

AKTIVITAS FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP PENINGKATANJUMLAH ERITROSIT TIKUS ANEMIA

DOI: <https://doi.org/10.22236/semnas.v1i1.99>

Ani Pahriyani¹, Ema Dewanti¹, Nafa Widya Anggraeni¹

^{1,2,3}Universitas Muhammadiyah Prof.DR. HAMKA

ani_pahriyani@uhamka.ac.id

Abstract. *Roselle leaves have been widely used for treatment. one of its efficacy to increase the number of erythrocytes. This study aims to determine the activity fraction of roselle leaves (*Hibiscus sabdariffa* L.) on increasing the number of erythrocytes in anemic white male rats. The test was carried out by dividing 25 rats into 5 groups, there were; normal control was not induced and given Na-CMC 0.5%, a group induced NaNO₂ but not given fraction. water fraction group, ethyl acetate and n-hexane NaNO₂ was induced for 18 days and given 1.7412 mg/200g BW from each fraction for 14 days. Blood collection was carried out through the rat's tail and the erythrocyte counted was measured using a hematology analyzer. One way ANOVA was used to analyze the data of erythrocytes' quantity and continued with tukey test. The results revealed that the water fraction, ethyl acetate fraction and n-hexane fraction of rosella leaves had activity on white male anemic induced by NaNO₂. The conclusion variation of fraction have same activity to increase the number of erythrocytes reached normal erythrocyte.*

Key words: *Erythrocytes, Anemic, rosella leaves' fraction, *Hibiscus sabdariffa* L..*

Abstrak. Daun rosela banyak dimanfaatkan untuk pengobatan, salah satunya untuk meningkatkan jumlah eritrosit. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap peningkatan jumlah eritrosit tikus putih jantan anemia. Pengujian dilakukan dengan membagi 25 ekor tikus dalam 5 kelompok, yaitu kontrol normal tidak diinduksi dan diberikan Na-CMC 0,5%, kelompok negatif diinduksi NaNO₂ dan diberikan Na-CMC 0,5%, kelompok fraksi air, etil asetat dan n-heksan diinduksi NaNO₂ selama 18 hari dan diberikan masing-masing fraksi dengan dosis 1,7412 mg/200g BB selama 14 hari. Pengambilan darah dilakukan melalui ekor tikus lalu diukur jumlah eritrosit dengan menggunakan *hematology analyzer*. Data jumlah eritrosit dianalisis menggunakan ANOVA *one way* dan dilanjutkan dengan uji tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun rosela memiliki aktivitas terhadap tikus putih jantan anemia yang diinduksi NaNO₂. Variasi fraksi yang dilakukan mampu meningkatkan jumlah eritrosit mencapai jumlah eritrosit normal.

Kata kunci: Eritrosit, Anemia, fraksi daun rosella, *Hibiscus sabdariffa* L.

PENDAHULUAN

Eritrosit atau sering disebut dengan sel darah merah adalah sel yang memiliki bentuk cakram bikonkaf, tidak bergerak, elastis dan berwarna merah (Nugraha 2017). Eritrosit memiliki diameter 7,5 μm , tebal 2,0 μm , dan jumlah eritrosit normal sekitar 4,5-5 juta/ mm^3 . Penurunan jumlah eritrosit $\leq 4,5$ juta/ mm^3 dikategorikan sebagai anemia (Nugraha 2017). Anemia didefinisikan dengan penurunan jumlah eritrosit dibandingkan dengan jumlah normal (Kiswari 2014). Anemia dapat disebabkan oleh gangguan pembentukan sel darah merah atau destruksi sel darah merah yang berlebihan (Corwin 2009).

Penggunaan obat tradisional saat ini sudah banyak digunakan oleh masyarakat dalam mengobati berbagai penyakit. Masyarakat memilih obat tradisional sebagai salah satu terapi, dikarenakan obat tradisional memiliki efek samping yang minimal dibandingkan dengan obat sintetik. Penanganan pada anemia adalah dengan menaikkan jumlah eritrosit atau kadar hemoglobin. Salah satu bahan alam yang mampu meningkatkan jumlah eritrosit adalah daun rosela (*Hibiscus sabdariffa*).

Rosela adalah tanaman yang berasal dari *family Malvaceae* yang dapat hidup di daerah tropis dan subtropis. Rosela memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tannin, saponin, steroid, terpenoid dan fenol. Dan tanaman ini memiliki kandungan lain yaitu berupa protein, lemak, karbohidrat dan mineral (Brahma *et al* 2014). Flavonoid merupakan faktor yang berhubungan dengan pembentukan eritrosit.

Sembiring dkk (2012) telah meneliti bahwa ekstrak daun rosela dapat meningkatkan kadar eritrosit dan hemoglobin pada mencit. Pemberian ekstrak daun rosela 42 mg/ekor efektif meningkatkan rata-rata jumlah sel darah merah sebesar 20.230.000 sel/ mm^3 . Maka berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela dalam meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus anemia.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain *rotary evaporator* (EYELA N-1100-Jepang), blender (Philips- Belanda), timbangan analitik (OHAUS- Amerika Serikat),

timbangan berat badan tikus (NAKAMI- China), *Hematology Analyzer* (NIHON KOHDEN- Eropa), Dan tabung EDTA (Vaculab- Indonesia).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain, etanol 70% (PT. Harum Kimia), *aquadest* (PT. Harum Kimia), *N*-heksan (PT. Harum Kimia), etil asetat (PT. Harum Kimia), reagen skrining fitokimia, NaNO₂ (PT. Merck) , Na-CMC (PT. Brataco), makanan dan minuman tikus.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan galur *Sprague dawley* dengan umur 2-3 bulan dan berat 150-200 g yang dibeli di IPB-Bogor. Simplisia daun rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO)-Bogor.

Metode

1. Determinasi Tanaman dan Pengumpulan Bahan

Tanaman yang digunakan adalah tanaman rosela yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO).Sebelum dilakukan penelitian, daun rosela yang didapat dideterminasi terlebih dahulu di Herbarium Bogoriense Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI Kebun Raya Bogor.

2. Persiapan Hewan Uji dan ekstrak daun rosela

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari Hewan percobaan yang digunakan sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Ekstraksi dilakukan dengan cara serbuk daun rosela diekstraksi menggunakan metode maserasi, 300 g serbuk daun rosela dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan etanol 70% sebanyak 1,5 L. Pada 6 jam pertama perendaman sesekali dilakukan pengadukan, lalu didiamkan selama 18 jam. Wadah diletakkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung. Kemudian maserat disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan etanol 70% dengan perlakuan yang sama (remaserasi). Proses remaserasi diulangi sebanyak 4 kali. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50° C dan diuapkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian hasil yang diperoleh ditimbang dan dicatat, kemudian dihitung rendemennya (Depkes RI 2008).

3. Pembuatan Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela

Ekstrak kental etanol sebanyak 300 g dilarutkan dengan aquades sedikit demi sedikit ad larut, kemudian ad kan hingga 500 ml aquadest dan tambahkan 150 ml *n*-heksana pada corong pisah. Dilakukan fraksinasi dengan dikocok selama ± 5 menit. Setelah itu didiamkan hingga terbentuk 2 lapis cairan yaitu fraksi *n*-heksana di bagian atas dan fraksi air di bagian bawah. Dilakukan pengulangan dengan menambahkan *n*-heksana sebanyak 150 ml. Pengulangan ini dilakukan hingga lapisan fraksi *n*-heksana jernih.

Fraksi air yang diperoleh sebelumnya dari hasil fraksinasi dengan *n*-heksana difraksinasi kembali dengan etil asetat sebanyak 150 ml kemudian dikocok selama ± 5 menit. Setelah itu didiamkan hingga terbentuk 2 lapis cairan yaitu fraksi etil asetat pada bagian atas dan fraksi air pada bagian bawah. Dilakukan pengulangan dengan menambahkan etil asetat sebanyak 150 ml. Pengulangan ini dilakukan hingga lapisan fraksi etil asetat jernih. Fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang di dapat dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40° C, 45° C, dan 50° C, kemudian diuapkan dengan *waterbath* hingga diperoleh fraksi kental. Kemudian hasil yang diperoleh ditimbang dan dicatat yang kemudian dihitung rendemennya.

4. Pemeriksaan Karakteristik

a. Organoleptik, rendemen dan susut pengeringan serta kadar abu

Pemeriksaan organoleptik meliputi pemeriksaan bentuk, bau, rasa dan warna terhadap ekstrak dan fraksi daun rosela (Depkes 2000). Perhitungan rendemen ekstrak kental dapat dilakukan dengan cara menghitung berat ekstrak kental yang diperoleh terhadap berat serbuk simplisia yang diekstraksi kemudian dikalikan 100% dan perhitungan rendemen fraksi kental dapat dilakukan dengan cara menghitung berat fraksi kental yang diperoleh terhadap berat ekstrak kental yang difraksinasi kemudian dikalikan 100%. Penetapan susut pengeringan menggunakan alat *moisture balance* dengan memastikan *waterpass* berada pada posisi lingkaran tengah, serta semua aksesoris alat terpasang. Atur alat sesuai dengan prosedur yang ada. Timbang sampel sesuai range yang tertera pada alat lalu tutup alat. Proses pemanasan akan berjalan secara otomatis dan tunggu sampai proses pemanasan selesai. Catat hasil analisa, biarkan suhu turun terlebih dahulu $\pm 30^\circ$ C. setelah suhu turun keluarkan sampel lalu matikan alat. Susut pengeringan ini dilakukan terhadap ekstrak dan Fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela.

Penetapan kadar abu dilakukan terhadap ekstrak etanol 70% daun rosela dengan menimbang saksama 2-3 g ekstrak yang telah dihaluskan, lalu masukan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan hingga menjadi arang. Masukan kurs ke dalam tanur pijarkan hingga bobot konstan. Kadar abu dihitung dalam persen bobot per bobot (b/b) (Depkes RI 2008).

b. Penapisan Fitokimia

Tabel 1. Uji Penapisan Fitokimia (Hanani 2015)

Kandungan Kimia	Cara Identifikasi
Fenol	Sampel 0.5 ml + FeCl ₃ , dipanaskan
Alkaloid	Sampel 0.5 ml + 1 mL HCl 2N + 9 ml aquadest, dipanaskan lalu didinginkan dan disaring, filtrat dibagi menjadi 3 tabung. Tabung 1 di + 1-2 tts pereaksi Dragenfroff, tabung 2 di + 1-2 tts pereaksi Mayer dan tabung 3 di + 1-2 tts pereaksi Bouchardat
Flavonoid	Sampel 0.5 ml + etanol 96% 1-2 ml dipanaskan lalu disaring. Filtrat + HCl & sebuk mg (1:1)
Saponin	Sampel 0.5 ml + air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat + 1 tts HCl 2N
Tanin	Sampel 0.5 ml + 10 ml aquadest, panaskan, didinginkan dan disaring. Filtrat + 1 tts FeCl ₃ 1 %
Triterpenoid dan Steroid	Sampel 0.5 ml + 5 ml etanol, dipanaskan 25 menit lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diuapkan + 3 tts eter + 3 tts AAA + 1 tts H ₂ SO ₄ (P)

Keterangan :

Sampel = ekstrak etanol 70% dan variasi fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela

5. Pembuatan Sediaan Induksi

Dosis penginduksi NaNO₂ adalah 25 mg/200 gBB tikus. NaNO₂ diberikan 1x dalam sehari (Munawarroh 2009). NaNO₂ sebanyak 500 mg dimasukkan dalam wadah, kemudian disuspensikan dengan Na-CMC 0,5% sebanyak 20 ml dan diberikan melalui oral dengan volume yang sesuai dengan BB tikus.

6. Pengelompokan dan Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Penelitian ini telah di setujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan UHAMKA dengan nomor kode etik: 02/19.03/011. Hewan uji sebanyak 25 ekor dibagi dalam 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, seluruh hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Hari ke-0 dilakukan pengambilan darah awal untuk mengetahui kadar awal masing-masing tikus. Hari ke-1 sampai 18 kontrol normal diberikan Na-CMC 0,5%, kontrol negatif, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air diberikan NaNO_2 sebagai penginduksi anemia dengan dosis 25 mg/200g BB tikus. Hari ke-19 dilakukan pengambilan darah tengah untuk memastikan induksi yang diberikan telah menyebabkan anemia pada tikus. Pada hari ke- 19 sampai 33 kontrol normal dan negatif diberikan Na-CMC 0,5%. Sedangkan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air diberikan masing-masing fraksi dari ekstrak etanol 70% dengan dosis 1,7412 mg/200g BB tikus secara oral. Pada hari ke-34 dilakukan pengambilan darah akhir untuk mengetahui jumlah eritrosit setelah perlakuan.

7. Pengukuran Jumlah Eritrosit

Darah yang ditampung pada *vacuette* dikocok seperti angka delapan terlebih dahulu, agar darah dan senyawa *ethylene diamine tetraacetic acid* yang terdapat pada *vacuette* bercampur. Kemudian darah dimasukkan pada selang yang akan menyedot darah sehingga dapat terbaca pada alat *hematology analyzer*.

Analisa Data

Data jumlah eritrosit yang diperoleh kemudian dianalisa secara statistik. Masing-masing data terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya. Jika hasil uji menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah. Kemudian dilihat ada tidaknya perbedaan perbedaan secara signifikan, jika terdapat perbedaan (nilai $\text{sig} < 0,05$) maka dapat dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antara dua perlakuan atau lebih (Santosa dan Ashari 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Identifikasi Tanaman

Tanaman rosela dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi – LIPI Kebun Raya Bogor. Hasil determinasi menunjukkan bahwa

tanaman uji adalah rosela dengan nama lain *Hibiscus sabdariffa* L. yang termasuk dalam suku Malvaceae.

2. Hasil Pengolahan Simplisia Daun Rosela

Hasil perolehan ekstrak kental daun rosela dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengolahan Simplisia Daun Rosela

No	Jenis	Hasil
1.	Daun rosela segar	21 Kg
2.	Daun rosela kering	3,5 Kg
3.	Serbuk kering	2,4 Kg

Tabel diatas menunjukkan adanya penyusutan berat mulai dari daun segar, daun kering hingga menjadi serbuk. Hal ini terjadi akibat adanya penyusutan kandungan air yang terdapat pada daun rosela selama proses panen, pengeringan dan penyerbukan.

3. Hasil Ekstraksi Daun Rosela

Hasil perolehan ekstrak kental daun rosela dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perolehan Ekstrak Daun Rosela

No	Jenis	Hasil
1.	Serbuk yang digunakan untuk maserasi	2400 g
2.	Ekstrak kental	481,3703 g

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode pengerjaan dan alat-alat yang digunakan sederhana serta untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa pada simplisia yang tidak tahan pada pemanasan (Kumoro 2015). Etanol 70% digunakan sebagai pelarut maserasi, karena sebagai pelarut *universal*, tidak beracun, menghambat pertumbuhan mikroba yang mengakibatkan kerusakan kandungan senyawa dan memiliki 2 gugus, alkil yang bersifat nonpolar dan hidroksil yang bersifat polar. Kedua gugus ini diharapkan dapat menarik senyawa yang terdapat dalam tanaman baik yang bersifat polar maupun nonpolar.

4. Hasil Fraksinasi Daun Rosela

Hasil perolehan fraksi kental daun rosela dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Perolehan Ekstrak Daun Rosela

No	Jenis	Hasil
1.	Ekstrak kental yang digunakan untuk fraksi	300 g
2.	Fraksi kental n-heksan	4,9892 g
3.	Fraksi kental etil asetat	13,0376 g
4.	Fraksi kental air	247 g

5. Hasil Karakteristik Mutu

a. Hasil Organoleptis

Hasil pemeriksaan organoleptis daun rosela dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Daun Rosela

No	Jenis	Hasil			
		Bentuk	Bau	Rasa	Warna
1.	Daun rosela segar	Daun menjari	Khas	Pahit	Hijau tua
2.	Serbuk daun rosela	Serbuk halus	Khas	Pahit	Hijau lumut
3.	Ekstrak kental	Padat lengket	Khas	Pahit	Coklat
4.	Fraksi kental air	Padat lengket	Khas	Pahit	Coklat
5.	Fraksi kental etil asetat	Padat lengket	Khas	Pahit	Coklat
6.	Fraksi kental n-heksan	Padat lengket	Khas	Pahit	Hijau

Pemeriksaan organoleptis dengan menggunakan panca indra. Indra penglihatan untuk pemeriksaan warna, indra penciuman untuk pemeriksaan bau, indra perasa untuk pemeriksaan rasa dan untuk bentuk menggunakan indra penglihatan dan peraba. Pemeriksaan ini dilakukan terhadap daun rosela segar hingga fraksi kental.

b. Hasil Susut Pengerangan

Hasil susut pengeringan ekstrak dan fraksi daun rosela dapat dilihat di tabel 6.

Tabel 6. Hasil Susut Pengerangan Ekstrak dan Fraksi

No	Jenis	Hasil Pengukuran		Rata-rata Susut Pengerangan
		(%Mc)		
1.	Ekstrak kental	1.	6,58	5,68 % Mc
		2.	5,31	
		3.	5,16	
2.	Fraksi kental air	1.	2,33	1,86 % Mc
		2.	2,11	
		3.	1,16	
3.	Fraksi kental etil asetat	1.	3,31	2,58 % Mc
		2.	3,11	
		3.	1,32	
4.	Fraksi kental n-heksan	1.	2,35	2,40 % Mc
		2.	1,96	
		3.	2,91	

Ekstrak etanol 70% daun rosela menunjukkan presentase sebesar 5,68%, fraksi air sebesar 1,86%, fraksi etil asetat sebesar 2,58% dan fraksi n-heksan sebesar 2,40%. Hasil ini memenuhi persyaratan literatur yaitu $\leq 10\%$.

c. Hasil Kadar Abu

Kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal sejak awal proses hingga terbentuknya ekstrak. Prinsip kadar abu pada penelitian ini adalah ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap hingga hanya tersisa unsur mineral dan anorganik. Data yang didapatkan setelah pengujian kadar abu adalah 2,37%, hasil ini menunjukkan bahwa

kadar mineral dan senyawa anorganik yang terdapat pada tanaman daun rosela berjumlah sedikit.

6. Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia ekstrak dan fraksi kental daun rosela dapat dilihat di tabel 7. Tabel tersebut menunjukkan hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak dan fraksi daun rosela. Ekstrak daun rosela mengandung fenol, flavonoid, saponin, dan tanin, hasil ini jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya memiliki persamaan yang berbeda hanya pada kandungan alkaloid. Penelitian Pratiwi (2016) menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun rosela mengandung alkaloid dengan menggunakan dua reagen yaitu Mayer dan Dragendroff, sedangkan skrining fitokimia pada penelitian ini untuk senyawa alkaloid menggunakan tiga reagen yaitu Mayer, Dragendroff dan Bouchardat. Hasil yang didapatkan dari ketiga reagen tersebut positif untuk Dragendroff dan negatif untuk Mayer dan Bouchardat sehingga dikatakan bahwa negatif alkaloid.

Tabel 7. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela

No	Senyawa	Hasil			
		Ekstrak	Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi N-Heksan
1.	Alkaloid	-	-	-	-
2.	Fenol	+	+	+	-
3.	Flavonoid	+	+	+	-
4.	Saponin	+	+	+	-
5.	Tanin	+	+	+	-
6.	Triterpenoid/ Steroid	-	-	-	+

Keterangan:

+ = ada

- = tidak ada

-

Hasil skrining fitokimia fraksi air dan etil asetat mengandung fenol, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil tersebut jika dibandingkan dengan ekstrak etanol 70% daun rosela mengandung senyawa yang sama. Sedangkan hasil skrining fitokimia pada fraksi n-heksan memiliki perbedaan jika dibandingkan dengan fraksi air dan fraksi etil asetat yaitu hasil skrining untuk senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, dan tanin adalah negatif. Hasil positif terdapat pada senyawa steroid yang memberikan warna hijau hanya pada fraksi n-heksan. Senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin dan tanin pada umumnya bersifat polar dan semi polar, sehingga tidak dapat ditarik oleh fraksi n-heksan yang bersifat non polar. Akan tetapi jika dilihat dari uji farmakologi fraksi n-heksan memiliki aktivitas. Hal ini diduga skrining fitokimia dari fraksi n-heksan adalah negatif palsu. Reaksi negatif palsu adalah hasil pengujian menyatakan negatif tapi sebenarnya positif. Faktor yang dapat mempengaruhi reaksi negatif palsu pada fraksi n-

heksan adalah kandungan senyawa yang terlalu sedikit sehingga senyawa yang ada menjadi hilang karena adanya reaksi enzimatik maupun hidrolisis.

7. Hasil Pengukuran Jumlah Eritrosit

Pada penelitian anemia secara *in vivo* menggunakan hewan uji berupa tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* dengan berat badan berkisar 150-200 g dan usia 2-3 bulan, karena pada kedua faktor tersebut perkembangan organ tubuh tikus telah sempurna. Sebelum dilakukan penelitian, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan dan perlakuan yang akan dilakukan. Tikus yang dipilih adalah tikus berjenis kelamin jantan karena tikus jantan tidak memiliki hormon estrogen dalam jumlah banyak. Pada tikus jantan juga memiliki kondisi hormonal yang lebih stabil dibanding dengan tikus betina, karena tikus betina akan mengalami siklus *estrus*, yaitu masa kehamilan dan menyusui yang mempengaruhi psikologis hewan.

Hewan uji yang digunakan sebanyak 25 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok uji, setiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus dan penginduksi serbuk NaNO_2 merupakan bahan pengawet makanan yang banyak dimanfaatkan pada olahan daging. NaNO_2 digunakan sebagai penginduksi anemia, karena menyebabkan tekanan oksidatif pada protein eritrosit dan merusak struktur membran eritrosit dengan cara mengikat protein secara silang (*cross linking*) sehingga eritrosit mudah pecah atau lisis (Ambarwati 2012). Dosis NaNO_2 yang digunakan adalah 25 mg/ 200 gBB secara oral dengan penggunaan 1 kali sehari (Munawarroh 2009). Jumlah eritrosit normal tikus adalah $5,00 - 12,00 \times 10^6 / \mu\text{l}$, maka tikus dikatakan anemia jika jumlah eritrosit kurang dari $5,00 \times 10^6 / \mu\text{l}$ (Kusumawati 2016). Menurut Sembiring dkk (2012) pemberian NaNO_2 selama 18 hari menyebabkan anemia.

Setelah aklimatisasi dilakukan pengambilan darah awal untuk mengukur jumlah eritrosit awal, sehingga dipastikan jumlah eritrosit semua hewan coba berada dalam batas normal yaitu $5,00 - 12,00 \times 10^6 / \mu\text{l}$ (Kusumawati 2016). Jumlah eritrosit pada manusia sebanyak $4,5-6 \times 10^6 / \mu\text{l}$ (Kiswari 2014). *Range* jumlah eritrosit tikus lebih besar dibandingkan dengan manusia, dikarenakan ukuran sel darah yang berbeda tiap spesies, kondisi biologis, aktivitas, kebutuhan dan lingkungan hidupnya (Pusat penelitian dan pengembangan peternakan 2016).

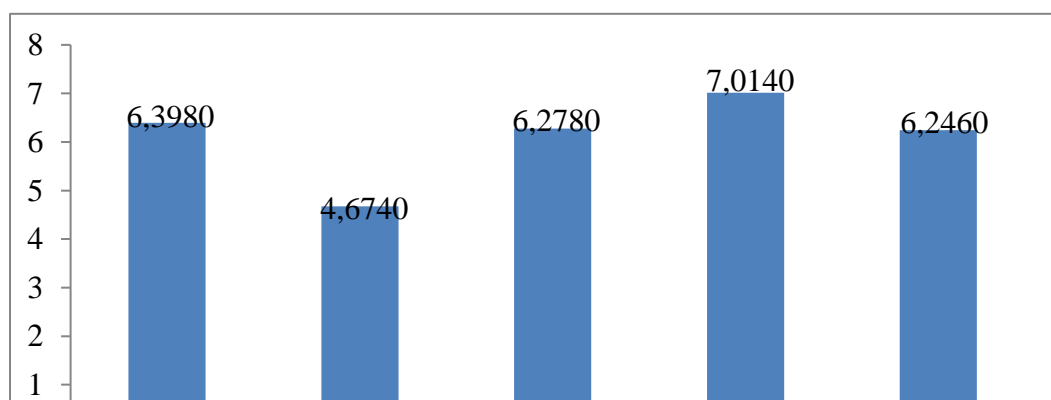
Pengambilan darah tikus dilakukan melalui ekor tikus dengan cara, memasukan tikus ke dalam holder tikus agar tikus dapat dikendalikan, kemudian

rendam ekor tikus dalam air hangat untuk melebarkan pembuluh darah vena yang terdapat pada ekor, lalu potong ekor tikus ± 2 mm. Tampung darah sebanyak 0,5 ml pada *vacuette* yang berisi *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) sebagai antikoagulan. Jumlah Eritrosit diukur dengan menggunakan alat *hematology analyzer* yang berada pada Pusat Studi Satwa dan Primata (PSSP), IPB-Bogor. Prinsip kerja alat tersebut adalah didasarkan pada sistem *flow cytometer*, yaitu sistem yang memungkinkan darah sampel dapat mengalir melalui suatu celah yang sangat sempit hingga sel darah yang melaluinya dapat lewat satu persatu sehingga jumlah sel dapat dihitung (Nihon Kohden 2002).

Tabel 8. Hasil Rata-rata Peningkatan Jumlah Eritrosit

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Peningkatan Jumlah Eritrosit($\times 10^6/\text{mm}^3$)
Normal	6,3980
Negatif	4,6740
Fraksi n-heksan	6,2780
Fraksi etil asetat	7,0140
Fraksi air	6,2460

Data yang diperoleh dari alat *hematology analyzer* merupakan data jumlah eritrosit pada pengukuran awal, setelah induksi dan setelah perlakuan. Data diolah untuk mencari peningkatan jumlah eritrosit tiap kelompok uji, kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui jumlah eritrosit terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas yang di dapatkan sebesar 0,200 hasil ini memenuhi syarat uji normalitas ($P \geq 0,05$). Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui jumlah eritrosit terdistribusi homogen atau tidak. Syarat uji homogenitas sama dengan uji normalitas yaitu $P \geq 0,05$. Hasil uji homogenitas yang diperoleh sebesar 0,311, maka data tersebut memenuhi persyaratan uji homogenitas. Analisis data dilanjutkan dengan ANOVA *one way* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Hasil dari uji ANOVA *one way* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$) antara kelompok perlakuan.



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Peningkatan Jumlah Eritrosit

Pada data rata-rata jumlah eritrosit yang diperoleh dari setiap kelompok, NaNO_2 mampu menyebabkan anemia sebesar $4,6740 \times 10^6/\text{mm}^3$. Peningkatan jumlah eritrosit masing-masing fraksi berbeda-beda yaitu fraksi air $6,2460 \times 10^6/\text{mm}^3$, fraksi etil asetat $7,0140 \times 10^6/\text{mm}^3$ dan fraksi n-heksan $6,2780 \times 10^6/\text{mm}^3$, sedangkan pada kelompok normal didapatkan jumlah eritrosit sebesar $6,3980 \times 10^6/\text{mm}^3$. Ketiga fraksi ini memiliki kemampuan yang mendekati kelompok normal. Pada fraksi air dan fraksi etil asetat memiliki kandungan flavonoid yang berperan dalam proses pembentukan eritrosit. (Da-Costa-Rocha *et al.* 2014).Gosipetin, hibisetin dan sabdaretin adalah flavonoid yang paling banyak terkandung dalam tanaman rosela (Hanani 2015).Ketiga senyawa tersebut termasuk kedalam golongan senyawa flavonol yaitu flavonoid yang bersifat semipolar (Oktaviani dan Megantara 2018).Sedangkan fraksi n-heksan mengalami reaksi negatif palsu untuk senyawa fenol, falvonoid, saponin, tanin.triterpenoid dan steroid, karena semua hasil skrining fitokimia yang didapatkan adalah negatif tetapi pada uji aktivitas fraksi n-heksan mampu meningkatkan jumlah eritrosit. Selain flavonoid senyawa metabolit lain diduga memiliki peranan dalam meningkatkan jumlah eritrosit. Berdasarkan hasil tabel diatas maka variasi fraksi efektif dalam meningkatkan jumlah eritrosit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi air, etil asetat dan fraksi n-heksan daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas terhadap tikus putih jantan anemia yang diinduksi NaNO_2 . Dosis yang digunakan untuk masing-masing fraksi adalah $1,7412 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$ Tikus. Hasil jumlah eritrosit yang didapat menunjukkan bahwa fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan mampu meningkatkan jumlah eritrosit mencapai pada jumlah normalnya

Daftar Pustaka

- Abdollahi M, Khaksar MR. 2014. *Sodium Nitrite*. Dalam : Jurnal *Elsivier*. Iran.
- Ambarwati, R. 2012. *Effect Sodium Nitrit (NaNO₂) To Erithrocyte and Hemoglobin in White Rat (Rattus norvegicus)*. Dalam : Jurnal *Folia MedicalIndonesiana*. Surabaya
- BPOM RI. 2012. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume I*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 12.
- Brahma J, Singh B, Rethy P. 2014. *Bioactive and Nutraceutical Compoun Manipulation in Hibiscus sabdariffa L. Leaves : a Common Undershrub Consumed by The Bodo Tribes of BTC, Assam, India*. Dalam: *Internasional Research Journal ofPharmacy*. India.
- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*, Terjemahan: Nike Budhi Subekti. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm.410, 412.
- Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. 2014.*Hibiscussabdariffa L. A Phytochemical and Pharmacological review*. Dalam:*Journal of Food Chemistry*. Germand.
- Depatemen Kesehatan RI. 2000. *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Jakarta: DirektoratJendral Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 39.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*.Edisi 1.Jakarta:Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. xxv, 169-171, 172, 174.
- Hanani, E. 2015.*Analisis Fitokimia*. Jakarta : EGC. Hlm. 10, 18, 69, 70, 83, 89, 107, 112, 114, 156-157, 202, 232-233.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan; Hlm. 256.
- Kiswari, R. 2014. *Hematologi & Transfusi*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm. 2, 160.
- Kumoro, AC. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*.Plantaxia.Yogyakarta. Hlm. 43-44.
- Kurniawan, FB. 2016. *Hematologi: Praktikum Analis Kesehatan*. EGC. Jakarta. Hlm. 23
- Kusumawati, D. 2016. *Bersahabatlah Dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Hlm. 8-9.
- Mettler Toledo. 2011. *Operating Instructions Moistrure Analyzer HB43-S*.Mettlertoledo AG laboratory and weighing technologies, Switzerland. Hlm, 16, 30.

- Munawaroh, S. 2009. Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Anemia. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Murwani EKA, Iswarin SJ. 2017. *Botani Farmasi*. PT Kanisius, Yogyakarta. Hlm. 168 – 170.
- Nihon Kohden. 2002. *For Veterinary Use Celltac Automated Hematology Analyzer MEK-6450*. Nihon kohden, Eropa. Hlm, 18.
- Nugraha, G. 2017. *Panduan Nasional Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. CV. Trans Info Media, Jakarta. Hlm. 10-11.
- Oktaviani T, Megantara S. 2018. Review : Aktivitas Farmakologi Ekstrak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Dalam: *Jurnal Farmaka Suplemen Volume 16 Nomor1*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung. Hlm. 345 – 351.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 2016. *Penggunaan Dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bandung : Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian; Hlm. 1, 25.
- Pratiwi, L. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Jumlah Trombosit Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Heparin. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA. Jakarta.
- Santosa BP, Ashari. 2005. *Analisis Statistik Dengan Microsoft Excel & SPSS*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Sembiring A, Tanjung M, Sabri E. 2012. Pengaruh Ekstrak Segar Daun Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Mencit Jantan (*Mus musculus* S.) Anemia Strain DDW Melalui Induksi Natrium Nitrit (NaNO_2). Dalam: *Jurnal Universitas Sumatera Utara*. Fakultas Biologi Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Suparmi, Sampurna, Nur ACS, Ednisari AM, Urfani GD, Laila I, Saintika HR. 2016. *Anti-anemia Effect of Chlorophyll from Katuk (*Sauropus androgynus*) Leaves on Female Mice Induced Sodium Nitrite*. Faculty of Medicine Universitas Islam Sultan Agung. Semarang.
- World Health Organization. 2015. *The Global Prevalence of Anemia in 2011*. Geneva: World Health Organization; Hlm. 5-6.