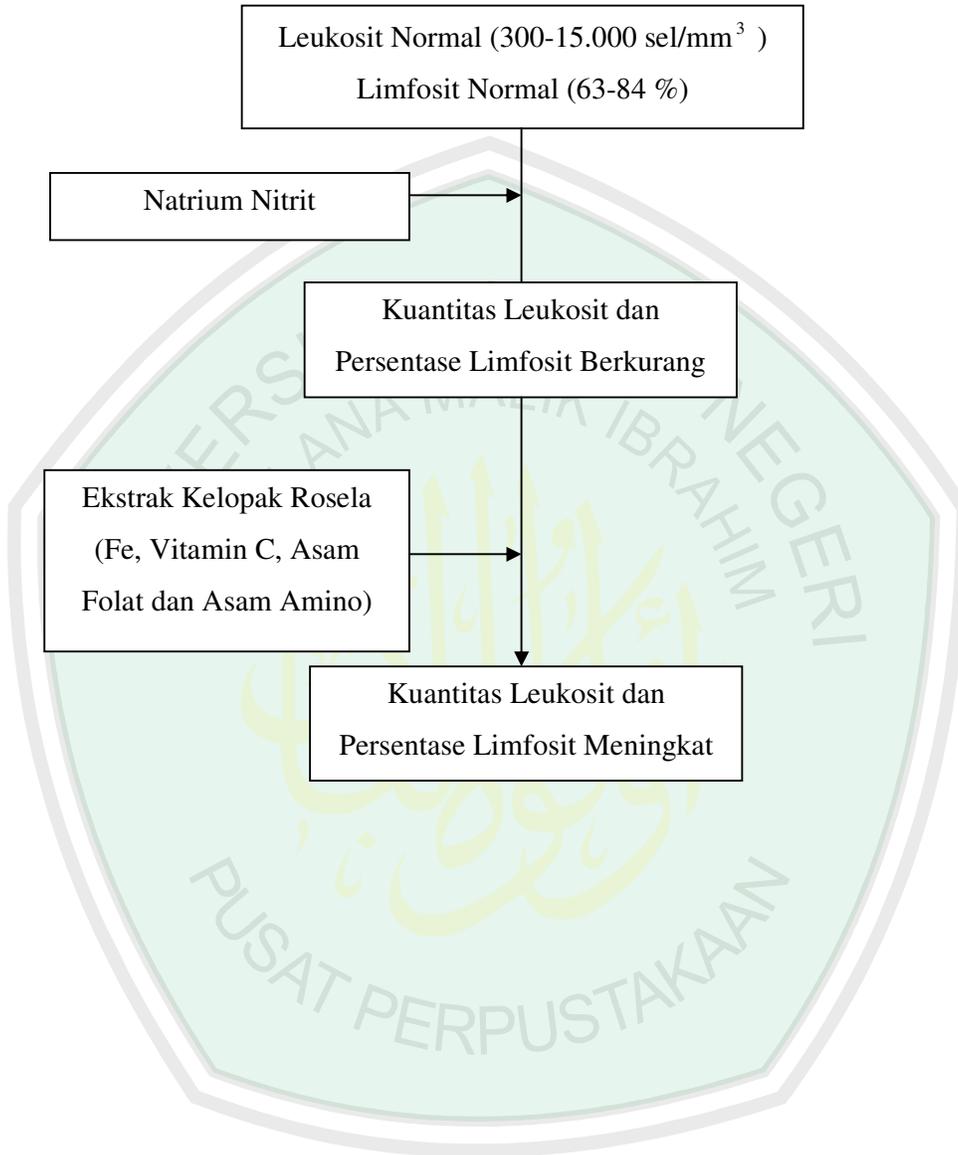
- Ahmadjie, Bambang. 2000. *Kandungan Senyawa Kimia dan Efek Ekstak Air Bangun-Bangun pada Aktivitas Fagositosis Netrosit Tikus Putih*
- Almatsier, Sunita. 2003. *Prinsip dasar Ilmu Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama : Jakarta.
- Arellano, Herrera. 2004. *Effectiveness and tolerability of a standardized extract from Hibiscussabdariffa in patients with mild to moderate hypertension:a controlled and randomized clinical trial*. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS): Mexico. Jurnal Penelitian
- Agustina, Erna. 2007. *Pengaruh Ekstrak Daun Bayam Merah (Amaranthus gangetious L) terhadap kadar Hemoglobin dalam Darah Mencit*. UIN Malang : Malang. Skripsi
- Ayu, Rahayu. 2005. *Pengaruh Pemberian Paklobutrasol dan saat Pemangkasan Pucuk Bagi Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Rosela Merah*. Skripsi Jurusan Budidaya Pertanian Tanaman : Universitas Brwijaya
- Asmanik. 2005. *Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kuantitas Leukosit Mencit (Mus musculus)*. Universitas Islam Negeri Malang : Malang. Skripsi.
- Baggs dan Miller. 1973. *Nutrional Iron Deficient as a Determinant of Host Resintentance in The Rat*. Departement of Nutrion and Food Science : Chambridge. Jurnal Penelitian
- Baratwidja, Karnen Garna. 1996. *Imunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran : Jakarta.
- Effendi, Zukesti. 2003. *Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh*. Universitas Sumatera Utara : Sumatera Utara.
- Ekiz, Ceyda; Agaoglu, Leyla; Karakas, Zeynep; Gurel, Nuray dan Yalcin, Isik. 2005. *The Effect of Iron Defiicient Anemia on The Function of The Immune System*. Isambul University : Turki. Jurnal Penelitian
- Ganong. 1983. *Fisiologi Kedokteran*. EGC Penertbit Buku Kedokteran : Jakarta.

- Guyton. 1987. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit Edisi III*. EGC : Jakarta.
- Islamiyah, Indria Arifatus. 2006. *Pengaruh Pemberian Jus Kacang Hijau Dan Jambu Biji Terhadap Kadar Hemoglobin Darah Tikus Putih (Rattus novergicus)*. Skripsi
- Iswara, Arya. 2009. *Pengaruh pemberian antioksidan vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Junquire, Carolous. 1993. *Histologi Dasar*. EGC : Jakarta.
- Kustyawati, Maria Erna dan Ramli, Sulastri. 2008. *Pemanfaatan Hasil Tanaman Hias Rosella Sebagai Bahan Minuman*. Universitas Lampung : Lampung. Jurnal Penelitian. Akses 27 April 2009.
- Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada Unibersity Press : Yogyakarta.
- Maryani, Herti dan Kristiana Lusi. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Agromedia Pustaka : Jakarta.
- Malrasari, Ardiana. 2003. *Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Terhadap Jumlah Leukosit pada Tikus (Rattus rattus)*. Universitas Brawijawa : Malang. Skripsi.
- Mader. 2000. *Human Biology*. Secon edition. The McGraw. Hill Companies : USA.
- Minarno, Eko Budi dan Lilik Hariani. 2008. *Gizi dan Kesehatan Perspektif Al-Quran dan Sains*. UIN Press : Malang.
- Muchtadi, Deddy. 1989. *Aspek Biokimia dan Dizi*. ITB : Bogor.
- Muhilal dan Karyadi, Darwin. 1980. *Anemia Gizi serta Tinjauan Perspektif Tehnologi Intervensinya*.

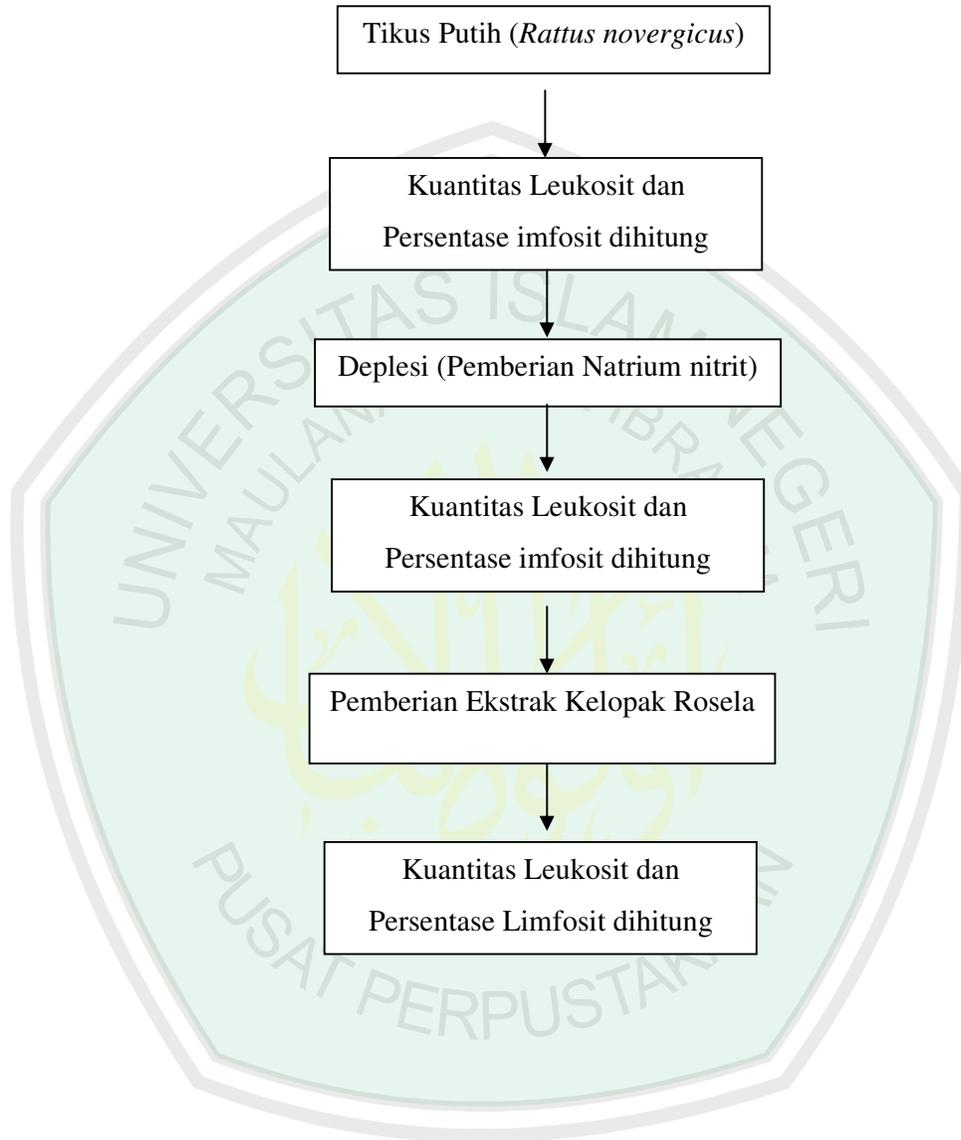
- Nalder; Mahoney dan Ramakrishnan. 1972. *Sensitive of The Immunological Response to the Nutritional Status of Rats*. Utah State University : Logan. Jurnal Penelitian
- Heru, Nurcahyo. 2008. *Ilmu Kesehatan Jilid 1*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Departemen Pendidikan Nasional : Jakarta.
- Panjaitan, Suryadi. 2003. *Beberapa Aspek Anemia Penyakit Kronik pada Lanjut Usia*. Universitas Sumatera Utara: Sumatera Utara. Jurnal Penelitian.
- Patimah, Siti. 2007. *Pola Konsumsi Ibu Hamil dan Hubungannya dengan Kejadian Anemia Defisiensi Besi*.
- Rasmaliah. 2004. *Anemia Kurang Besi dalam Hubungannya dengan Infeksi Cacing pada Ibu Hamil*. Universitas Sumatera Utara: Sumatera Utara. Jurnal Penelitian.
- Rothenbacher, Hans dan Sherman, Adria Rothman. 1980. *Target organ Pathology in Iron-Deficient Suckling Rats*. Universitas Park. Jurnal Penelitian.
- Riswan, Muhammad. 2003. *Anemia Defisiensi Besi pada Wanita Hamil di Beberapa Praktek Bidan Swasta dalam Kota Madya Medan*. Universitas Sumatera Utara: Sumatera Utara. Jurnal Penelitian.
- Salisbury dan Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan*. ITB Press :Bandung
- Santoso, Budi. 2006. *Perberdayaan Lahan Podsolik Merah, Kuninh dengan Tanaman Rosela (Hibiscus sabdariffa) di kalimantan Selatan*. Penelitian Tanaman Temabakau dan serat.
- Syafi'ie, Rachmat. 2003. *Al-Hadits (Aqidah, Akhlak, Sosial, dan Hukum)*. Pustaka Setia : Bandung.
- Soewolo. 2000. *Fisiologi Manusia*. UM Press : Malang
- Soewolo. 2005. *Fisiologi Manusia*. UM Press : Malang
- Subowo. 1993. *Imunologi Klinik*. Angkasa : Bandung.
- Sujudi. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Bina Rupa : Jakarta.

- Sunardi, Ilham Kuncahyo.2002. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi, l.) Terhadap 1,1-diphenyl-2- Picrylhidrazyl (dpph)* Universitas Setia Budi :Yogyakarta
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. EGC kedokteran : Jakarta.
- Sediaoetama, Achmad Djaeni. 1985. *Ilmu Gizi*. PT. Dian Rakyat : Jakarta.
- Steenis, C.G.2006. *Flora* . Pradnya Paramita : Jakarta
- Tintus, Libertus. 2008. *Dosis Efektif Kombinasi Natrium Tiosulfat dan Natrium Nitrit Sebagai Antidot Keracunan Sianida Akut pada Mencit Jantan Galur Swiss*. Universitas Sanata Dharma : Yogyakarta.
- Triana, Evi dan Nurhidayat, Novik.2006. *Pengaruh Pemberian Beras yang Difermentasi oleh Monascus purpureus Jmba terhadap Darah Tikus Putih (Rattus Sp.) Hiperkolesterolemia*
- Utama, Hendra dan Tjokronegoro, Arjatmo. 1982. *Imunologi Diagnosis dan Terapi*. PT. Intermasa: Jakarta.
- Vitale, Joseph; Restrepo, Alberto; Velez, Jeffery dan Hellerstein . *Secondary Folate Deficient Induced in The Rat by Dietary Iron Deficient*. University de Antioquia : Colombia. Jurnal Penelitian
- Winarno. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia : Jakarta.
- Yadong Qi, Kit L. Chin, Fatemah Malekian, Mila Berhane, Janet Gager. 2005 *Biological Characteristics, Nutritional and Medicinal Value of Roselle, Hibiscus Sabdariffa*. Agricultural Research And Extension Center. Baton Rouge: Los. Angels
- Yatim, Wildan. 1996. *Biologi Modern Histologi*. Tarsito : Bandung.

Lampiran 1. Kerangka Konsep Penelitian



Lampiran 2. Bagan Desain Penelitian



Lampiran 4. Data Kuantitas Leukosit Darah Tikus Putih

Tabel 4.1 Data Kuantitas Leukosit Darah awal tikus putih (sebelum diberi ekstrak kelopak Rosela dan NaNO_2)

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
Kontrol	15050	6350	6400	7050	6500	8300	49650	8275
Dosis 1	8450	7100	6700	15150	7300	6950	51650	8608,3
Dosis 2	7500	7950	10200	8200	6050	90850	130750	21791,7
Dosis 3	6350	10100	15250	90050	15050	12200	149000	24833,3

Tabel 4.2. Data Kuantitas Leukosit Darah Tikus Putih Setelah Pemberian NaNO_2

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
Kontrol	6850	4100	4000	5250	4300	6250	30750	5125
Dosis 1	6300	5250	4500	4500	4850	5150	30550	5091,7
Dosis 2	5500	4850	7650	6100	4650	7800	36550	6091,7
Dosis 3	3450	5250	7650	6250	8500	6100	37200	6200

Tabel 4.3. Data Kuantitas Leukosit Darah Tikus Putih Setelah Pemberian Ekstrak Kelopak Rosela

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
Kontrol	7750	5200	5650	6100	5950	7000	37650	6275
Dosis 1	8650	6000	5500	5600	6250	7350	39350	6558,3
Dosis 2	7150	6750	9300	7900	6150	9400	46650	7775
Dosis 3	5600	7400	9900	8550	10850	8100	50400	8400

Lampiran 5. Perhitungan ANKOVA Kuantitas Leuksit Tikus Putih

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

$$\begin{aligned} JK_{P+G} &= JK \text{ Perlakuan} + JK \text{ Galat} \\ &= 6.496.979,1 + 34.687.916,7 \\ &= 41.184.895,8 \end{aligned}$$

A. Pengamatan XY

- 1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} FK &= \frac{(\sum X \sum Y)}{t \cdot r} \\ &= \frac{(135.050 \times 174.050)}{24} \\ &= 979.393.854,2 \end{aligned}$$

- 2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum(X.Y) - FK \\ &= [(6850.7750) + (6300.8650) + \dots + (6100.8100)] \\ &= 1024770000 - 979.393.854,2 \\ &= 45376145,8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{perlakuan} &= \frac{(\sum X \cdot \sum Y) + \dots (\sum X \cdot \sum Y)}{6} - FK \\ &= \frac{(30750.37650) + \dots + (37200.50400)}{6} - 979.393.854,2 \\ &= 989969583,3 - 979.393.854,2 \\ &= 10575729,1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 45376145,8 - 10575729,1 \\ &= 34800416,7 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} JK_{P+G} &= JK \text{ Perlakuan} + JK \text{ Galat} \\ &= 10575729,1 + 34800416,7 \\ &= 45376145,8 \end{aligned}$$

B. Pengamatan YY (sebelum perlakuan)

- 1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}FK &= \frac{(\sum XY)^2}{t.r} \\ &= \frac{(174.050)^2}{24} \\ &= 1.262.225.104\end{aligned}$$

- 2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}JK_{total} &= \sum Y^2 - FK \\ &= (7750^2 + 8650^2 + \dots + 8100^2) - 1.262.225.104 \\ &= 1.318.487.500 - 1.262.225.104 \\ &= 56.262.396\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}JK_{perlakuan} &= \frac{[(\sum Y_1)^2 + (\sum Y_2)^2 + \dots + (\sum Y_4)^2]}{r} - FK \\ &= \frac{(37650^2 + \dots + 50400^2)}{6} - 1.262.225.104 \\ &= 18.162.812,7\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 56.262.396 - 18.162.812,7 \\ &= 38.099.583,3\end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}JK_{P+G} &= JK_{Perlakuan} + JK_{Galat} \\ &= 18.162.812,7 + 38.099.583,3 \\ &= 56.262.396\end{aligned}$$

C. Menghitung Db Awal

1) Db Perlakuan = t-1
= 4-1
= 3

2) Db Galat = (rt-1) - (t-1)
= (6.4-1) - (4-1)
= 20

3) Db Total = (rt-1)

$$= (6.4-1)$$

$$= 23$$

D. Menghitung JK regresi

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

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

$$= \frac{(34800416,7)^2}{34687916,7}$$

$$= 34913281,6$$

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

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

$$= \frac{(45376145,8)^2}{41184895,8}$$

$$= 49993925,4$$

E. Menghitung JK Galat Regresi Terkoreksi (JKGTR)

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

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

$$= 38.099.583,3 - 34913281,6$$

$$= 3186301,7$$

$$2) \text{JKGTR}_{P+G} = P_{YY+} G_{YY} - \frac{(P_{XY+} G_{XY})^2}{P_{XX+} G_{XX}}$$

$$= JK_{YY (P+G)} - \text{JK regresi}_{YY (P+G)}$$

$$= 56.262.396 - 49993925,4$$

$$= 6268470,6$$

F. Menguji Perlakuan Terkoreksi (MPT)

$$\text{MPT} = \left[P_{YY+} G_{YY} - \frac{(P_{XY+} G_{XY})^2}{P_{XX+} G_{XX}} \right] - \left[G_{YY} - \frac{(G_{XY})^2}{G_{XX}} \right]$$

$$= \text{JKGT}_{P+G} - \text{JKGT}_{Galat}$$

$$= 6268470,6 - 3186301,7$$

$$= 3082168,9$$

G. Menghitung Db Terkoreksi

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

$$= 14$$

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

$$= 17$$

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

$$= 17-14$$

$$= 3$$

H. Menghitung KT Galat Murni (KTGM)

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

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

$$= \frac{3186301,7}{14}$$

$$= 227592,9$$

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

$$= \frac{3082168,9}{3}$$

$$= 1027389,6$$

I. Tabel ANKOVA

SK	Db	JK			JK Regresi	Db	JK Galat Terkoreksi	Db	KT Galat Murni
		XX	XY	YY					
Perlakuan	3	6496979,1	10575729,1	18162812,7	-	-	-	-	-
Galat	20	34687916,7	34800416,7	38099583,3	34913281,5	1	3186301,8	14	227592,9
Perlakuan+Galat	23	41184895,8	45376145,8	56262396	49993925,4	1	6268470,6	17	-
Menguji Perlakuan	-	-	-	-	-	-	3082168,8	3	1027389,6

J. Mencari F Hitung

$$\begin{aligned} F \text{ hitung} &= \frac{KTGM (MPT)}{KTGM (G)} \\ &= \frac{1027389,6}{227592,9} \\ &= 4,5 \end{aligned}$$

K. Mencari BNT 5%

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

$$\sqrt{\frac{KTGM}{r} \left[1 + \frac{JKPerlakuan_x}{(Perlakuan - 1)(JKGalat_x)} \right]}$$

$$= \sqrt{\frac{227592,9}{6} \left[1 + \frac{6496979,1}{3(34687916,7)} \right]}$$

$$= \sqrt{37932,2(1+0,06)}$$

$$= \sqrt{40208,1}$$

$$= 200,5$$

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

$$= 2,1 \times 200,5$$

$$= 421,1$$

L. Menghitung Perlakuan Rata-rata Terkoreksi

$$\begin{aligned} 1) b &= \frac{G_{xy}}{G_{xx}} \\ &= \frac{34800416,7}{34687916,7} \end{aligned}$$

$$= 1,003$$

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

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

$$= \frac{135050}{6.4}$$

$$= 5627,083$$

N. Tabel Perlakuan Rata-Rata Terkoreksi

Perlakuan	Rerata kuantitas leukosit sebelum perlakuan (\bar{X}_i)	Penyimpangan $(\bar{X}_i - \bar{X})$	Koreksi $b_{Y.X}$ $(\bar{X}_i - \bar{X})$	Rerata kuantitas leukosit sesudah perlakuan \bar{Y}_i	Rerata kuantitas leukosit terkoreksi \bar{Y}_i -koreksi
1	5125	-502,1	-503,6	6275	6778,6
2	5091,7	-535,4	-537	6558,3	7095,3
3	6091,7	464,6	465,9	7775	7309,1
4	6200	572,9	574,6	8400	7825,4

Keterangan $\bar{X} = 5627,1$

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

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
1	6275	a
2	6558,3	a
3	7775	b
4	8400	c

Lampiran 6. Data Persentase Limfosit Tikus Putih

Tabel 6.1 Data Persentase Limfosit Darah Awal Tikus Putih (sebelum diberi ekstrak kelopak Rosela dan NaNO_2)

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
R ₀	65	73	78	68	80	75	439	73,2
R ₁	83	72	69	78	78	66	446	74,3
R ₂	77	63	72	75	75	69	431	72
R ₃	75	70	63	70	63	79	420	70

Tabel 6.2 Data Persentase Limfosit Darah Tikus Putih Setelah Pemberian NaNO_2

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
R ₀	54	63	65	63	68	65	378	63
R ₁	66	52	50	64	62	51	345	57,5
R ₂	60	53	59	61	65	50	348	58
R ₃	59	65	50	58	52	62	346	57,7

Tabel 6.3 Data Persentase Limfosit Darah Tikus Putih Setelah Pemberian Rosela

Perlakuan	Ulangan						Total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
R ₀	61	69	70	68	71	71	410	68,3
R ₁	73	61	60	74	74	69	411	68,5
R ₂	80	75	70	79	79	76	459	76,5
R ₃	82	78	76	79	77	81	473	78,8

Lampiran 7. Perhitungan ANKOVA Persentase Limfosit Darah Tikus Putih

A. Pengamatan XX (sebelum perlakuan)

1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}FK &= \frac{(\sum X)^2}{t.r} \\ &= \frac{(1417)^2}{24} \\ &= 83662,04\end{aligned}$$

2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}JK_{total} &= \sum X^2 - FK \\ &= (54^2 + 66^2 + \dots + 62^2) - 83662,04 \\ &= 820,9 \\ &= 41.184.895,8 \\ JK_{perlakuan} &= \frac{[(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + \dots + (\sum X_4)^2]}{r} - FK \\ &= 378^2 + 345^2 + \dots + 346^2 - 83662,04 \\ &= 126,1 \\ JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 41.184.895,8 - 126,1 \\ &= 694,8 \\ 3) Menghitung JK Perlakuan + JK Galat (JK_{P+G}) \\ JK_{P+G} &= JK_{perlakuan} + JK_{Galat} \\ &= 126,1 + 694,8 \\ &= 820,9\end{aligned}$$

B. Pengamatan XY

1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned}FK &= \frac{(\sum X \sum Y)}{t.r} \\ &= \frac{1417.1753}{24} \\ &= 103500\end{aligned}$$

2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum(X.Y) - FK \\ &= [(54.61) + (66.73) + \dots + (62.81)] \\ &= 103726 - 103500 \\ &= 226 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{perlakuan} &= \frac{(\sum X \cdot \sum Y) + \dots + (\sum X \cdot \sum Y)}{6} - FK \\ &= \frac{(378.410) + \dots + (346.473)}{6} - 103500 \\ &= 103360,8 - 103500 \\ &= -139,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK_{Galat} &= JK_{total} - JK_{perlakuan} \\ &= 226 - (-139,2) \\ &= 365,2 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} JK_{P+G} &= JK_{Perlakuan} + JK_{Galat} \\ &= -139,2 + 365,2 \\ &= 226 \end{aligned}$$

C. Pengamatan YY (sebelum perlakuan)

1) Menghitung Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} FK &= \frac{(\sum XY)^2}{t.r} \\ &= \frac{(1753)^2}{24} \\ &= 128042 \end{aligned}$$

2) Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} JK_{total} &= \sum Y^2 - FK \\ &= 61^2 + 73^2 + \dots + 81^2 - 128042 \\ &= 128949 - 128042 \\ &= 906,9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{[(\sum Y_1)^2 + (\sum Y_2)^2 + \dots + (\sum Y_4)^2]}{r} - FK \\
 &= \frac{(410^2 + 411^2 + \dots + 473^2)}{6} - 128042 \\
 &= 128571,8 - 128042 \\
 &= 529,8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}} \\
 &= 906,9 - 529,8 \\
 &= 377,2
 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned}
 JK_{P+G} &= JK_{\text{Perlakuan}} + JK_{\text{Galat}} \\
 &= 529,8 + 377,2 \\
 &= 907
 \end{aligned}$$

D. Menghitung Db Awal

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

$$\begin{aligned}
 2) \text{ Db Galat} &= (rt-1) - (t-1) \\
 &= (6 \cdot 4 - 1) - (4 - 1) \\
 &= 20
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3) \text{ Db Total} &= (rt-1) \\
 &= (6 \cdot 4 - 1) \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

E. Menghitung JK regresi

$$\begin{aligned}
 1) \text{ JKR}_{\text{Galat}} &= \frac{(JK_{\text{Galat}})_{XY}^2}{JK_{\text{Galat}}_{XX}} \\
 &= \frac{(JK_{XY})^2}{JK_{XX}}
 \end{aligned}$$

$$= \frac{(365,2)^2}{694,8}$$

$$= 191,9$$

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

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

$$= \frac{(226)^2}{820,9}$$

$$= 62,2$$

F. Menghitung JK Galat Regresi Terkoreksi (JKGTR)

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

$$= \text{JK}_{YY} - \text{JK regresi}$$

$$= 377,2 - 191,9$$

$$= 185,3$$

$$2) \text{JKGTR}_{P+G} = P_{YY+G_{YY}} - \frac{(P_{XY+G_{XY}})^2}{P_{XX+G_{XX}}}$$

$$= \text{JK}_{YY (P+G)} - \text{JK regresi}_{YY (P+G)}$$

$$= 906,9 - 62,2$$

$$= 844,7$$

G. Menguji Perlakuan Terkoreksi (MPT)

$$\text{MPT} = \left[P_{YY+G_{YY}} - \frac{(P_{XY+G_{XY}})^2}{P_{XX+G_{XX}}} \right] - \left[G_{YY} - \frac{(G_{XY})^2}{G_{XX}} \right]$$

$$= \text{JKGT}_{P+G} - \text{JKGT}_{Galat}$$

$$= 844,7 - 185,3$$

$$= 659,4$$

H. Menghitung Db Terkoreksi

$$1) \text{Db}_{Galat} = [(r-t)(t-1)] - 1$$

$$= 14$$

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

$$= 17$$

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

I. Menghitung KT Galat Murni (KTGM)

$$\begin{aligned} 1) \text{KTGM}_{Galat} &= G \frac{G_{XY} \cdot (G_{XY}) G_{XY}}{[(r-1)(t-1)]-1} \\ &= \frac{\text{JK Regresi Terkoreksi}}{\text{Db}} \\ &= \frac{185,3}{14} \\ &= 13,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2) \text{KT Perlakuan Terkoreksi} &= \frac{\text{JKGT}}{\text{Db}} \\ &= \frac{659,4}{3} \\ &= 219,8 \end{aligned}$$

J. Tabel ANKOVA

SK	Db	JK			JK Regresi	Db	JK Galat Terkoreksi	Db	KT Galat Murni
		XX	XY	YY					
Perlakuan	3	126,1	-139,2	529,8	-	-	-	-	-
Galat	20	694,8	365,2	377,2	191,9	1	185,3	14	13,2
Perlakuan+Galat	23	820,9	226	906,9	62,2	1	844,7	17	-
Menguji Perlakuan	-	-	-	-	-	-	659,4	3	219,8

K. Mencari F Hitung

$$\begin{aligned} \text{F hitung} &= \frac{\text{KTGM (MPT)}}{\text{KTGM (G)}} \\ &= \frac{219,8}{13,2} \\ &= 16,6 \end{aligned}$$

L. Mencari BNT 5%

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

$$(S_d) =$$

$$\sqrt{\frac{KTGM}{r} \left[1 + \frac{JKPerlakuan_x}{(Perlakuan - 1)(JKGalat_x)} \right]}$$

$$= \sqrt{\frac{13,2}{6} \left[1 + \frac{126,1}{3(694,8)} \right]}$$

$$= \sqrt{2,2(1+0,06)}$$

$$= \sqrt{2,3}$$

$$= 1,5$$

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

$$= 2,1 \times 1,5$$

$$= 3,2$$

M. Menghitung Perlakuan Rata-rata Terkoreksi

$$\begin{aligned} 1) \quad b &= \frac{G_{xy}}{G_{xx}} \\ &= \frac{365,2}{694,8} \\ &= 0,5 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \bar{x} &= \frac{\sum x}{r.t} \\ &= \frac{1417}{24} \\ &= 59 \end{aligned}$$

N. Tabel Perlakuan Rata-Rata Terkoreksi

Perlakuan	Rerata kuantitas leukosit sebelum perlakuan \bar{X}_i	Penyimpangan $(\bar{X}_i - \bar{X})$	Koreksi $b_{Y.X}$ $(\bar{X}_i - \bar{X})$	Rerata kuantitas leukosit sesudah perlakuan \bar{Y}_i	Rerata kuantitas leukosit terkoreksi \bar{Y}_i -koreksi
1	63	3,9	1,9	68,3	66,4
2	57,5	-1,6	-0,8	68,5	69,3
3	58	-1,1	-0,6	76,5	77,1
4	57,7	-1,4	-0,7	78,8	79,5

Keterangan $\bar{X} = 59,1$

Ringkasan Uji BNT 5% dari Peningkatan Persentase Limfosit Darah Tikus Putih Anemia yang Diberi Ekstrak Kelopak Rosela

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
1	68,3	a
2	68,5	a
3	76,5	b
4	78,8	b

Lampira 8. Hasil Analisis Nilai Gizi Serbuk kelonak Rosela

Lampiran Surat No. 650 /LK-B/VIII/2009

Hasil Analisis Kimia Sampel Serbuk Rosela

Parameter - Satuan	Hasil	
	1	2
Vitamin C – mg/100 g	236,223	234,932
Besi (Fe) – mg/100 g	331,264	339,604
Asam Folat – mg/100 g	64,794	63,322
Jenis Asam Amino:		
- Prolin	Kualitatif	Kualitatif
- Valin	Kualitatif	Kualitatif
- Asam Glutamat	Kualitatif	Kualitatif
- Glisin	Kualitatif	Kualitatif
- Isoleusin	Kualitatif	Kualitatif
- Leusin	Kualitatif	Kualitatif
- Lisin	Kualitatif	Kualitatif

Malang, 10 Agustus 2009

Analisis,



M. Ariessandy, SP

Tabel 8.1 Beberapa Kandungan Gizi Serbuk Kelopak Rosela :

Dosis	Kandungan Gizi		
	Vitamin C	Zat Besi	Asam Folat
0,18 g	0,42	0,61	0,11
0,36 g	0,85	1,22	0,23
0,72 g	1,69	2,45	0,46

Lampiran 9. Alat dan Bahan dalam Penelitian



Larutan Turk dan Na Sitrat



**Giemsa, Metanol dan
Obyrk glass**



Haemocytometer



Alkohol, Betadin, Kapas dan Syringe

Lampiran 10. Metode Ekstraksi, Pengambilan Darah dan Penyekokan

