



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK CAIR ANGKAK
(*Monascus purpureus Went Rice*) TERHADAP TROMBOSIT,
ERITROSIT, HEMOGLOBIN, DAN HEMATOKRIT PADA
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ANILIN**

SKRIPSI

ABIGAIL L.B

0606070402

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JULI 2010



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK CAIR ANGKAK
(*Monascus purpureus Went Rice*) TERHADAP TROMBOSIT,
ERITROSIT, HEMOGLOBIN, DAN HEMATOKRIT PADA
TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ANILIN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**ABIGAIL L.B
0606070402**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Abigail L.B

NPM : 0606070402

Tanda Tangan :

Tanggal : 16 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Abigail L.B
NPM : 0606070402
Program Studi : S1 Farmasi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Cair Angkak
(*Monascus purpureus Went Rice*) terhadap
Trombosit, Eritrosit, Hemoglobin, dan Hematokrit
pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Anilin

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Juheini, MS. (.....)

Pembimbing II : Dra. Azizahwati, MS, Apt. (.....)

Penguji I : Drs. Umar Mansur, MSc. (.....)

Penguji II : Dra. Retnosari Andrajati, MS. (.....)

Penguji III : Dr. Silvia Surini, M. Pharm. Sc. (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 16 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, atas Kasih Setia dan AnugerahNya hingga penulis bisa menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini dengan baik.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat mengikuti ujian Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, M.S selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
2. Ibu Dra. Juheini Amin, MSi selaku pembimbing pertama skripsi dan Ibu Dra. Azizahwati, M.Si. Apt. selaku pembimbing kedua skripsi, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasehat selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Nelly D. Leswara, M.Sc. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan perhatian selama penulis menjalani masa perkuliahan.
4. Ibu Dr. Retnosari Andrajati, M.S selaku Kepala Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bimbingan, nasehat, saran, dan izin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium Farmakologi.
5. Ibu Dr. Berna Elya, M.S selaku Koordinator Pendidikan Departemen Farmasi FMIPA UI atas diperkenankannya penulis melakukan penelitian ini.
6. Ibu Santi Purna Sari, MSi, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan konsultasi dan masukan-masukan kepada penulis.
7. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
8. Bapak, Mama, bro Conex, bro Palijak, dan bro Okto yang telah memberikan kasih sayangperhatian, semangat dan bantuan yang tak dapat penulis balas selama hidup penulis.

9. Semua pihak yang tak dapat penulis sebut satu persatu, untuk setiap dukungan doa, semangat dan bantuan yang diberikan, selama penulis menjalani kuliah dan penelitian.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yesus sumber segala berkat, yang akan membalas semua kebaikan pihak-pihak yang telah membantu. Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.



Penulis

2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Abigail L.B
NPM : 0606070402
Program Studi : S1 Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Cair Angkak (*Monascus purpureus Went Rice*) terhadap Trombosit, Eritrosit, Hemoglobin, dan Hematokrit pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Anilin

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 16 Juli 2010

Yang menyatakan

(Abigail L.B)

ABSTRAK

Judul : Abigail L.B
Program Studi : Farmasi
Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Cair Angkak (*Monascus purpureus Went Rice*) terhadap Trombosit, Eritrosit, Hemoglobin, dan Hematokrit pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Anilin.

Angkak merupakan beras hasil fermentasi kapang *Monascus purpureus* yang umum ditemukan dalam makanan berkarbohidrat. Di Indonesia, angkak telah digunakan secara empiris untuk mengobati beberapa penyakit yang terkait dengan gangguan hematologi, namun penelitian ilmiah terkait dengan khasiat angkak terhadap gangguan tersebut masih jarang dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak angkak, yang diberikan peroral pada hari ketiga hingga kedelapan pada hewan uji yang telah diinduksi dengan anilin pada hari kesatu dan kedua, terhadap jumlah trombosit, eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit. Kamar hitung *Improved Neubauer* digunakan untuk perhitungan trombosit dan eritrosit, cara Sahli untuk pengukuran kadar hemoglobin, dan metode mikrohematokrit untuk pengukuran kadar hematokrit. Hewan uji yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal, kontrol anemia, dan tiga kelompok yang menerima ekstrak angkak dengan dosis 1,26; 2,52; 5,04 g/200g berat badan tikus. Trombosit, eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit dihitung sebelum dan setelah pemberian ekstrak angkak, dan hasilnya dianalisa secara statistik. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna ($p>0,05$) antara jumlah trombosit, jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, dan kadar hematokrit kelompok dosis dengan kelompok kontrol anemia, walaupun jumlah rata-rata trombosit dan eritrosit serta kadar hemoglobin mengalami peningkatan.

Kata kunci : angkak, anilin, eritrosit, hematokrit, hemoglobin, *Monascus purpureus*, Trombosit.

xiii + 66 halaman : 8 gambar; 9 tabel; 22 lampiran

Daftar acuan : 35 (1969-2009)

ABSTRACT

Name : Abigail L.B
Study Program: Pharmacy
Title : The Effect of Aqueous Extract of Angkak (*Monascus purpureus* Went Rice) to The Level of Thrombocyte, Erythrocyte, Hemoglobin, and Hematocrit in Male Rats which Induced with Aniline.

Angkak is rice fermented by *Monascus purpureus*, which is yeast commonly found in starchy food. In Indonesia, angkak has been used for treatment of disease related with hematological disorder. Nevertheless, only few researches had been done to verify the effect. The aim of this research was to understand the influence of angkak extract, which had been given orally at 3rd-8th day to male rats induced with aniline at 1st-2nd day, to thrombocyte, erythrocyte, hemoglobin, and hematocrit. Counting chamber *Improved Neubauer* was used for thrombocyte and erythrocyte count, Sahli's method for hemoglobin level, and microhematocrit method for hematocrit level. This research used 25 male rats of *Sprague Dawley* strain that were divided into five groups : normal control, anemia control and three other groups receiving an angkak extract at doses 1,26; 2,52; 5,04 g/200g body weight respectively. Thrombocyte, erythrocyte, hemoglobin, and hematocrit were measured before and after taking the extract , then the result were analyzed statically. The calculation indicated that there was no significant difference ($p>0,05$) between anemia control and three dose groups, in thrombocyte count, erythrocyte count, hemoglobin level, and hematocrit level, although the average of thrombocyte, erythrocyte, and hemoglobin had increased.

Keywords : angkak, aniline, erythrocyte, hematocrit, hemoglobin, *Monascus purpureus*, thrombocyte
xiii + 66 pages : 8 figures; 9 tables; 22 appendixes
Bibliography : 35(1969-2009)

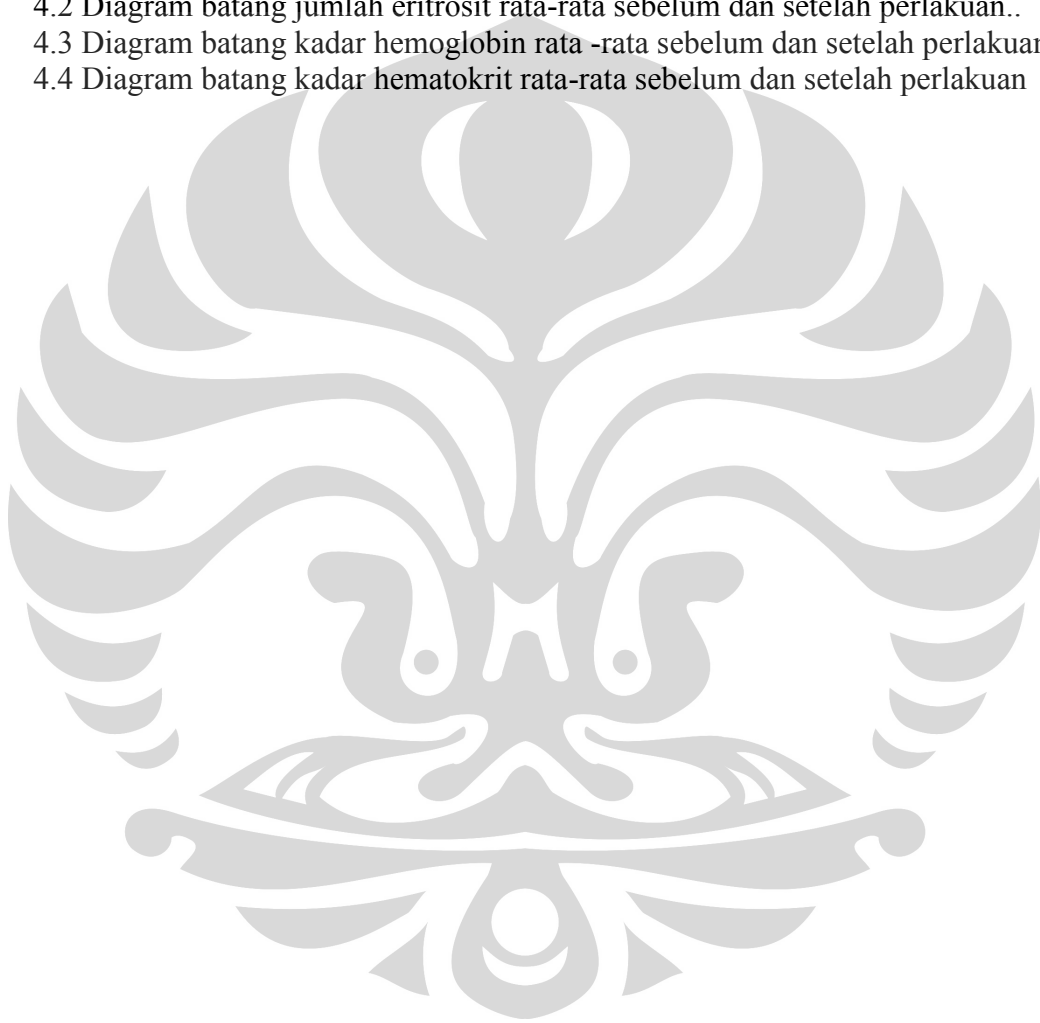
DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Angkak	3
2.2 Darah	5
2.3 Anilin	9
BAB 3. BAHAN DAN CARA KERJA	11
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	11
3.2 Alat	11
3.3 Bahan	11
3.4 Cara Kerja	12
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	30
DAFTAR ACUAN	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Angkak.....	34
3.1 Hemositometer <i>Improved Neubauer</i>	34
3.2 Hemometer Sahli Erka.....	35
3.3 Kamar Hitung <i>Improved Neubauer</i>	35
4.1 Diagram batang jumlah trombosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan	36
4.2 Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan..	36
4.3 Diagram batang kadar hemoglobin rata-rata sebelum dan setelah perlakuan	37
4.4 Diagram batang kadar hematokrit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan	37



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Kelompok perlakuan	13
4.1 Jumlah trombosit rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan.	21
4.2 Jumlah eritrosit rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan...	24
4.3 Kadar hemoglobin rata rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan	25
4.4 Kadar hematokrit rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan	27
5. Jumlah trombosit sebelum dan setelah perlakuan.....	38
6. Jumlah eritrosit sebelum dan setelah perlakuan.....	39
7. Kadar Hemoglobin sebelum dan setelah perlakuan.....	40
8. Kadar Hematokrit sebelum dan setelah perlakuan.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil identifikasi/determinasi kapang <i>Monascus purpureus</i> pada bahan uji Angkak.....	42
2. Penentuan Dosis Uji.....	43
3. Perhitungan faktor konversi pada perhitungan trombosit dan eritrosit.....	44
4. Uji distribusi normal menurut <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	45
5. Uji homogenitas varians menurut <i>Levene</i> terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	46
6. Uji analisis varians satu arah terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	47
7. Uji beda nyata terkecil terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	48
8. Uji distribusi normal menurut <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap jumlah eritrosit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	50
9. Uji homogenitas varians menurut <i>Levene</i> terhadap jumlah eritrosit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	51
10. Uji <i>Kruskal-Wallis</i> terhadap jumlah eritrosit tikus sebelum perlakuan.....	52
11. Uji <i>Mann Whitney</i> terhadap jumlah eritrosit tikus sebelum perlakuan.....	53
12. Uji analisis varians satu arah terhadap jumlah eritrosit tikus antar kelompok setelah perlakuan.....	55
13. Uji Beda Nyata Terkecil terhadap jumlah eritrosit tikus setelah perlakuan.....	56
14. Uji distribusi normal menurut <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap kadar hemoglobin tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	57
15. Uji homogenitas varians menurut <i>Levene</i> terhadap kadar hemoglobin tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	58
16. Uji analisis varians satu arah terhadap kadar hemoglobin antar kelompok sebelum dan setelah perlakuan.....	59
17. Uji beda nyata terkecil terhadap kadar hemoglobin tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	60
18. Uji distribusi normal menurut <i>Shapiro-Wilk</i> terhadap kadar hematokrit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	62
19. Uji homogenitas varians menurut <i>Levene</i> terhadap kadar hematokrit tikus sebelum dan setelah perlakuan.....	63
20. Uji analisis varians satu arah terhadap kadar hematokrit sebelum perlakuan.....	64
21. Uji <i>Kruskal-Wallis</i> terhadap kadar hematokrit setelah perlakuan.....	65
22. Skema kerja.....	66

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Darah merupakan satu di antara sistem organ dalam tubuh yang berperan penting dalam menjaga homeostatis tubuh. Darah berperan dalam proses homeostatis dengan berfungsi sebagai medium untuk membawa bahan ke dan dari sel, menyangga perubahan pH, dan mengangkut kelebihan panas ke permukaan tubuh. Selain itu darah juga berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh, dan proses hemostatis, yang memperkecil terjadinya kehilangan darah apabila terdapat kerusakan pada pembuluh darah (Sherwood, 2001).

Trombosit dan eritrosit merupakan beberapa komponen darah yang berperan dalam proses homeostatis dengan peran yang berbeda-beda. Trombosit berperan dalam proses hemostatis, sedangkan eritrosit, bersama kandungan utamanya hemoglobin, berperan dalam proses pengangkutan O₂ ke seluruh sel tubuh dan mengangkut CO₂ ke luar sel. Apabila terjadi gangguan, baik dalam jumlah dan fungsi pada komponen-komponen tersebut, maka proses homeostatis dalam tubuh pun akan terganggu (Sherwood, 2001). Beberapa contoh gangguan komponen-komponen darah yang ditemukan di masyarakat di antaranya adalah anemia, polisitemia, trombositopenia, dan lain-lain.

Untuk menangani kelainan tersebut, berbagai usaha dilakukan oleh masyarakat, di antaranya dengan menggunakan produk-produk alam yang dipercayai dapat menyembuhkan tubuh dari kelainan tersebut. Satu di antara produk alam yang sering digunakan saat ini adalah angkak.

Angkak merupakan hasil fermentasi beras dengan menggunakan kapang. Produk ini telah menjadi konsumsi harian masyarakat Cina, terutama sebagai pengawet dan penyedap makanan. Angkak juga sering digunakan untuk memperindah tampilan makanan, karena warna merah yang dihasilkannya (Triana & Nurhidayat, 2006).

Akhir-akhir ini penggunaan angkak di masyarakat semakin meluas. Angkak tidak hanya digunakan sebagai bumbu penyedap dan pengawet, tetapi juga digunakan untuk mengobati beberapa penyakit, terkait dengan gangguan hematologi, namun penelitian ilmiah terkait dengan khasiat angkak terhadap

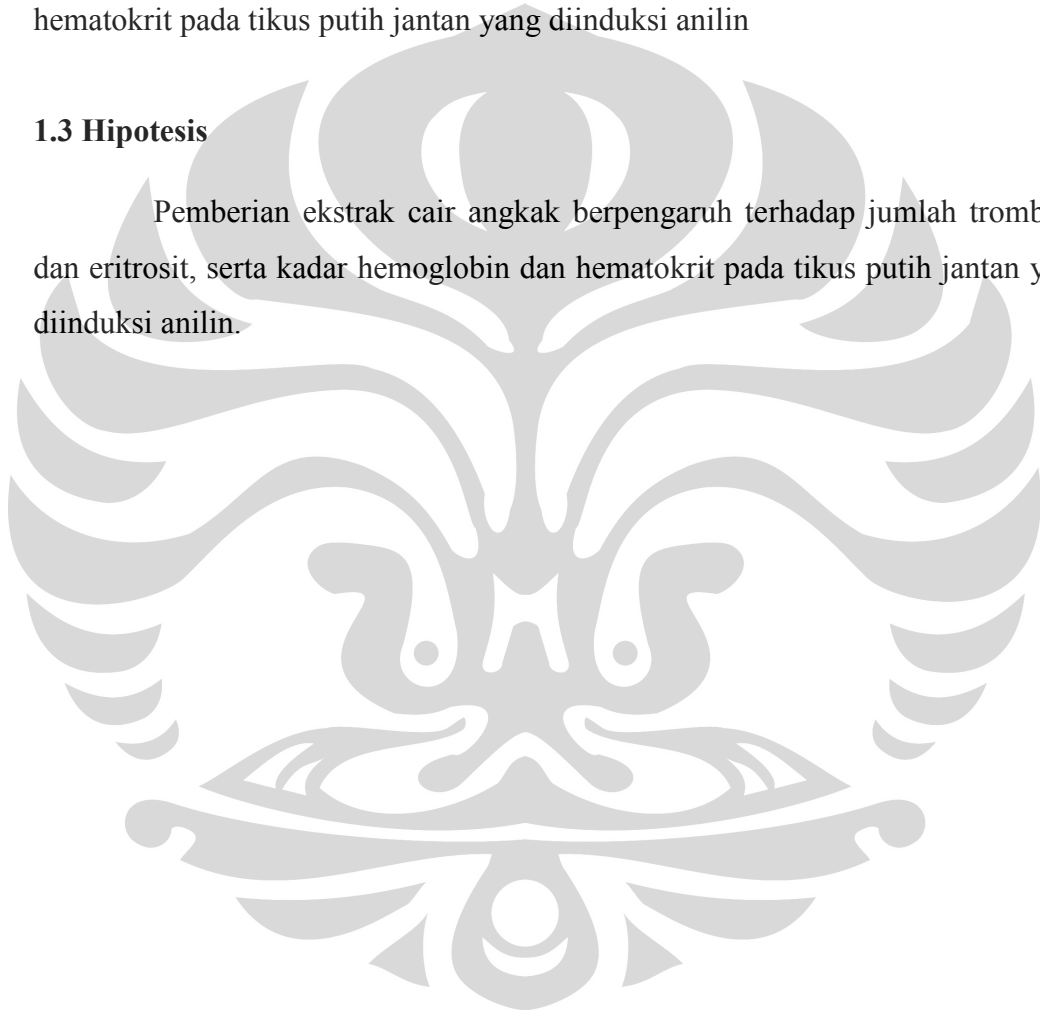
gangguan tersebut masih jarang dilakukan. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian untuk melihat bagaimana pengaruh pemberian angkak terhadap parameter-parameter tubuh, khususnya yang terkait dengan darah.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak cair angkak terhadap jumlah trombosit dan eritrosit serta kadar hemoglobin dan hematokrit pada tikus putih jantan yang diinduksi anilin

1.3 Hipotesis

Pemberian ekstrak cair angkak berpengaruh terhadap jumlah trombosit dan eritrosit, serta kadar hemoglobin dan hematokrit pada tikus putih jantan yang diinduksi anilin.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Angkak

Angkak atau *Hong Qu*, merupakan beras yang telah difermentasi menggunakan *Monascus purpureus*, sejenis kapang yang tidak banyak ditemukan di alam namun dapat ditemukan dalam produk makanan misalnya beras. Proses fermentasi merubah warna beras, dari putih menjadi merah, oleh karena itu Angkak disebut juga *red fermented rice* (Triana & Nurhidayat, 2006; Kasim, Kurniawati, & Nurhidayat, 2006; Chen & Chen, 2004).

Klasifikasi dari *Monascus purpureus*, kapang yang terdapat dalam Angkak adalah sebagai berikut :

Divisi	: Ascomycotyna
Kelas	: Ascomycetes
Sub-kelas	: Plectomycetidae
Ordo	: Eurotiales
Famili	: Monascaceae
Marga	: Monascus
Spesies	: <i>Monascus purpureus</i> (Gunawan, 2007)

2.1.1. Sejarah Penggunaan Angkak

Angkak telah lama dikenal di beberapa negara di Asia (termasuk Indonesia), dan sering digunakan untuk membuat arak (*rice wine*), juga sebagai bahan tambahan pada makanan untuk menjaga warna dan rasa dari ikan dan daging (Tisnadaja, 2006).

Angkak telah digunakan di Cina selama berabad-abad, baik sebagai makanan maupun pengobatan herbal. Penggunaan Angkak di Cina pertama kali dicatat pada masa Dinasti Tang, 800 tahun Sesudah Masehi. Gambaran lengkap dan terinci dari pembuatan Angkak dapat ditemukan dalam Farmakope Cina kuno, *Ben Cao Gang Mu-Dan Shi Bu Yi*, yang diterbitkan pada masa Dinasti Ming (1368-1644). Dalam buku ini, Angkak disebutkan dapat digunakan untuk pengobatan ringan yang terkait dengan permasalahan pencernaan, sirkulasi darah

dan limfa, dan kesehatan perut (Heber, Yip, Ashley, Elashoff, & Go, 1999; Natural Standard Monograph, 2006).

2.1.2. Kandungan Angkak

Beberapa metabolit sekunder telah diisolasi dari Angkak, diantaranya adalah kelompok pigmen, dan zat antihiperkolesterolemia (Wibowo, Milanda, & Julianti, 2006).

Beberapa pigmen alami yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* adalah Ankafalin dan Monascin (pigmen kuning), Rubropunctin dan Monascrubin (pigmen jingga), serta Rubropunctamin dan Monascrubramin (pigmen merah). Kandungan pigmen tersebut menyebabkan Angkak banyak digunakan sebagai pewarna alami untuk minuman dan makanan, antara lain anggur merah, ikan, keju dan daging (Gunawan, 2007; Kasim, Kurniawati, & Nurhidayat, 2006).

Zat antihiperkolesterolemia yang diisolasi dari *Monascus purpureus*, adalah Monakolin K, yang juga dikenal sebagai mevinolin atau lovastatin. Zat ini bekerja menghambat HMG-CoA reduktase (*hidroxy methyl glutaryl Coenzym A*), yaitu suatu enzim yang mengontrol jalur biosintesis kolesterol di dalam hati, sehingga pembentukan mevalonat dan kolesterol dapat dihambat. Dengan demikian Angkak dapat digunakan untuk terapi penderita hiperkolesterolemia. Penelitian terdahulu yang dilakukan di Cina pada 324 penderita hiperkolesterolemia membuktikan bahwa Angkak dapat menurunkan kolesterol total, LDL dan trigliserida, serta meningkatkan serum HDL (Triana & Nurhidayat, 2006; Kasim, Kurniawati, & Nurhidayat, 2006; Monograph *Monascus purpureus*, 2004).

Selain kelompok warna dan zat antihiperkolesterolemia, senyawa lainnya yang berhasil diisolasi dari *Monascus* adalah Monacidin, yang mempunyai aktifitas sebagai antibakteri. Dari penelitian selanjutnya ditemukan bahwa monacidin A adalah sitrinin, suatu mikotoksin yang bersifat nefrotoksik dan hepatotoksik, yang menyebabkan kerusakan fungsi dan struktur ginjal dan

perubahan metabolisme di hati (Wang, Lee, & Pan, 2004; Lee, Tsai, & Wang, 2006).

Kandungan lainnya dalam Angkak adalah sterol, isoflavon, asam lemak tak jenuh rantai tunggal (*mono unsaturated fatty acid*), serat, logam mineral seperti Mg, dan vitamin B kompleks (Erdogrul & Azirak, 2004).

2.2 Darah

Darah merupakan satu di antara sistem organ dalam tubuh yang berperan penting dalam menjaga homeostatis tubuh. Darah berperan dalam proses homeostatis dengan berfungsi sebagai medium untuk membawa bahan ke dan dari sel, menyangga perubahan pH, dan mengangkut kelebihan panas ke permukaan tubuh. Selain itu darah juga berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh, dan proses hemostatis, yang memperkecil terjadinya kehilangan darah apabila terdapat kerusakan pada pembuluh darah (Sherwood, 2001).

Darah membentuk sekitar 8% dari berat total tubuh dan memiliki volume rata-rata 5 liter, dan pada tikus sebesar 57-70 ml/kg berat badan. Darah terdiri dari tiga jenis unsur sel khusus yaitu eritrosit, leukosit, dan trombosit, yang menempati cairan plasma. Jumlah sel yang abnormal mencerminkan respons tubuh atau tidak adanya respon tubuh terhadap proses tertentu (Price & Wilson, 2005; Smith & Mankoewidjojo, 1988).

2.2.1 Trombosit

Trombosit merupakan unsur seluler terkecil dari sumsum tulang, berbentuk cakram, tidak berinti dan berperan penting dalam proses hemostatis dan koagulasi. Trombosit merupakan fragmen dari sitoplasma megakariosit (Sherwood, 2001).

Trombosit berdiameter 1-4 mikrometer dan memiliki siklus hidup kira-kira 10 hari. Sepertiga dari jumlah total trombosit berada di dalam limfa sebagai sumber cadangan, dan sisanya berada di dalam sirkulasi, yang berjumlah antara 150.000-400.000/mm³, (pada tikus jumlah trombosit berkisar antara 150.000-460.000/mm³ (Price & Wilson, 2005; Sulaksono, 1994).

Bila dinding pembuluh darah cedera, trombosit akan melekat ke kolagen dan faktor von Willebrand yang terpapar di dinding pembuluh, melalui reseptor di membran trombosit. Perlekatan ini menyebabkan aktivasi trombosit yang mengeluarkan isi granulanya. ADP yang dibebaskan bekerja pada reseptor ADP di membran trombosit untuk meningkatkan akumulasi trombosit (agregasi trombosit), membentuk sumbat trombosit yang dapat menutupi cedera pada pembuluh darah (Ganong, 1995).

Pada beberapa keadaan, trombosit dapat mengalami gangguan, baik dalam hal fungsi maupun jumlah. Apabila jumlah trombosit mengalami peningkatan dari jumlah normal, dikenal dengan istilah trombositosis. Sebaliknya apabila jumlah trombosit mengalami penurunan di bawah normal, disebut trombositopenia. Lebih lanjut trombositopenia didefinisikan sebagai jumlah trombosit yang kurang dari 100.000 mm^3 . Jumlah trombosit yang rendah ini bisa disebabkan karena berkurangnya produksi atau meningkatnya penghancuran trombosit (Price & Wilson, 2005).

2.2.2 Eritrosit

Eritrosit merupakan lempeng bikonkaf dengan garis tengah $8\mu\text{m}$, tebal tepi luar $2\mu\text{m}$ dan tebal bagian tengah $1\mu\text{m}$. Bentuk khas ini berperan penting bagi eritrosit dalam menjalankan fungsinya yaitu sebagai pengangkut O_2 dari paru-paru ke jaringan perifer, dan CO_2 dari jaringan ke paru-paru (Sherwood, 2001).

Selain bentuk yang khas, eritrosit juga memiliki kandungan yang sangat penting untuk menjalankan fungsinya, yaitu hemoglobin. Sebuah eritrosit dipenuhi oleh ratusan juta molekul hemoglobin dengan menyingkirkan hampir segala sesuatu lainnya yang terdapat dalam sel, seperti nukleus, organel, atau ribosom. Struktur-struktur ini dikeluarkan ketika masa perkembangan sel, untuk menyediakan ruang bagi lebih banyak hemoglobin. Dengan demikian, eritrosit pada dasarnya adalah sebuah kantung terbungkus membran plasma yang dipenuhi oleh hemoglobin (Sherwood, 2001).

Rata-rata orang dewasa memiliki jumlah eritrosit kira-kira $5,21 \text{ juta/mm}^3$ untuk pria dan $4,61 \text{ juta/mm}^3$ untuk wanita (sedangkan pada tikus, jumlah eritrosit adalah $6,85\text{-}8,53 \text{ juta/mm}^3$) dan masing-masing eritrosit memiliki siklus hidup sekitar 120 hari. Setelah melewati umur ini, eritrosit akan menjadi kaku dan fragil, kemudian pecah. Karena eritrosit tidak dapat membelah diri untuk menggantikan sel-sel yang ruptur, maka sumsum tulang dalam keadaan normal menghasilkan eritrosit, melalui suatu proses yang dikenal sebagai eritropoiesis, dengan kecepatan 2-3 juta per detik, untuk mengimbangi musnahnya sel-sel tua. Proses ini dirangsang oleh eritropoetin, suatu hormon yang dikeluarkan oleh ginjal sebagai respons terhadap penurunan penyaluran O_2 . Eritropoetin merangsang sel-sel induk untuk memulai proliferasi dan maturasi sel-sel darah merah. Maturasi bergantung pada jumlah zat-zat makanan yang adekuat dan penggunaannya yang sesuai, seperti vitamin B_{12} , asam folat, protein, dan zat besi (Sherwood, 2001; Price & Wilson, 2005; Sulaksono, 1994).

Walaupun terdapat pengaturan keseimbangan eritrosit dalam tubuh manusia, namun pada beberapa keadaan dapat terjadi penyimpangan, baik berupa peningkatan jumlah eritrosit melebihi batas normal yang disebut polisitemia, atau sebaliknya terjadi penurunan jumlah eritrosit di bawah normal yang disebut anemia. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai hal, diantaranya adalah gangguan pembentukan eritrosit, peningkatan kehilangan eritrosit melalui perdarahan, atau lisis eritrosit yang berlebihan (Sherwood, 2001; Corwin, 2001).

2.2.3 Hemoglobin

Sintesis hemoglobin dalam eritrosit berlangsung dari stadium perkembangan eritroblas sampai retikulosit. Fungsi utama hemoglobin adalah transport O_2 (dari paru-paru ke jaringan) dan CO_2 (dari jaringan ke paru-paru) (Price & Wilson, 2005).

Molekul hemoglobin terdiri dari dua bagian, yaitu : (1) bagian globin, suatu protein yang terbentuk dari empat rantai polipeptida yang sangat berlipat-lipat, dan (2) gugus nitrogenosa nonprotein mengandung besi yang dikenal sebagai gugus heme, yang masing-masing terikat pada satu polipeptida. Setiap

atom besi dapat berikatan secara reversibel dengan satu molekul O_2 , dengan demikian, setiap molekul hemoglobin dapat mengangkut 4 molekul O_2 (Sherwood, 2001).

Apabila darah terpajan oleh berbagai macam obat, dan agen-agen pengoksidasi lainnya secara *in vitro* atau *in vivo*, maka besi ferro (Fe^{2+}) yang terdapat dalam keadaan normal akan berubah menjadi besi ferri (Fe^{3+}), yang membentuk methemoglobin. Methemoglobin berwarna tua, dan bila jumlahnya besar dalam sirkulasi, akan menimbulkan perubahan warna kehitaman pada kulit yang menyerupai sianosis. Pada keadaan normal, sedikit hemoglobin akan teroksidasi menjadi methemoglobin, tetapi akan diubah kembali menjadi hemoglobin, oleh suatu enzim di dalam sel darah merah, yakni sistem NADH-methemoglobin reduktase (Price & Wilson, 2005).

Konsentrasi hemoglobin darah diukur berdasarkan intensitas warna dan dinyatakan dalam hemoglobin/seratus milimeter darah (g/100ml) atau gram/desiliter (g/dl) (Price & Wilson, 2005).

Kadar hemoglobin tergantung dari usia, jenis kelamin dan kondisi geografis. Rentang nilai normal pada orang pria dewasa 14,0-17,5 g/dl, wanita dewasa 12,3-15,3 g/dl, sedangkan pada tikus, kadar hemoglobin berkisar antara 12,48-14,58 g/dl (McPherson & Pincus, 2007; Sulaksono, 1994).

2.2.4 Hematokrit

Hematokrit atau *packed cell volume*, pada dasarnya mewakili persentase volume darah total yang ditempati oleh eritrosit. Nilai rata-rata hematokrit normal pada wanita adalah 40,2% (35,9%-44,6%) dan untuk pria 46% (41,5%-50,4%), sedangkan pada tikus berkisar antara 35-49%. Nilai hematokrit dihitung sebagai volume semua eritrosit dalam 100 ml darah dan disebut dengan % dari volume darah itu (Sherwood, 2001; Triana & Nurhidayat, 2006).

Kadar hematokrit merupakan parameter hemokonsentrasi serta perubahannya. Kadar hematokrit akan meningkat saat terjadinya peningkatan hemokonsentrasi, baik oleh peningkatan kadar sel darah atau penurunan kadar plasma darah, misalnya pada kasus hipovolemia yang disebabkan oleh disfungsi

endotel pada infeksi virus *dengue*. Sebaliknya kadar hematokrit akan menurun ketika terjadi penurunan kadar seluler darah atau peningkatan kadar plasma darah, antara lain saat terjadinya anemia (Jaya, 2008; Gandasoebrata, 1989).

2.3 Anilin

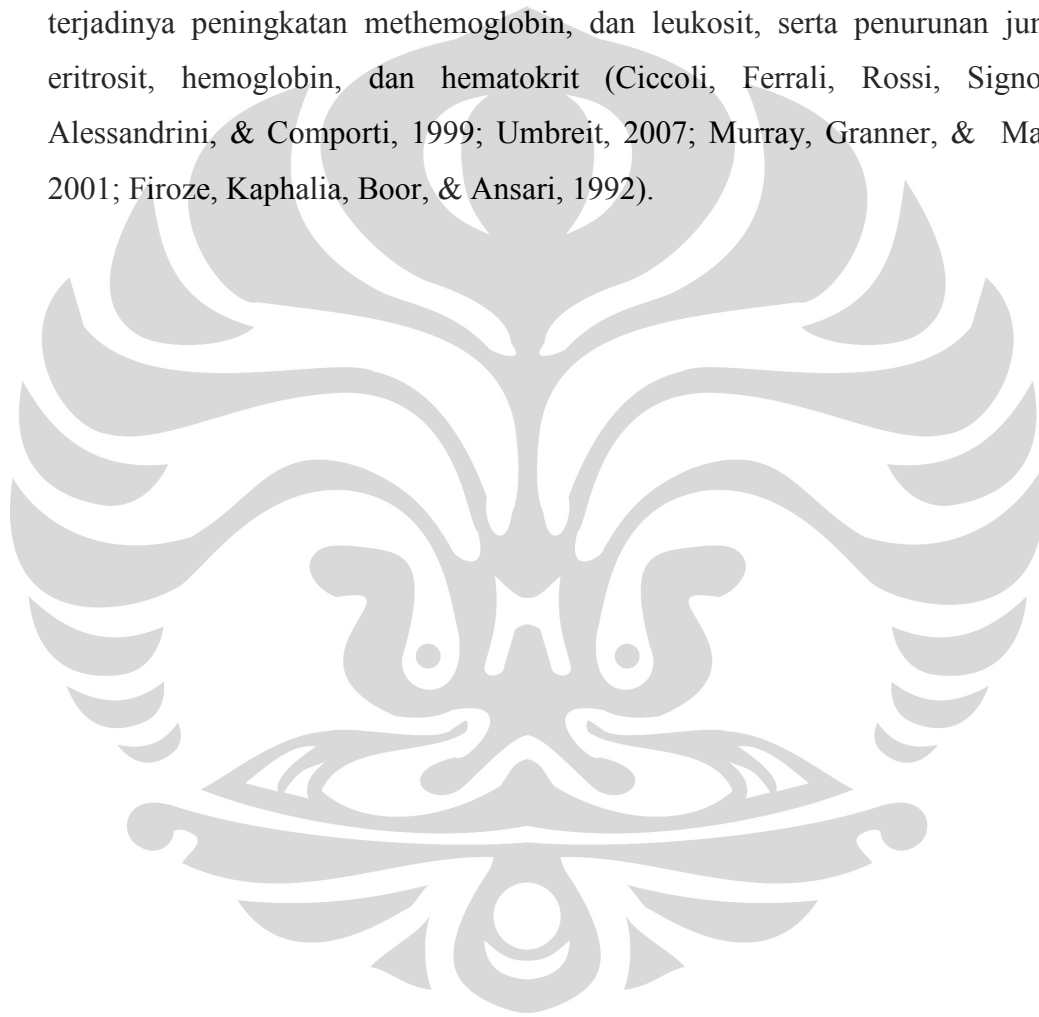
Senyawa ini merupakan amin aromatik toksik, pada suhu kamar merupakan cairan berminyak, terlihat jernih hingga sedikit kuning dengan bau yang khas; tidak mudah menguap, sedikit larut dalam air dan dapat bercampur dengan sebagian besar pelarut organik.

Anilin sebagian besar digunakan oleh pabrik untuk membuat isosianat, khususnya metil difenil diisosianat, yang digunakan untuk pembuatan *urethane*. Pabrik lainnya menggunakan anilin untuk membuat pestisida, bahan celup (*dyes*), dan karet (United States Environmental Protection Agency, 1994).

Anilin bersifat toksik apabila terpapar pada tubuh manusia, baik melalui saluran pernapasan, oral, maupun kulit. Efek utama yang terjadi apabila tubuh terpapar oleh anilin, adalah terjadinya methemoglobinemia dan anemia hemolitik. Methemoglobinemia merupakan keadaan dimana jumlah methemoglobin banyak di dalam darah. Ketika kadar methemoglobin telah mencapai 15% sampai 30%, warna kulit menjadi kebiru-biruan, yang disebabkan karena warna gelap dari methemoglobin dan tidak cukupnya oksigen dalam darah. Apabila kadar methemoglobin telah melebihi 90% akan berakibat fatal (Ciccoli, Ferrali, Rossi, Signorini, Alessandrini, & Comporti, 1999).

Efek methemoglobinemia dan anemia hemolitik dari anilin diperantarai oleh metabolit aktif yang dibentuk selama proses metabolisme anilin di hati. Hal ini dibuktikan dengan adanya hasil penelitian, bahwa anilin tidak menyebabkan oksidasi hemoglobin ketika diinkubasi dengan suspensi eritrosit pada konsentrasi yang sama dengan fisiologis tubuh, secara *in vitro*. Toksisitas terhadap eritrosit dihasilkan dari metabolit aktif yang dibentuk secara *in vivo* selama proses metabolisme di hati, yaitu fenilhidroksilamin (PHA) (Singh, Purnell, & Smith, 2007).

Mekanisme terjadinya anemia hemolitik akibat anilin, disebabkan karena adanya produksi hidrogen peroksida (H_2O_2), yang dihasilkan dari proses oksidasi oksihemoglobin menjadi methemoglobin, yang diperantarai oleh metabolit aktif anilin, fenilhidroksilamin. H_2O_2 yang dihasilkan ini dapat menyebabkan oksidasi gugus SH yang penting dalam protein dan juga menimbulkan peroksidasi lipid dalam membran sel darah merah sehingga mengakibatkan membran sel darah menjadi lisis. Beberapa penelitian tentang efek anilin pada tikus menunjukkan terjadinya peningkatan methemoglobin, dan leukosit, serta penurunan jumlah eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit (Ciccoli, Ferrali, Rossi, Signorini, Alessandrini, & Comporti, 1999; Umbreit, 2007; Murray, Granner, & Mayes, 2001; Firoze, Kaphalia, Boor, & Ansari, 1992).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia Depok pada bulan Februari hingga Mei 2010, dan untuk parameter Hematokrit, pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Jakarta.

3.2 Alat

Hemositometer *Improved Neubauer* (Marienfeld, Jerman), hemometer Sahli-Erka (Superior, Jerman), mikrohematokrit (Marienfeld, Jerman), tabung K₃EDTA 3 ml (Green Vac Tube, Korea), mikrotube, spuit (Terumo, Jepang), sonde lambung, mikroskop cahaya (Novex, Belanda), timbangan analitik (Ohaus, USA), timbangan hewan, alat-alat gelas.

3.3 Bahan

3.2.1 Bahan Uji

Angkak yang diperoleh dari salah satu toko di pasar Jatinegara

3.2.2 Hewan Uji

Tikus Putih Jantan galur *Sprague Dawley*, berumur lebih kurang 3 bulan dengan berat badan berkisar antara 150-200 g, sebanyak 25 ekor yang diperoleh dari Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.2.3 Bahan Kimia

Heparin 5000 UI/ml (Fahrenheit, Indonesia), HCl 0,1 N Kit (ST.Reagensia, Indonesia), reagen Hayem Kit (ST.Reagensia, Indonesia), reagen Rees Ecker Kit (ST.Reagensia, Indonesia), Anilin (Merck, Jerman), Alkohol, Aquadest, Eter.

Komposisi pereaksi yang digunakan (Gandasoebrata, 1989)

3.2.3.1. Reagen Hayem

Natrium Sulfat		5g
Natrium klorida		1g
Merkuri Klorida		0,5g
Aquadest	sampai	200ml

3.2.3.2. Reagen Rees Ecker

Natrium Sitrat		3,8g
Brilian Kristal Biru		30mg
Formaldehida 40%		2ml
Aquadest	sampai	100ml

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan. Jumlah ulangan hewan uji untuk masing-masing kelompok ditentukan berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer yaitu :

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15$$

Dimana, n = jumlah minimal pengulangan

t = jumlah perlakuan

Pada penelitian ini, t = 5, maka $n \geq 5$, sehingga jumlah ulangan minimum untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah 5.

Kelompok dan jumlah tikus yang digunakan serta perlakuan untuk masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus (n)
I	Kontrol normal	5
II	Kontrol anemia, tikus dibuat anemia tanpa diberi angkak	5
III	Tikus dibuat anemia, dan diberi angkak dosis 1	5
IV	Tikus dibuat anemia, dan diberi angkak dosis 2	5
V	Tikus dibuat anemia, dan diberi angkak dosis 3	5

3.4.2 Penetapan Dosis

Dosis angkak yang digunakan adalah dosis yang digunakan secara umum di masyarakat, 1 sendok makan (3,5 g) diminum 2 kali sehari. Dosis ini kemudian dikonversi ke dalam dosis untuk tikus dan dikalikan dengan faktor farmakokinetik. Setelah dikonversi diperoleh dosis sebesar 1,26 g/200g bb tikus untuk dosis 1, 2,52 g/200g bb tikus untuk dosis 2, dan 5,04 g/200g bb tikus untuk dosis 3. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 2.

3.4.3 Pembuatan Bahan Uji

Sediaan ekstrak angkak dibuat dalam 3 dosis, masing-masing dengan konsentrasi :

$$\text{Dosis 1} = 1,26 \text{ g}/3\text{ml} = 0,42 \text{ g/ml}$$

$$\text{Dosis 2} = 2,52 \text{ g}/3\text{ml} = 0,84 \text{ g/ml}$$

$$\text{Dosis 3} = 5,04 \text{ g}/3\text{ml} = 1,68 \text{ g/ml}$$

Angkak yang dibutuhkan untuk membuat sejumlah P ml ekstrak angak, untuk masing-masing konsentrasi dosis adalah :

$$\text{Dosis 1} = 0,42 \text{ g/ml} \times \text{P ml} = 0,42\text{P g}$$

$$\text{Dosis 2} = 0,84 \text{ g/ml} \times \text{P ml} = 0,84\text{P g}$$

$$\text{Dosis 3} = 1,68 \text{ g/ml} \times \text{P ml} = 1,68\text{P g}$$

dimana P adalah jumlah ekstrak cair angkak yang akan diberikan pada sejumlah hewan uji dengan berat badan 200 g.

Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

Misalkan untuk dosis 1 : Sejumlah 0,42P g angkak dipanaskan dengan aquadest sebanyak 10x jumlah bahan uji, hingga mendidih 90⁰C, sambil diaduk. Setelah 10 menit, larutan yang berisi angkak tersebut diangkat kemudian disaring menggunakan kain flanel. Ekstrak cair hasil saringan dimasukkan dalam cawan penguap, kemudian diuapkan hingga P ml.

3.4.4 Pembuatan Zat Penginduksi (Anilin 10%)

Anilin diencerkan hingga 10% dengan cara sebagai berikut : sejumlah 1 ml anilin dilarutkan dalam 9 ml aquadest mendidih, lalu diaduk. Pembuatan anilin dilakukan sebelum penyuntikan terhadap hewan coba (Pusat Studi Obat Bahan Alam Departemen Farmasi FMIPA UI Depok, 2004).

3.4.5 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan selama 9 hari, terhadap 25 ekor tikus putih jantan yang dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan. Gambaran lengkap mengenai pelaksanaan penelitian dan perlakuan untuk masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada skema kerja di Lampiran 22.

3.4.5.1 Penyiapan Hewan Uji

Sebelum digunakan, tikus terlebih dahulu diaklimatisasi dalam kandang Laboratorium Farmakologi Departemen Farmasi FMIPA UI, selama 2 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Pada tahap ini dilakukan

pengamatan terhadap keadaan umum dan penimbangan badan setiap hari. Tikus yang dipilih adalah tikus yang sehat dengan tanda-tanda bulu tidak berdiri, bulu bersih, mata jernih, mengalami peningkatan berat badan tiap harinya. Tikus yang sakit tidak diikutsertakan dalam pengujian.

3.4.5.2 Penyuntikan Anilin

Penyuntikan anilin dilakukan secara intraperitoneal. Daerah yang akan disuntik, kuadran kanan atau kiri bawah, dioleskan dengan kapas yang telah dibasahi dengan alkohol untuk mencegah terjadinya infeksi, kemudian anilin disuntikkan secara intraperitoneal sejumlah 0,004ml/gr bb tikus, dengan sudut antara jarum suntik dan perut tikus sekitar 45° (Miner, Koehler, & Greenaway, 1969).

3.4.5.3 Pengambilan Sampel Darah

Sebelum dilakukan pengambilan sampel darah, terlebih dahulu disiapkan tabung-tabung penampung darah. Ke dalam masing-masing tabung tersebut dimasukkan 1-2 tetes heparin 5000 UI/ml. Pengambilan sampel darah tikus dilakukan melalui sinus orbital mata. Sebelum pengambilan sampel darah, tikus dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan eter, kemudian dengan mikrohematokrit mata tikus ditusuk melalui sinus orbital dengan gerakan masuk sambil diputar dan ditekan. Tampung darah ± 1 ml dengan mikrotube yang sudah berisi heparin agar tidak terjadi koagulasi (Gandasoebrata, 1989; Hoff, 2000; Smith, 1988).

3.4.5.4 Pemberian Bahan Uji

Bahan uji yang telah jadi, diberikan pada tikus peroral menggunakan sonde lambung dalam jumlah tertentu (berat badan hewan uji/200 x 3 ml), sesuai dengan dosis yang telah ditetapkan untuk masing-masing kelompok perlakuan. Pemberian bahan uji dilakukan selama 6 hari, sekali sehari.

3.4.5.5 Perhitungan Jumlah Trombosit (Gandasoebrata, 1989)

Prinsip : darah diencerkan dalam pipet trombosit, kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung *Improved Neubauer*. Jumlah trombosit dihitung dalam volume tertentu dengan menggunakan faktor konversi (Gambar 3.3 dan Lampiran 3). Sebagai larutan pengencer digunakan Rees Ecker.

Cara :

- a. Darah dihisap sampai garis tanda 0,5 tepat, kelebihan darah yang melekat pada ujung pipet dihapus.
- b. Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Rees Ecker sambil menahan darah pada garis tanda dan hisap cairan Rees Ecker sampai garis tanda 101.
- c. Pipet diangkat dari cairan; ujung pipet ditutup dengan ujung jari kemudian pipet dikocok selama 15-30 detik.
- d. Kamar hitung yang bersih dengan kaca penutupnya terpasang, diletakkan mendatar di atas meja.
- e. Pipet yang telah diisi, dikocok selama 3 menit terus-menerus sambil dijaga jangan sampai ada cairan yang terbang dari dalam pipet saat pengocokkan.
- f. Sejumlah 3-4 tetes cairan yang ada dalam batang kapiler pipet dibuang, dan ujung pipet segera disentuh dengan sudut 30 derajat pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Kamar hitung dibiarkan terisi cairan perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri.
- g. Kamar hitung yang telah diisi dibiarkan dalam posisi datar, biarkan selama 10 menit agar trombosit mengendap.
- h. Semua trombosit dalam seluruh bidang besar di tengah-tengah (1 mm^2) dihitung memakai lensa objektif besar.
- i. Untuk menghasilkan jumlah trombosit per μl darah, hasil perhitungan di atas dikalikan dengan 5.000 (perhitungan faktor konversi dapat dilihat pada lampiran 3).

3.4.5.6 Perhitungan Jumlah Eritrosit (Gandasoebarata, 1989)

Prinsip : darah diencerkan dalam pipet eritrosit, kemudian dimasukkan ke dalam kamar hitung. Jumlah eritrosit dihitung dalam volume tertentu (Gambar 3.3); dan dengan menggunakan faktor konversi, jumlah eritrosit per mikroliter darah dapat diperhitungkan.

Cara :

- a. Darah dihisap sampai garis tanda 0,5 tepat, kelebihan darah yang melekat pada ujung pipet dihapus.
- b. Ujung pipet dimasukkan ke dalam larutan Hayem sambil menahan darah pada garis tanda dan larutan Hayem dihisap sampai garis tanda 101. Hati-hati jangan sampai terjadi gelembung udara.
- c. Pipet diangkat dari cairan; ujung pipet ditutup dengan ujung jari kemudian kocok pipet selama 15-30 detik.
- d. Kamar hitung yang bersih dengan kaca penutupnya terpasang, diletakkan mendatar di atas meja.
- e. Pipet yang telah diisi, dikocok selama 3 menit terus-menerus sambil dijaga jangan sampai ada cairan yang terbuang dari dalam pipet saat pengocokkan.
- f. Sejumlah 3-4 tetes cairan yang ada dalam batang kapiler pipet dibuang, dan ujung pipet disentuh dengan sudut 30 derajat pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Biarkan kamar hitung terisi cairan perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri.
- g. Kamar hitung dibiarkan selama 2 atau 3 menit supaya eritrosit dapat mengendap.
- h. Dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 kali, semua eritrosit yang terdapat dalam 5 bidang yang tersusun dari 16 bidang kecil dihitung. Sel dihitung mulai dari kiri atas terus ke kanan; kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri; lalu turun lagi ke bawah dan dimulai lagi dari kiri ke kanan.

Catatan : apabila terdapat sel yang letaknya menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas, sel tersebut haruslah dihitung. Sebaliknya sel-

sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau bawah tidak boleh dihitung.

- i. Untuk menghasilkan jumlah eritrosit per μl darah, hasil perhitungan di atas dikalikan dengan 10.000 (perhitungan faktor konversi dapat dilihat pada lampiran 4).

3.4.5.7 Penetapan Kadar Hemoglobin (cara Sahli) (Gandasoebrata, 1989)

Prinsip : pada cara ini, hemoglobin diubah menjadi hematin asam yang berwarna coklat tua, kemudian warna tersebut dibandingkan secara visual dengan warna standar pada alat hemometer.

Cara :

- a. Sejumlah 5 tetes HCl 0,1N dimasukkan ke dalam tabung hemometer.
- b. Sampel darah dihisap dengan pipet hemoglobin sampai garis tanda 20 μl , darah yang melekat pada sebelah luar ujung pipet dihapus.
- c. Catat waktunya dan segera alirkan darah dari pipet ke dalam dasar tabung pengencer hemometer yang telah berisi HCl. Hati-hati jangan sampai terjadi gelembung udara.
- d. Pipet diangkat sedikit, kemudian hisap HCl yang jernih ke dalam pipet 2 atau 3 kali untuk membersihkan darah yang masih tersisa pada pipet.
- e. Isi tabung diaduk supaya darah dan asam bereaksi, sehingga campuran berwarna coklat tua.
- f. Setetes demi setetes air ditambahkan pada tabung, tiap kali diaduk dengan batang pengaduk yang tersedia. Warna yang terjadi harus sama dengan warna standar.
- g. Kadar hemoglobin dibaca dalam gram/100 ml.

3.4.5.8 Perhitungan Nilai Hematokrit (Gandasoebrata,1989) (tidak dilakukan sendiri oleh peneliti)

- a. Sampel darah dimasukkan dalam tabung mikrohematokrit.
- b. Satu diantara ujung mikrohematokrit ditutup dengan nyala api atau dengan bahan penutup khusus.

- c. Tabung kapiler dimasukkan ke dalam sentrifuge khusus yang mencapai kecepatan tinggi, yaitu lebih dari 16.000rpm (sentrifuge mikrohematokrit), kemudian disentrifuge selama 3-5 menit.
- d. Nilai hematokrit dibaca dengan menggunakan grafik atau alat khusus.

3.4.6 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 15,0. Analisis awal yang dilakukan yaitu Uji Distribusi Normal (Uji *Saphiro-Wilk*) dan Uji Homogenitas (Uji *Levene*).

Apabila data yang dimiliki terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan analisis varian satu arah (ANAVA) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan yang bermakna.

Sebaliknya apabila data yang dimiliki tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka dilakukan uji non parametrik menggunakan Uji *Kruskal-Wallis*, untuk menentukan apakah terdapat perbedaan bermakna antar kelompok. Apabila terdapat perbedaan bermakna antar kelompok, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna (Dahlan, 2000).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Angkak merupakan produk alam yang secara tradisional telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Di Indonesia angkak telah digunakan secara empiris, untuk mengobati beberapa penyakit yang terkait dengan gangguan hematologi, namun penelitian secara ilmiah terkait dengan khasiat angkak terhadap gangguan tersebut masih jarang dilakukan. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian untuk melihat bagaimana pengaruh pemberian angkak terhadap parameter-parameter tubuh, khususnya yang terkait dengan darah. Pemeriksaan hematologi yang dilakukan pada penelitian ini adalah perhitungan jumlah trombosit dan eritrosit serta pengukuran kadar hemoglobin dan hematokrit.

Tikus dipilih sebagai hewan uji dalam penelitian ini, karena tikus merupakan model yang menggambarkan karakter fungsional mamalia dengan baik. Selain itu, tikus mudah didapatkan dan ditangani karena ukurannya yang kecil (Krinke, 2000). Variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini bertujuan untuk melihat pada dosis ke berapa angkak dapat memberikan efek yang optimal.

Perhitungan jumlah trombosit dan eritrosit menggunakan metode manual, yaitu menggunakan hemositometer (kamar hitung *Improved Neubauer*), dengan reagen yang berbeda, Rees Ecker untuk perhitungan jumlah trombosit dan reagen Hayem untuk perhitungan jumlah eritrosit. Rees Ecker digunakan untuk perhitungan jumlah trombosit karena dibandingkan dengan reagen lainnya misalkan ammonium oksalat, Rees Ecker memperlihatkan trombosit dengan lebih jelas, karena trombosit yang terlihat terang kebiruan, berbeda dengan sel lainnya. Larutan Hayem dipilih untuk perhitungan eritrosit karena larutan Hayem bersifat isotonis sehingga tidak melisiskan eritrosit.

Metode hemositometer dipilih karena apabila dibandingkan dengan metode lainnya yang menggunakan alat penghitung elektronik *cell counter*, metode ini lebih murah, selain itu metode ini juga masih digunakan di beberapa klinik untuk pemeriksaan beberapa parameter darah. Kekurangan dari metode ini adalah masih merupakan metode manual, sehingga kemungkinan terjadi kesalahan

saat perhitungan dapat terjadi. Beberapa kesalahan-kesalahan yang terjadi apabila menggunakan hemositometer adalah kesalahan pengenceran dan sel darah yang belum tercampur homogen dengan reagen. Kesalahan pengenceran bisa terjadi saat pemipetan sampel darah dan reagen yang tidak tepat garis batas, terbuangnya sedikit cairan ketika dilakukan pengocokkan pipet dan ketika mencabut selang pengisap, maupun terdapatnya gelembung udara saat mengisap reagen. Sedangkan tidak tercampurnya sel darah dengan reagen dapat disebabkan karena kurangnya pengocokkan dan tidak membuang beberapa tetesan awal campuran dalam pipet sebelum diteteskan dalam kamar hitung, sehingga diperkirakan tetesan hanya mengandung reagen saja, belum mengandung sel darah (Gandasoebrata, 1989).

Hasil perhitungan jumlah trombosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan (pemberian angkak), dari penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.1 (hasil selengkapnya pada Tabel 5).

Tabel 4.1

Jumlah trombosit rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok Perlakuan	Jumlah Trombosit ($10^5 / \text{mm}^3$ darah)	
	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I	$8,06 \pm 3,52$	$6,87 \pm 2,71$
II	$4,63 \pm 2,31$	$4,93 \pm 2,26$
III	$6,40 \pm 3,10$	$5,01 \pm 3,06$
IV	$5,22 \pm 0,81$	$4,37 \pm 1,54$
V	$6,31 \pm 2,33$	$6,78 \pm 2,10$

Keterangan : I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; Sebelum Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; Setelah Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari.

Dari data di atas dan Gambar 4.1 terlihat bahwa jumlah trombosit kelompok II, III, IV, dan V sebelum perlakuan, mempunyai jumlah yang lebih

kecil dibandingkan kelompok I, yang merupakan kelompok normal. Penurunan yang terjadi pada kelompok III, IV, dan V setelah dihitung secara statistik tidak berbeda bermakna dengan kelompok normal ($p > 0,05$). Penurunan yang berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) hanya terjadi pada kelompok II (Lampiran 7).

Penurunan jumlah trombosit pada kelompok II, III, IV, dan V disebabkan karena kelompok tersebut merupakan kelompok yang diinduksi dengan anilin. Hal ini sesuai dengan hasil yang didapatkan dari penelitian sebelumnya bahwa penggunaan anilin dapat menurunkan jumlah trombosit, tetapi mekanisme bagaimana anilin dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah trombosit belum diketahui (Pusat Studi Bahan Alam Departemen Farmasi FMIPA UI Depok, 2004).

Setelah perlakuan terlihat adanya kenaikan maupun penurunan pada kelompok variasi dosis angkak. Pada kelompok III yang merupakan kelompok dosis 1, jumlah trombosit turun dari jumlah sebelum diberi bahan uji dan jumlah ini berada jauh di bawah normal (kelompok I). Penurunan jumlah trombosit juga terlihat pada kelompok IV yang merupakan kelompok dosis 2, hanya saja penurunan pada kelompok ini tidak sebesar penurunan yang terjadi pada kelompok dosis .

Dari hasil tersebut, terlihat bahwa jumlah trombosit pada kelompok yang diberi ekstrak angkak mengalami penurunan. Akan tetapi dari hasil ini tidak dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak angkak dapat menurunkan jumlah trombosit dari hewan uji, karena penurunan jumlah trombosit tidak hanya terjadi pada kelompok yang mendapat ekstrak angkak, tetapi pada kelompok normal juga, yang tidak diberi bahan uji. Penurunan jumlah trombosit ini dapat disebabkan karena berbagai hal, diantaranya adalah kondisi lingkungan kandang yang kurang baik dan mempengaruhi kondisi kesehatan dari hewan uji, yang akhirnya berdampak pada jumlah trombosit hewan uji.

Berbeda dengan kelompok lainnya, pada kelompok V yang merupakan kelompok dosis 3, terjadi kenaikan jumlah trombosit. Hal ini dapat disebabkan

karena dosis angkak pada kelompok V yang cukup besar, sehingga dapat melawan pengaruh dari lingkungan yang kurang sehat.

Jika penurunan yang terjadi pada kelompok III dan IV dibandingkan dengan penurunan pada kelompok normal, maka penurunan pada kelompok III dan IV lebih kecil, hal ini dapat disebabkan karena adanya efek peningkatan jumlah trombosit dari angkak seperti yang terlihat pada kelompok V. Peningkatan pada kelompok III dan IV, tidak terlihat karena tertutupi oleh penurunan jumlah trombosit akibat pengaruh lingkungan, dapat disebabkan karena dosis angkak yang belum cukup untuk meningkatkan trombosit ke level yang cukup tinggi seperti pada kelompok V yang mendapat ekstrak angkak dosis 3.

Efek peningkatan trombosit setelah pemberian angkak disebabkan karena kandungan monakolin dalam angkak yang dapat mengurangi pemakaian trombosit dengan menghambat terjadinya agregasi trombosit saat terjadinya perdarahan (Haramaki et al., 2007). Dan dari hasil di atas terlihat bahwa, efek peningkatan bertambah dengan semakin bertambahnya dosis pemberian ekstrak angkak.

Hasil di atas kemudian diuji secara statistik menggunakan uji parametrik ANAVA karena data yang didapatkan terdistribusi normal dan bervariasi homogen (Lampiran 4 & 5). Dari hasil perhitungan, setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol anemia, didapatkan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa jumlah trombosit antar kelompok kontrol anemia dengan kelompok normal, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3, setelah perlakuan, tidak berbeda bermakna (Lampiran 7).

Hasil perhitungan jumlah eritrosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan (pemberian angkak), dari penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.2 (hasil selengkapnya pada Tabel 6).

Tabel 4.2

Jumlah Eritrosit rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok Perlakuan	Jumlah Eritrosit ($10^6 / \text{mm}^3$ darah)	
	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I	$5,80 \pm 0,60$	$5,02 \pm 0,97$
II	$2,34 \pm 1,30$	$2,97 \pm 1,45$
III	$2,91 \pm 2,52$	$4,67 \pm 2,34$
IV	$4,13 \pm 1,58$	$5,21 \pm 2,33$
V	$4,58 \pm 1,66$	$5,40 \pm 1,40$

Keterangan : I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; Sebelum Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; Setelah Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari

Pengukuran kadar hemoglobin hewan uji dilakukan dengan menggunakan metode Sahli. Metode ini dipilih karena mudah dilakukan, sederhana, tidak mahal dan biasa digunakan di laboratorium klinik yang belum mempunyai alat penghitung elektronik. Prinsip pengukurannya berdasarkan pada perubahan hemoglobin menjadi hematin yang bersifat asam kemudian warna yang terjadi dibandingkan secara visual dengan warna standar dalam alat hemometer. Ketelitian pengukuran dengan cara ini lebih kurang 10%. Cara lain yang dapat digunakan adalah cara fotoelektrik, namun tidak praktis, mahal dan adanya keterbatasan alat walaupun ketelitiannya mencapai 2% (Gandasoebrata, 1989). Tabel 4.3 merupakan hasil pengukuran kadar hemoglobin rata-rata sebelum dan setelah perlakuan (hasil selengkapnya pada Tabel 7)

Tabel 4.3

Kadar Hemoglobin rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kadar Hemoglobin (g/100 ml darah)	
	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I	9,40 ± 0,93	8,44 ± 1,13
II	7,84 ± 0,71	8,28 ± 1,03
III	8,00 ± 0,74	8,40 ± 0,86
IV	8,16 ± 0,86	8,60 ± 0,87
V	8,76 ± 0,88	9,40 ± 0,94

Keterangan : I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; Sebelum Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; Setelah Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari

Dari data pada Tabel 4.2 dan 4.3 serta Gambar 4.2 dan 4.3 terlihat bahwa jumlah rata-rata eritrosit dan kadar rata-rata hemoglobin sebelum perlakuan pada kelompok II, III, IV dan V lebih kecil dari kelompok I, yang merupakan kelompok normal. Hal ini sesuai dengan efek yang ditimbulkan akibat penginduksian dengan anilin, yang menyebabkan terjadinya methemoglobinemia dan anemia hemolitik. Setelah dianalisis secara statistik untuk parameter eritrosit, penurunan yang terjadi pada kelompok III, IV dan V, tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok normal ($p > 0,05$), perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) hanya terdapat pada kelompok II (Lampiran 11). Untuk parameter hemoglobin, penurunan yang berbeda secara bermakna dengan kelompok normal ($p > 0,05$) terdapat pada kelompok II, III, dan IV, sedangkan penurunan pada kelompok V, tidak berbeda bermakna dengan kelompok normal ($p < 0,05$) (Lampiran 17).

Terjadinya peningkatan methemoglobin dalam darah (methemoglobinemia) dan anemia hemolitik akibat penginduksian anilin, disebabkan karena metabolit aktif anilin, yaitu fenilhidroksilamin yang mengoksidasi oksihemoglobin menjadi methemoglobin, dan menghasilkan

Universitas Indonesia

hidrogen peroksida (H_2O_2). H_2O_2 yang dihasilkan ini dapat menyebabkan oksidasi gugus SH yang penting dalam protein dan juga menimbulkan peroksidasi lipid dalam membran sel darah merah sehingga mengakibatkan membran sel darah menjadi lisis (Ciccoli et al, 1999; Umbreit, 2007; Murray, Granner, Mayes, 2000).

Setelah perlakuan (pemberian angkak), tampak bahwa terjadi peningkatan jumlah rata-rata eritrosit dan kadar rata-rata hemoglobin, baik pada kelompok III, IV dan V, dan peningkatan yang mendekati jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin kelompok normal, terjadi pada kelompok V yang mendapat angkak dosis 3. Pada kelompok III dan IV juga terjadi peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin, akan tetapi peningkatan yang terjadi belum mendekati kelompok normal. Peningkatan yang terjadi pada semua kelompok dosis dapat disebabkan karena kandungan vitamin B_{12} dan kandungan lainnya dalam angkak yang dapat meningkatkan pembentukan dan pematangan eritrosit. Kandungan zat-zat aktif dalam angkak ini, akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah angkak (Rahmi, 2009). Selain pada kelompok dosis, peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin juga terjadi pada kelompok kontrol anemia, yang tidak diberikan angkak. Peningkatan ini disebabkan karena adanya proses normal tubuh, yang akan meningkatkan proses eritropoesis (pembentukan dan pematangan eritrosit), apabila tubuh kekurangan suplai oksigen ke dalam sel-sel tubuh (Sherwood, 2001).

Peningkatan pada masing-masing kelompok kemudian dianalisis secara statistik. Untuk perhitungan jumlah eritrosit digunakan uji non parametrik (*Kruskal-Wallis*) karena data yang didapatkan tidak terdistribusi normal dan tidak homogen (Lampiran 8 dan 9). Perhitungan kadar hemoglobin menggunakan uji parametrik (ANAVA), karena data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen (Lampiran 14 dan 15).

Dari perhitungan jumlah eritrosit, setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol anemia, didapatkan nilai $p > 0,05$ untuk kelompok normal, dosis 1, dan 2, yang menunjukkan bahwa jumlah eritrosit pada kelompok kontrol

Universitas Indonesia

anemia, normal, dosis 1, dan dosis 2 tidak berbeda bermakna. Perbedaan bermakna hanya terdapat pada kelompok dosis 3 (Lampiran 13). Sedangkan untuk perhitungan kadar hemoglobin, setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol anemia, didapatkan nilai $p > 0,05$ untuk kelompok normal, dosis 1, 2, dan dosis 3 yang menunjukkan bahwa kadar hemoglobin pada kelompok kontrol anemia, normal, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 tidak berbeda bermakna (Lampiran 17).

Pengukuran kadar hematokrit menggunakan metode mikrohematokrit dan dilakukan di Laboratorium Balai Besar Kesehatan Jakarta. Hasil pengukuran kadar hematokrit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan (pemberian angkak), dari penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.4 (hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 8).

Tabel 4.4

Kadar Hematokrit rata-rata tikus putih jantan sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kadar Hematokrit (%)	
	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I	32,60 ± 7,16	32,20 ± 9,06
II	28,00 ± 4,30	25,20 ± 2,48
III	26,40 ± 4,39	24,20 ± 3,49
IV	27,20 ± 4,08	28,40 ± 5,41
V	27,80 ± 4,76	25,20 ± 4,14

Keterangan : I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; Sebelum Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; Setelah Perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari

Dari data di atas dan Gambar 4.4 terlihat bahwa kadar rata-rata hematokrit sebelum perlakuan pada kelompok II, III, IV dan V lebih kecil dari kelompok I, yang merupakan kelompok normal. Hal ini sesuai dengan efek yang ditimbulkan akibat penginduksian dengan anilin, yang menyebabkan terjadinya

anemia hemolitik, sehingga hematokrit, yang menggambarkan volume darah yang ditempati oleh eritrosit, juga berkurang (McPherson, Pincus, 2007 ; Firoze, Kaphalia, Boor, Ansari, 1992).

Namun berbeda dengan kedua parameter sebelumnya, yang mengalami peningkatan setelah perlakuan, kadar rata-rata hematokrit kelompok III, dan V, yang mendapat bahan uji mengalami penurunan, yang mengalami kenaikan hanya pada kelompok IV. Melihat bahwa eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit merupakan parameter yang saling berhubungan maka dapat disimpulkan bahwa perbedaan kadar yang terjadi bukan merupakan efek dari pemberian angkak. Perbedaan kadar ini dapat disebabkan karena sampel yang tidak segera di periksa setelah pengambilan sampel dan juga karena penggunaan antikoagulan yang tidak seragam jumlahnya untuk setiap sampel, sehingga menyebabkan negatif palsu dari kadar hematokrit (McPherson, Pincus, 2007).

Uji statistik yang digunakan adalah uji non parametrik, karena data yang didapatkan tidak terdistribusi normal (Lampiran 18 dan 19). Dari hasil perhitungan, menggunakan uji non parametrik, *Kruskal-Wallis*, didapatkan nilai $p \geq 0,05$, yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar kadar hematokrit tiap kelompok setelah perlakuan (Lampiran 21).

Banyak hal yang dapat menyebabkan perbedaan jumlah atau kadar parameter-parameter yang diperiksa dalam penelitian ini, selain karena kondisi lingkungan kandang yang kurang baik dan variasi individu hewan uji, kesalahan juga dapat terjadi selama perhitungan karena metode yang digunakan merupakan metode manual dan visual, yang sangat bergantung pada keahlian dan ketelitian dari teknisi yang mengerjakan.

Kesulitan lainnya yang dihadapi dalam penelitian ini adalah penyuntikan anilin pada hewan uji. Selama penelitian, peneliti melakukan beberapa kali pengulangan, karena proses penginduksian hewan uji yang tidak berhasil. Umumnya setelah diinduksi dengan anilin, baik pada penyuntikan pertama maupun kedua, kondisi kesehatan hewan uji mengalami penurunan, hewan uji mengalami tremor serta mengeluarkan cairan dari mulut dan beberapa jam

Universitas Indonesia

kemudian mati. Hal ini menyebabkan peneliti menurunkan dosis penyuntikan anilin, akan tetapi setelah diberikan dosis yang lebih kecil, penurunan eritrosit dan hemoglobin menjadi lebih kecil juga, dan masih terdapat beberapa tikus yang mengalami kematian. Kondisi ini berlangsung untuk beberapa *batch* penelitian, sampai kemudian ditemukan bahwa penyebab kematian tikus setelah diinduksi anilin, disebabkan karena larutan anilin yang disuntikkan pada hewan uji belum larut sempurna. Ketidakteraturan proses penginduksian inilah yang menyebabkan perbedaan jumlah dan kadar dari parameter-parameter yang diperiksa, sebelum perlakuan.

Anilin mempunyai kelarutan yang kecil dalam air, oleh karena itu saat pembuatan, anilin dilarutkan dalam air mendidih dan diaduk hingga larut. Di awal pembuatan ketika larutan terlihat keruh dan tidak terdapat adanya anilin yang tampak seperti globul minyak lagi, peneliti berasumsi bahwa anilin sudah larut dan larutan tersebut bisa disuntikkan pada hewan uji. Setelah beberapa kali pembuatan larutan uji, ditemukan bahwa larutan uji dalam kondisi yang telah disebutkan sebelumnya, belum larut sempurna. Larutan uji larut sempurna apabila larutan benar-benar terlihat jernih tanpa kekeruhan, dan kondisi larutan yang seperti ini akan didapatkan, apabila proses pelarutan dilakukan dalam air mendidih, yang tetap dipanaskan dalam *waterbath*.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian melalui pemeriksaan hematologi, diketahui bahwa pemberian ekstrak cair angkak yang diberikan secara oral dengan dosis 1,26 g/200g bb tikus (dosis 1), 2,52 g/200 g bb tikus (dosis 2), 5,04 g/200g bb tikus (dosis 3), tidak berpengaruh ($p > 0,05$) terhadap jumlah trombosit, eritrosit, kadar hemoglobin, dan kadar hematokrit, walaupun jumlah trombosit, eritrosit dan kadar hemoglobin semakin meningkat dengan bertambahnya dosis.

5.2 SARAN

Agar diperoleh efek peningkatan jumlah trombosit, dan eritrosit serta kadar hemoglobin yang bermakna, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan dosis yang lebih tinggi.

DAFTAR ACUAN

- Chen, J. K., & Chen, T. T. (2004). Hong Qu (*Monascus purpureus*). In *Chinese Medicinal Herbalogy and Pharmacology* (pp. 5271-5272). Art of Medicine Press.
- Chen, K., Pohan, H. T., & Sinto, R. (2009). Diagnosis dan terapi cairan pada demam berdarah dengue. *Medicinus Vol.22, No. 1 Edisi Maret-Mei* .
- Ciccoli, L., et al. (1999). Hemolytic drugs aniline and dapsone induce iron release in erythrocyte and increase the free iron pool in spleen and liver. *Toxicology Letters Vol.110* , 57-66.
- Corwin, E. J. (2001). *Buku saku patofisiologi. Terjemahan dari handbook of pathophysiology oleh Brahm U Pendit*. Jakarta : EGC.
- Dahlan, M. S. (2008). *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Erdogrul, O., & Azirak, S. (2004). Review of the studies on the red yeast rice (*Monascus purpureus*). *Turkish electronic Journal of Biotechnology Vol. 2*, 37 - 49.
- Firoze, M. K., et al. (1993). Subchronic toxicity of aniline hydrochloride in rats. *Archieve of Environmental Contamination and Toxicology Vol. 24, No.3* , 368-374.
- Gandasoebrata, R. (1989). *Penuntun labororatorium klinik*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Ganong, W. F. (1995). *Fisiologi kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Gunawan, H. (2007). Penentuan kadar trombosit darah mencit jantan galur swiss webster pada pemberian infus beras angkak dan isolat metabolit kuning *Monascus purpureus* menggunakan hematology analizer. Skripsi Sarjana Farmasi Sekolah Farmasi ITB. Bandung.
- Haramaki, N., et al. (2007). Fluvastatin alters platelet aggregability in patient with hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Vol.27* , 1471-1477.
- Heber, D., et al. (1999). Cholesterol-lowering effects of a proprietary chinese red yeast rice dietary supplement. *The American Journal of Clinical Nutrition Vol.69* , 231-236.

- Hoff, J. (2000). Methods of blood collection in the mouse. *Laboratory Animals Vol. 29, No. 10* , 47-53.
- Jaya, I. (2008). Hubungan kadar hematokrit awal dengan derajat klinis dbd. *Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta* .
- Kasim, E., Kurniawati, Y., & Nurhidayat, N. (2006). Pemanfaatan isolat lokal *Monascus purpureus* untuk menurunkan kolesterol darah pada tikus putih galur sprague dawley. *Biodiversitas Vol.7, No.2* , 123-126.
- Krinke, G. J. (2000). *The handbook of experimental animals : the laboratory rat*. Academic Press.
- Lee, C. L., Tsai, T. Y., & Wang, J. J. (2006). In vivo hypolipidemic effect and safety of low dosage *Monascus* powder in a hamster model hyperlipidemia. *Apply Microbiology Biotechnology Vol. 70* , 533-540.
- McPherson, R., & Pincus, M. (2007). *Henry's clinical diagnostic and management laboratory methods*. USA: Sunders Elsevie.
- Miner, N. A., Koehler, J., & Greenway, L. (1969). Intraperitoneal injection of mice. *American Society for Microbiology Vol. 17, No. 2* , 250 - 251.
- Monograph *Monascus purpureus*. (2004). *Alternative Medicine review Vol.9* , No.2 , 208-210.
- Murray, R., Granner, D., Mayes, P., & Rodwell, W. (2001). *Biokimia harper edisi 25 terjemahan dari harper's biochemistry oleh Andry Hartono*. Jakarta: EGC.
- Natural Standard Bottom Line Monograph. (2006). Red yeast rice.
- Price, S., & Wilson, L. (2005). *Patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit. volume I. edisi 6. terjemahan dari pathophysiology : clinical concepts of disease process, oleh Peter A.* Jakarta: EGC.
- Pusat Studi Obat Bahan Alam Departemen Farmasi FMIPA UI Depok. (2004). *Hasil penelitian uji efikasi obat herbal untuk meningkatkan kadar hemoglobin, jumlah trombosit, dan eritrosit dalam hewan uji tikus putih jantan*. Depok.
- Rahmi, Hanifah. (2009). Studi hematologis dan histopatologis organ pada tikus yang diinduksi kuinin sebagai uji potensi metabolic angkak. Skripsi Sarjana Sains FMIPA IPB. Bogor.

- Sherwood, L. (2001). *Fisiologi manusia dari sel ke sistem edisi 2. Terjemahan dari human physiology : from cells to system oleh Brahm U.P.* Jakarta: EGC.
- Singh, H., Purnell, E., & Smith, C. (2007). Mechanistic study of aniline induced erythrocyte toxicity. *Arh. Hig. Rach. Toksikol Vol 58* , 275-285.
- Smith, J., & Mangkoewidjojo, S. (1988). *Pemeliharaan nilai rujukan parameter faal hewan percobaan sebagai model penyakit pada manusia dan hewan.* Jakarta: Uii Press.
- Sulaksono, M. E. (1994). Penentuan nilai rujukan parameter faal hewan percobaan sebagai model penyakit pada manusia dan hewan. *Center for Research and Development Control Disease NIHRD* .
- Tisnadjaja, D. (2006). *Bebas kolesterol dan demam berdarah dengan angkak.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Triana, E., & Nurhidayat, N. (2006). Pengaruh pemberian beras yang difermentasi oleh *Monascus purpureus* jmba terhadap darah tikus putih (*Rattus Sp*) hiperkolesterolemia. *Biodiversitas Vol. 7, No.4* , 317-321.
- Umbreit, J. (2007). Methemoglobin-it's not just blue : a concise review. *American Journal of Hematology Vol. 83* , 138-144.
- United States Environmental Protection Agency. (1994). Aniline fact sheet : support document.
- Wang, J. -J., Lee, C. L., & Pan, T. M. (2005). Modified mutation method for screening low citrinin-producing strains of *Monascus purpureus* on rice culture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 52* , 6977-6982.
- Wibowo, M. S., Milanda, T., & Julianti, E. (2006). Transformasi gen resistensi higromisin (hph) ke kapang *Monascus purpureus* mutan albino melalui mediasi *Agrobacterium tumefaciens*. Laporan Akhir Fundamental ITB. Bandung.



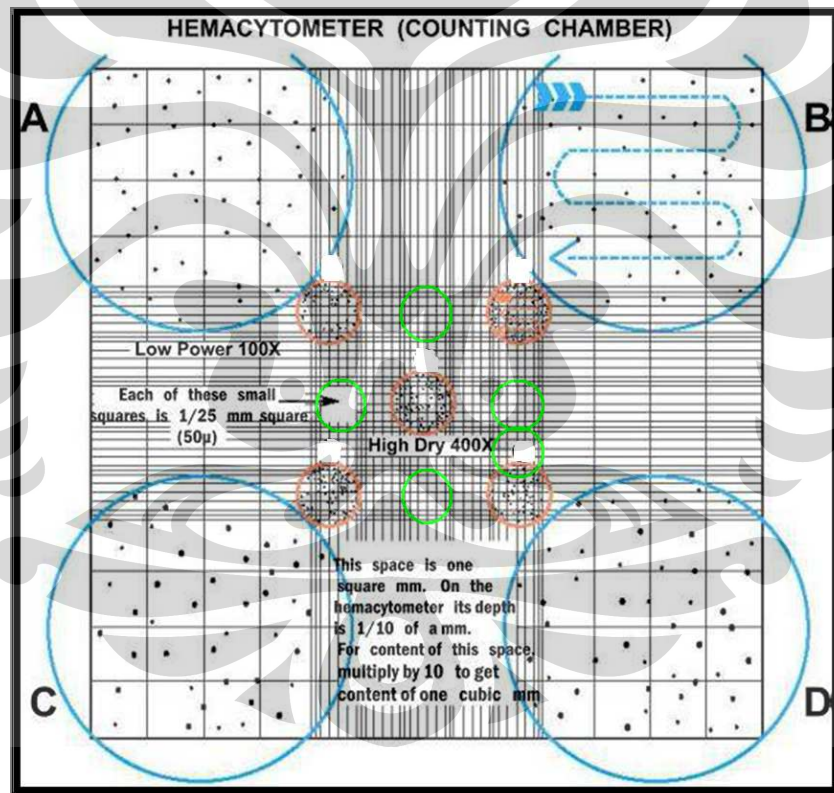
Gambar 2.1 Angkak



Gambar 3.1. Hemositometer *Improved Neubauer*

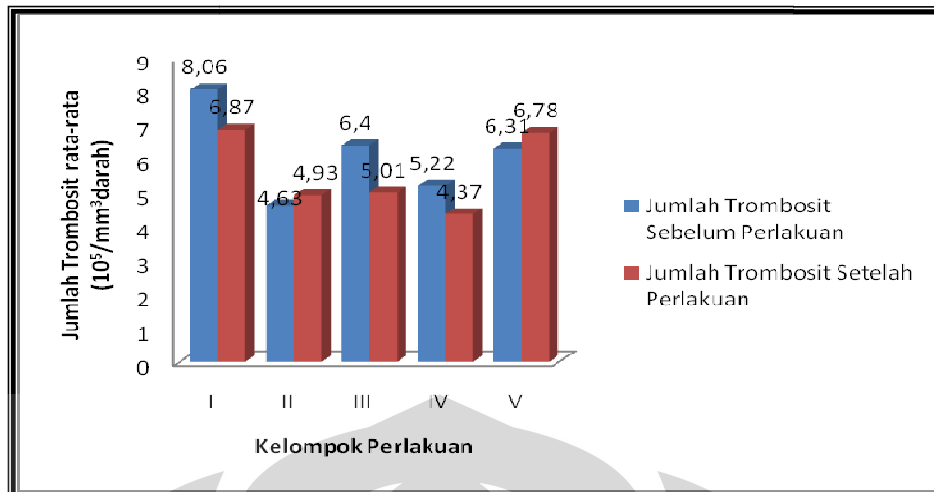


Gambar 3.2. Hemometer Sahli-Erka



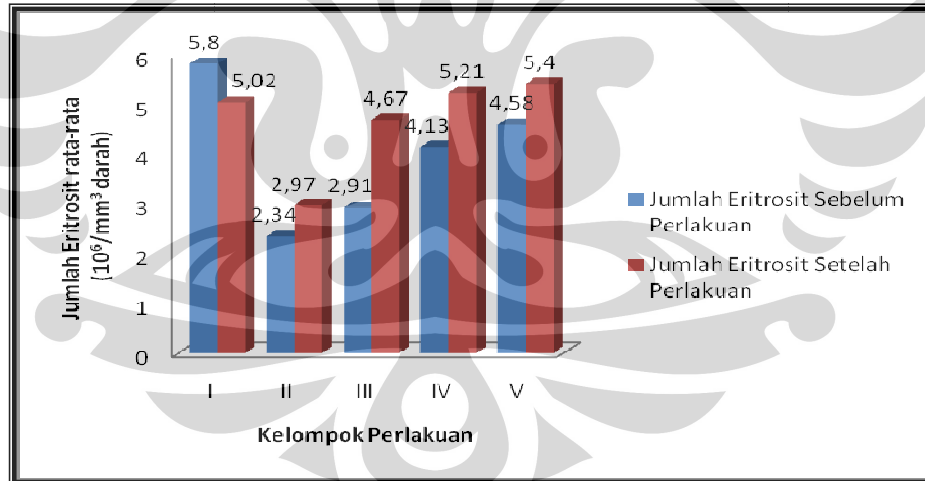
Keterangan: 1. A-B-C-D kamar hitung untuk Leukosit
 5 Lingkaran Orange kamar hitung untuk Eritrosit
 5 Lingkaran Orange + 5 Lingkaran Hijau, kamar hitung untuk Trombosit

Gambar 3.3. Kamar hitung *Improved Neubauer*



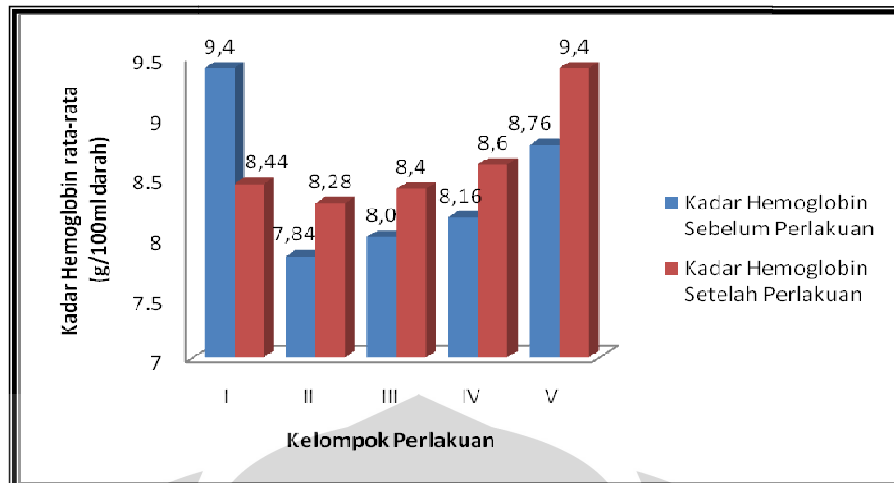
Keterangan : kelompok perlakuan I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; sebelum perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; setelah perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari.

Gambar 4.1 Diagram batang jumlah trombosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan



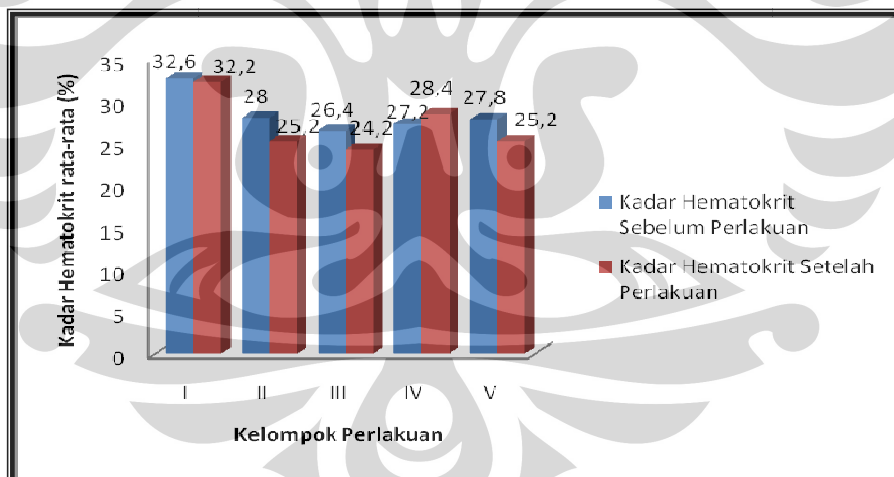
Keterangan : kelompok perlakuan I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; sebelum perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; setelah perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari

Gambar 4.2 Diagram batang jumlah eritrosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan



Keterangan : kelompok perlakuan I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; sebelum perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; setelah perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari

Gambar 4.3 Diagram batang kadar hemoglobin rata-rata sebelum dan setelah perlakuan



Keterangan : kelompok perlakuan I = kelompok normal; II = kelompok kontrol anemia; III = kelompok Dosis 1,26 g/200g bb tikus; IV = kelompok Dosis 2,52 g/200g bb tikus; V = kelompok Dosis 5,04 g/200g bb tikus; sebelum perlakuan = tikus telah diinduksi anilin, dan belum diberi angkak; setelah perlakuan = tikus telah diinduksi anilin dan telah diberi angkak selama 6 hari

Gambar 4.4 Diagram batang kadar hematokrit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan

Tabel 5

Jumlah trombosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Ulangan	Jumlah Trombosit ($10^5/\text{mm}^3$ darah)	
		Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I (Kontrol Normal)	1	2,60	7,80
	2	6,75	9,20
	3	8,95	3,05
	4	10,8	5,10
	5	11,2	9,20
	X ± SD	8,06 ± 3,52	6,87 ± 2,71
II (Kontrol Anemia)	1	6,05	6,90
	2	2,75	2,35
	3	7,95	6,10
	4	2,60	2,60
	5	3,80	6,70
	X ± SD	4,63 ± 2,31	4,93 ± 2,26
III (Dosis 1,26 g/200g bb tikus/hari)	1	3,55	2,55
	2	10,3	5,35
	3	3,85	4,50
	4	9,10	10,05
	5	5,20	2,60
	X ± SD	6,40 ± 3,10	5,01 ± 3,06
IV (Dosis 2,52 g/200g bb tikus/hari)	1	4,45	4,05
	2	5,00	4,85
	3	4,55	6,45
	4	6,35	4,35
	5	5,75	2,15
	X ± SD	5,22 ± 0,81	4,37 ± 1,54
V (Dosis 5,04 g/200g bb tikus/hari)	1	8,50	7,60
	2	4,55	4,94
	3	3,70	10,1
	4	5,85	5,50
	5	8,95	5,75
	X ± SD	6,31 ± 2,33	6,78 ± 2,10

Tabel 6

Jumlah eritrosit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Ulangan	Jumlah Eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$ darah)	
		Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I (Kontrol Normal)	1	5,54	4,48
	2	5,01	4,00
	3	6,56	6,01
	4	5,65	6,13
	5	6,24	4,52
	X \pm SD	5,80 \pm 0,60	5,02 \pm 0,97
II (Kontrol Anemia)	1	3,91	1,52
	2	1,01	3,22
	3	1,15	4,01
	4	3,40	4,66
	5	2,25	1,45
	X \pm SD	2,34 \pm 1,30	2,97 \pm 1,45
III (Dosis 1,26 g/200g bb tikus/hari)	1	1,15	6,16
	2	1,54	3,10
	3	6,97	7,20
	4	3,80	1,46
	5	1,11	5,45
	X \pm SD	2,91 \pm 2,52	4,67 \pm 2,34
IV (Dosis 2,52 g/200g bb tikus/hari)	1	3,15	4,70
	2	2,74	2,91
	3	3,05	3,50
	4	5,78	8,72
	5	5,95	6,24
	X \pm SD	4,13 \pm 1,58	5,21 \pm 2,33
V (Dosis 5,04 g/200g bb tikus/hari)	1	3,45	5,69
	2	6,69	6,32
	3	5,94	3,69
	4	2,78	4,27
	5	4,04	7,06
	X \pm SD	4,58 \pm 1,66	5,40 \pm 1,40

Tabel 7

Jumlah hemoglobin rata-rata sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Ulangan	Kadar Hemoglobin (g/100 ml darah)	
		Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I (Kontrol Normal)	1	10,2	8,4
	2	8,6	8,0
	3	10,6	9,4
	4	9,0	9,6
	5	8,6	6,8
	X ± SD	9,40 ± 0,93	8,44 ± 1,13
II (Kontrol Anemia)	1	7,2	7,6
	2	7,0	6,8
	3	8,4	9,2
	4	8,6	9,0
	5	8,0	8,8
	X ± SD	7,84 ± 0,71	8,28 ± 1,03
III (Dosis 1,26 g/200g bb tikus/hari)	1	8,4	8,8
	2	7,8	8,2
	3	7,0	8,8
	4	7,8	7,0
	5	9,0	9,2
	X ± SD	8,00 ± 0,74	8,40 ± 0,86
IV (Dosis 2,52 g/200g bb tikus/hari)	1	8,0	8,0
	2	7,8	7,8
	3	7,0	8,4
	4	9,2	10,0
	5	8,8	8,8
	X ± SD	8,16 ± 0,86	8,60 ± 0,87
V (Dosis 5,04 g/200g bb tikus/hari)	1	8,0	8,2
	2	9,4	10,0
	3	10,0	9,4
	4	8,2	8,8
	5	8,2	10,6
	X ± SD	8,76 ± 0,88	9,40 ± 0,94

Tabel 8

Kadar hematokrit rata-rata sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Ulangan	Kadar Hematokrit (%)	
		Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
I (Kontrol Normal)	1	38	42
	2	36	42
	3	39	28
	4	23	24
	5	27	25
	X ± SD	32,60 ± 7,16	32,20 ± 9,06
II (Kontrol Anemia)	1	35	27
	2	24	23
	3	26	27
	4	29	27
	5	26	22
	X ± SD	28,00 ± 4,30	25,20 ± 2,48
III (Dosis 1,26 g/200g bb tikus/hari)	1	34	24
	2	25	24
	3	23	30
	4	26	22
	5	24	21
	X ± SD	29,80 ± 8,58	24,20 ± 3,49
IV (Dosis 2,52 g/200g bb tikus/hari)	1	34	24
	2	25	27
	3	24	24
	4	28	37
	5	25	30
	X ± SD	27,20 ± 4,08	28,40 ± 5,41
V (Dosis 5,04 g/200g bb tikus/hari)	1	35	25
	2	26	32
	3	30	23
	4	25	21
	5	23	25
	X ± SD	27,80 ± 4,76	25,20 ± 4,14

Lampiran 1

Hasil identifikasi kapang *Monascus purpureus* pada bahan uji angkak



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)
 Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Bogor, 24 Maret 2010

Nomor : 34/IPH.1.04/IF.08/III/2010
 Lampiran :
 Perihal : Hasil identifikasi kapang

Kepada Yth
 Ketua Program Sarjana Ekstensi
 Departemen Farmasi, FMIPA
 Universitas Indonesia
 Kampus UI Depok 16424

Dengan hormat,

Sehubungan dengan permohonan identifikasi untuk mahasiswa Sdr. : Reni Silviani dan Abigail L. B. Dengan ini kami sampaikan hasil identifikasi kapang secara morfologi dari sampel beras merah Cina yang kami terima, kami nyatakan bahwa sampel tersebut mengandung kapang *Monascus purpureus*.

Demikian penjelasan dari kami, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Kepala Bidang Mikrobiologi
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI



 Dr. Heddy Julistiono
 NIP. 195709241984031001

Lampiran 2

Penentuan dosis uji

Dosis angka yang digunakan adalah dosis yang digunakan secara umum di masyarakat, 1 sendok makan (3,5 g) diminum 2 kali sehari. Pada penelitian ini, digunakan 3 dosis, yaitu :

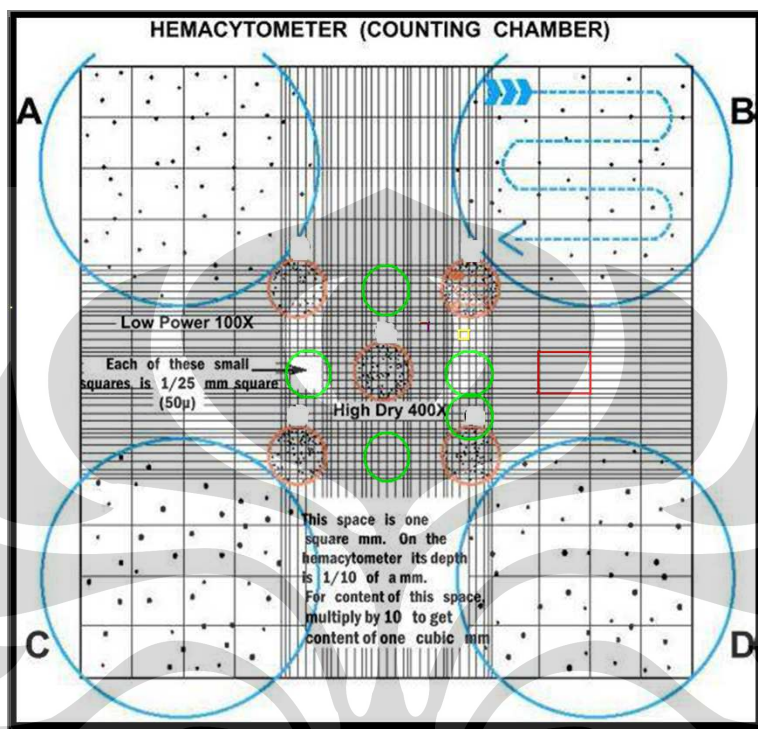
Dosis 1	: 3,5g	x 2	= 7 g
Dosis 2	: 7g	x 2	= 14 g
Dosis 3	: 14g	x 2	= 28 g

Dosis ini kemudian dikonversi ke dalam dosis untuk tikus dan dikalikan dengan faktor farmakokinetik. Maka dosis yang diberikan pada tikus/ hari adalah :

Dosis 1	: 7g x 0,018 x 10	= 1,26 g/200g bb tikus/hari
Dosis 2	: 14g x 0,018 x 10	= 2,52 g/200g bb tikus/hari
Dosis 3	: 28g x 0,018 x 10	= 5,04 g/200g bb tikus/hari

Lampiran 3

Perhitungan faktor konversi pada perhitungan trombosit dan eritrosit



Tinggi kamar hitung $1/10 \text{ mm}^2$

Luas bidang besar (BB), lingkaran berwarna biru : masing-masing = 1 mm^2

Luas bidang sedang (BS) kotak berwarna merah : masing-masing = $1/4 \times 1/4 \text{ mm}^2 = 1/16 \text{ mm}^2$

Luas bidang kecil (BK) kotak berwarna kuning : masing-masing = $1/20 \times 1/20 \text{ mm}^2 = 1/400 \text{ mm}^2$

Banyaknya BS yang ditengah, (lingkaran berwarna orange dan hijau) = 25, masing-masing BS dibagi jadi 16BK

❖ Perhitungan trombosit 10 BS → 160 BK → Luas = $2/5 \text{ mm}^2$ → Volume = $1/25 \text{ mm}^3$

❖ Perhitungan eritrosit 5 BS → 80 BK → Luas = $1/5 \text{ mm}^2$ → Volume = $1/50 \text{ mm}^3$

Faktor Konversi (FK) = $(1 \text{ mm}^3 / \text{Vol Kamar}) \times \text{pengenceran}$

FK untuk trombosit = $(1/0,04) \times 200 = 5000$

FK untuk eritrosit = $(1/0,02) \times 200 = 10.000$

Lampiran 4

Uji distribusi normal menurut *Shapiro-Wilk* terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan distribusi data jumlah trombosit tikus yang diperoleh

2. Hipotesis :

Ho = data jumlah trombosit berasal dari populasi yang terdistribusi normal

Ha = data jumlah trombosit berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Tests of Normality				
	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
sebelum	Normal	.902	5	.419
	Anemia	.886	5	.337
	Dosis 1	.858	5	.222
	Dosis 2	.910	5	.469
	Dosis 3	.902	5	.420
setelah	Normal	.875	5	.289
	Anemia	.787	5	.063
	Dosis 1	.848	5	.187
	Dosis 2	.971	5	.881
	Dosis 3	.870	5	.268

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

5. Kesimpulan :

Sebelum dan setelah : Ho diterima artinya data trombosit berasal dari populasi yang terdistribusi normal.

Lampiran 5

Uji homogenitas varians menurut *Levene* terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kehomogenan data jumlah trombosit tikus yang diperoleh

2. Hipotesis :

Ho = data jumlah trombnosit berasal dari populasi yang bervariasi homogen

Ha = data jumlah trombosit berasal dari populasi yang tidak bervariasi homogen

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
sebelum	2.841	4	20	.051
setelah	.846	4	20	.513

5. Kesimpulan :

Sebelum dan setelah : Ho diterima artinya data jumlah trombosit berasal dari populasi yang bervariasi homogen

Lampiran 6

Uji analisis varians satu arah terhadap jumlah trombosit antar kelompok sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna dari jumlah trombosit antar kelompok sebelum dan setelah perlakuan

2. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah trombosit antar kelompok

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah trombosit antar kelompok

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
sebelum	Between Groups	1.382	4	.345	1.287	.308
	Within Groups	5.367	20	.268		
	Total	6.748	24			
setelah	Between Groups	1.063	4	.266	1.157	.359
	Within Groups	4.595	20	.230		
	Total	5.658	24			

5. Kesimpulan :

Sebelum dan setelah : Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah trombosit antar kelompok sebelum dan setelah perlakuan.

Lampiran 7

Uji Beda Nyata Terkecil terhadap jumlah trombosit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui perbedaan jumlah trombosit yang bermakna di antara lima kelompok sebelum dan setelah perlakuan

2. Hipotesis :

Ho : tidak terdapat perbedaan jumlah trombosit yang bermakna di antara kelompok perlakuan

Ha : terdapat perbedaan jumlah trombosit yang bermakna di antara kelompok perlakuan

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima

4. Hasil :

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Sebelum	Normal	Anemia	3.43000(*)	1.63811	.049	.0130	6.8470
		Dosis 1	1.66000	1.63811	.323	-1.7570	5.0770
		Dosis 2	2.84000	1.63811	.098	-.5770	6.2570
		Dosis 3	1.75000	1.63811	.298	-1.6670	5.1670
	Anemia	Normal	-3.43000(*)	1.63811	.049	-6.8470	-.0130
		Dosis 1	-1.77000	1.63811	.293	-5.1870	1.6470
		Dosis 2	-.59000	1.63811	.722	-4.0070	2.8270
		Dosis 3	-1.68000	1.63811	.317	-5.0970	1.7370
Setelah	Normal	Anemia	1.94000	1.51605	.215	-1.2224	5.1024
		Dosis 1	1.86000	1.51605	.234	-1.3024	5.0224
		Dosis 2	2.50000	1.51605	.115	-.6624	5.6624
		Dosis 3	.09200	1.51605	.952	-3.0704	3.2544
	Anemia	Normal	-1.94000	1.51605	.215	-5.1024	1.2224
		Dosis 1	-.08000	1.51605	.958	-3.2424	3.0824
		Dosis 2	.56000	1.51605	.716	-2.6024	3.7224
		Dosis 3	-1.84800	1.51605	.237	-5.0104	1.3144

* The mean difference is significant at the .05 level.

(Lanjutan)

5. Kesimpulan :

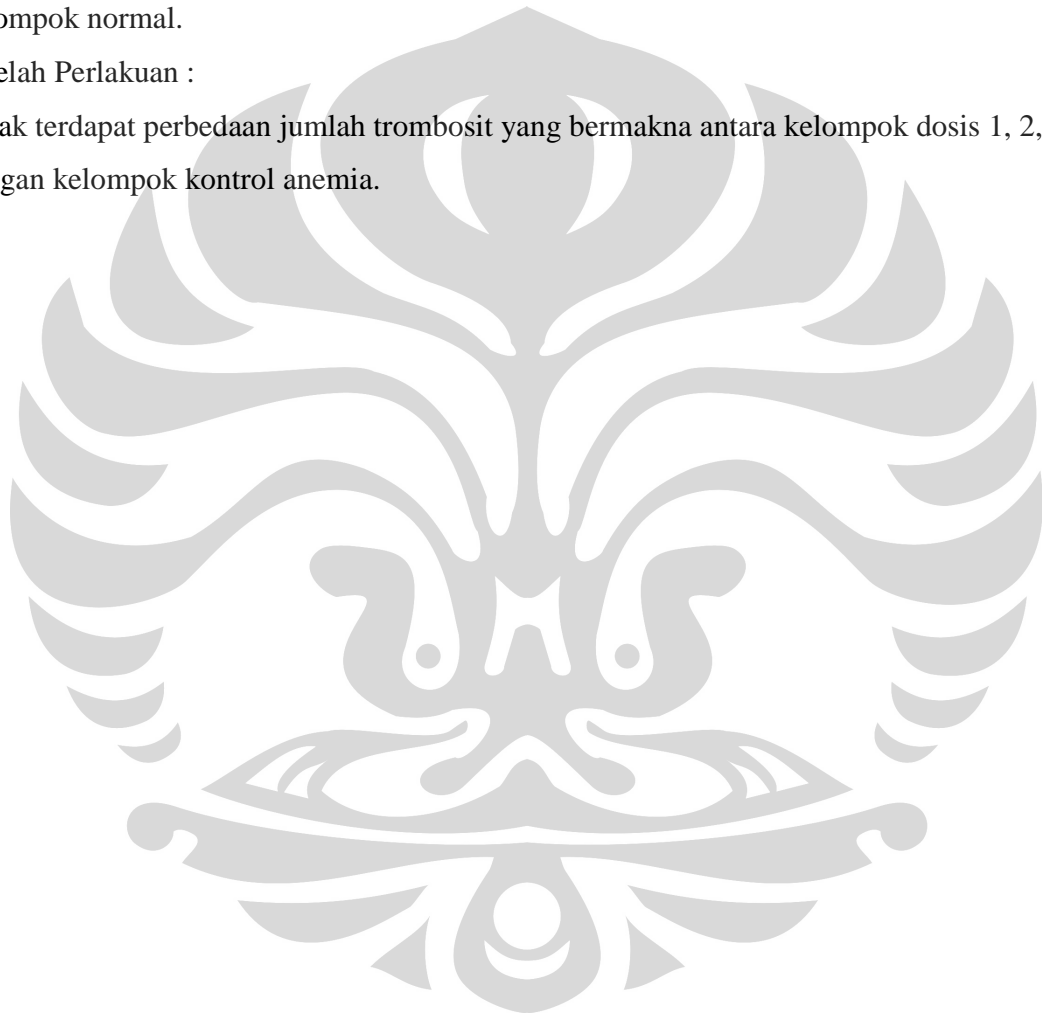
Sebelum perlakuan :

Tidak terdapat perbedaan jumlah trombosit yang bermakna antara kelompok dosis 1, 2, dan 3 dengan kelompok normal.

Terdapat perbedaan jumlah trombosit yang bermakna antara kelompok kontrol anemia dengan kelompok normal.

Setelah Perlakuan :

Tidak terdapat perbedaan jumlah trombosit yang bermakna antara kelompok dosis 1, 2, dan 3 dengan kelompok kontrol anemia.



Lampiran 8

Uji distribusi normal menurut *Shapiro-Wilk* terhadap jumlah eritrosit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan distribusi data jumlah Eritrosit tikus yang diperoleh

2. Hipotesis :

Ho = data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang terdistribusi normal

Ha = data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Tests of Normality

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
sebelum	Kontrol Normal	.968	5	.863
	Kontrol Anemia	.900	5	.410
	Dosis 1	.807	5	.092
	Dosis 2	.773	5	.047
	Dosis 3	.922	5	.540
setelah	Kontrol Normal	.840	5	.164
	Kontrol Anemia	.889	5	.351
	Dosis 1	.943	5	.684
	Dosis 2	.936	5	.638
	Dosis 3	.948	5	.724

* This is a lower bound of the true significance.
a. Lilliefors Significance Correction

5. Kesimpulan :

Sebelum perlakuan : Ho di tolak artinya data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal.

Setelah perlakuan : Ho diterima artinya data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang terdistribusi normal.

Lampiran 9

Uji homogenitas varians menurut *Levene* terhadap jumlah eritrosit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kehomogenan data jumlah eritrosit yang diperoleh

2. Hipotesis :

Ho = data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang bervariasi homogen

Ha = data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang tidak bervariasi homogen

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Test of Homogeneity of Variance

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
sebelum	3.138	4	20	.037
setelah	1.786	4	20	.171

5. Kesimpulan :

Sebelum : Ho ditolak artinya data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang tidak bervariasi homogen.

Setelah : Ho diterima artinya data jumlah eritrosit berasal dari populasi yang bervariasi homogen.

Lampiran 10

Uji *Kruskal-Wallis* terhadap jumlah eritrosit sebelum perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok sebelum perlakuan

2. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Test Statistics(a,b)

	sebelum
Chi-Square	8,497
df	4
Asymp. Sig.	.075

a Kruskal Wallis Test
b Grouping Variable: Kelompok

5. Kesimpulan :

Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok sebelum perlakuan.

Lampiran 11
Uji *Mann Whitney* terhadap jumlah eritrosit sebelum perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna di antara lima kelompok sebelum perlakuan
2. Hipotesis :
Ho : tidak terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna di antara kelompok perlakuan
Ha : terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna di antara kelompok perlakuan
3. Kriteria Uji :
Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
4. Hasil :

**Normal dan Anilin
Test Statistics(b)**

	Sebelum
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008(a)

- a Not corrected for ties.
b Grouping Variable: Kelompok

**Normal dan Dosis 2
Test Statistics(b)**

	Sebelum
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.358
Asymp. Sig. (2-tailed)	.175
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222(a)

- a Not corrected for ties.
b Grouping Variable: Kelompok

**Normal dan Dosis 1
Test Statistics(b)**

	Sebelum
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.567
Asymp. Sig. (2-tailed)	.117
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151(a)

- a Not corrected for ties.
b Grouping Variable: Kelompok

**Normal dan Dosis 3
Test Statistics(b)**

	Sebelum
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.940
Asymp. Sig. (2-tailed)	.347
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421(a)

- a Not corrected for ties.
b Grouping Variable: Kelompok

(Lanjutan)

5. Kesimpulan :

Tidak terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna antara kelompok dosis 1, 2, dan 3 dengan kelompok normal.

Terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna antara kelompok kontrol anemia dengan kelompok normal.



Lampiran 12

Uji analisis varians satu arah terhadap jumlah eritrosit antar kelompok setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok setelah perlakuan
2. Hipotesis :
 - Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok perlakuan
 - Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok perlakuan
3. Kriteria Uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 - Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
setelah	Between Groups	19.242	4	4.810	1.505	.239
	Within Groups	63.947	20	3.197		
	Total	83.189	24			

5. Kesimpulan :
 - Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari jumlah eritrosit antar kelompok setelah perlakuan

Lampiran 13

Uji Beda Nyata Terkecil terhadap jumlah eritrosit tikus setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna di antara lima kelompok sebelum dan setelah perlakuan
2. Hipotesis :
 - Ho : tidak terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna di antara kelompok perlakuan
 - Ha : terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna di antara kelompok perlakuan
3. Kriteria Uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 - Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
4. Hasil :

		Multiple Comparisons					
LSD						95% Confidence Interval	
Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
setelah	Kontrol Normal	Kontrol Anemia	2.05600	1.13091	.084	-.3030	4.4150
		Dosis 1	.35400	1.13091	.758	-2.0050	2.7130
		Dosis 2	-.18600	1.13091	.871	-2.5450	2.1730
		Dosis 3	-.37800	1.13091	.742	-2.7370	1.9810
	Kontrol Anemia	Kontrol Normal	-2.05600	1.13091	.084	-4.4150	.3030
		Dosis 1	-1.70200	1.13091	.148	-4.0610	.6570
		Dosis 2	-2.24200	1.13091	.061	-4.6010	.1170
		Dosis 3	-2.43400(*)	1.13091	.044	-4.7930	-.0750

* The mean difference is significant at the .05 level.

5. Kesimpulan :
 - Tidak terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna antara kelompok dosis 1, dan dosis 2 dengan kelompok kontrol anemia.
 - Terdapat perbedaan jumlah eritrosit yang bermakna antara kelompok dosis 3 dengan kelompok kontrol anemia.

Lampiran 14

Uji distribusi normal menurut *Shapiro-Wilk* terhadap kadar hemoglobin tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan distribusi data kadar hemoglobin tikus yang diperoleh
2. Hipotesis :
 Ho = data kadar hemoglobin berasal dari populasi yang terdistribusi normal
 Ha = data kadar hemoglobin berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal
3. Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

Tests of Normality

kelompok		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
sebelum	Normal	.836	5	.154
	Anemia	.901	5	.415
	Dosis 1	.970	5	.876
	Dosis 2	.970	5	.875
	Dosis 3	.831	5	.143
setelah	Normal	.938	5	.655
	Anemia	.871	5	.272
	Dosis 1	.872	5	.277
	Dosis 2	.901	5	.417
	Dosis 3	.987	5	.967

* This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

5. Kesimpulan :
 Sebelum dan setelah : Ho diterima artinya kadar hemoglobin berasal dari populasi yang terdistribusi normal.

Lampiran 15

Uji homogenitas varians menurut *Levene* terhadap kadar hemoglobin tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kehomogenan data kadar hemoglobin tikus yang diperoleh
2. Hipotesis :
 Ho = data kadar hemoglobin berasal dari populasi yang bervariasi homogen
 Ha = data kadar hemoglobin berasal dari populasi yang tidak bervariasi homogen
3. Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
sebelum	Based on Mean	.111	4	20	.977
	Based on Median	.028	4	20	.998
	Based on Median and with adjusted df	.028	4	17.283	.998
	Based on trimmed mean	.102	4	20	.980
setelah	Based on Mean	.341	4	20	.847
	Based on Median	.164	4	20	.954
	Based on Median and with adjusted df	.164	4	16.554	.954
	Based on trimmed mean	.327	4	20	.857

5. Kesimpulan :
 Sebelum dan setelah : Ho diterima artinya data kadar hemoglobin berasal dari populasi yang bervariasi homogen.

Lampiran 16

Uji analisis varians satu arah terhadap kadar hemoglobin antar kelompok sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna dari kadar hemoglobin antar kelompok

2. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hemoglobin antar kelompok perlakuan

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hemoglobin antar kelompok perlakuan

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
sebelum	Between Groups	8.278	4	2.070	2.970	.045
	Within Groups	13.936	20	.697		
	Total	22.214	24			
setelah	Between Groups	4.026	4	1.006	1.057	.403
	Within Groups	19.040	20	.952		
	Total	23.066	24			

5. Kesimpulan :

Sebelum perlakuan : Ho ditolak artinya terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hemoglobin antar kelompok.

Setelah perlakuan : Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hemoglobin antar kelompok.

Lampiran 17

Uji Beda Nyata Terkecil terhadap kadar hemoglobin tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui perbedaan kadar hemoglobin yang bermakna di antara lima kelompok sebelum dan setelah perlakuan
2. Hipotesis :
 - Ho : tidak terdapat perbedaan kadar hemoglobin yang bermakna di antara kelompok perlakuan
 - Ha : terdapat perbedaan kadar hemoglobin yang bermakna di antara kelompok perlakuan
3. Kriteria Uji :
 - Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 - Sig. > 0,05 berarti Ho diterima
4. Hasil :

LSD							
Multiple Comparisons							
Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
sebelum	Normal	Anemia	1.56000(*)	.52794	.008	.4587	2.6613
		Dosis 1	1.40000(*)	.52794	.015	.2987	2.5013
		Dosis 2	1.24000(*)	.52794	.029	.1387	2.3413
		Dosis 3	.64000	.52794	.240	-.4613	1.7413
	Anemia	Normal	-1.56000(*)	.52794	.008	-2.6613	-.4587
		Dosis 1	-.16000	.52794	.765	-1.2613	.9413
		Dosis 2	-.32000	.52794	.551	-1.4213	.7813
		Dosis 3	-.92000	.52794	.097	-2.0213	.1813
setelah	Normal	Anemia	.16000	.61709	.798	-1.1272	1.4472
		Dosis 1	.04000	.61709	.949	-1.2472	1.3272
		Dosis 2	-.16000	.61709	.798	-1.4472	1.1272
		Dosis 3	-.96000	.61709	.135	-2.2472	.3272
	Anemia	Normal	-.16000	.61709	.798	-1.4472	1.1272
		Dosis 1	-.12000	.61709	.848	-1.4072	1.1672
		Dosis 2	-.32000	.61709	.610	-1.6072	.9672
		Dosis 3	-1.12000	.61709	.085	-2.4072	.1672

* The mean difference is significant at the .05 level.

(Lanjutan)

5. Kesimpulan :

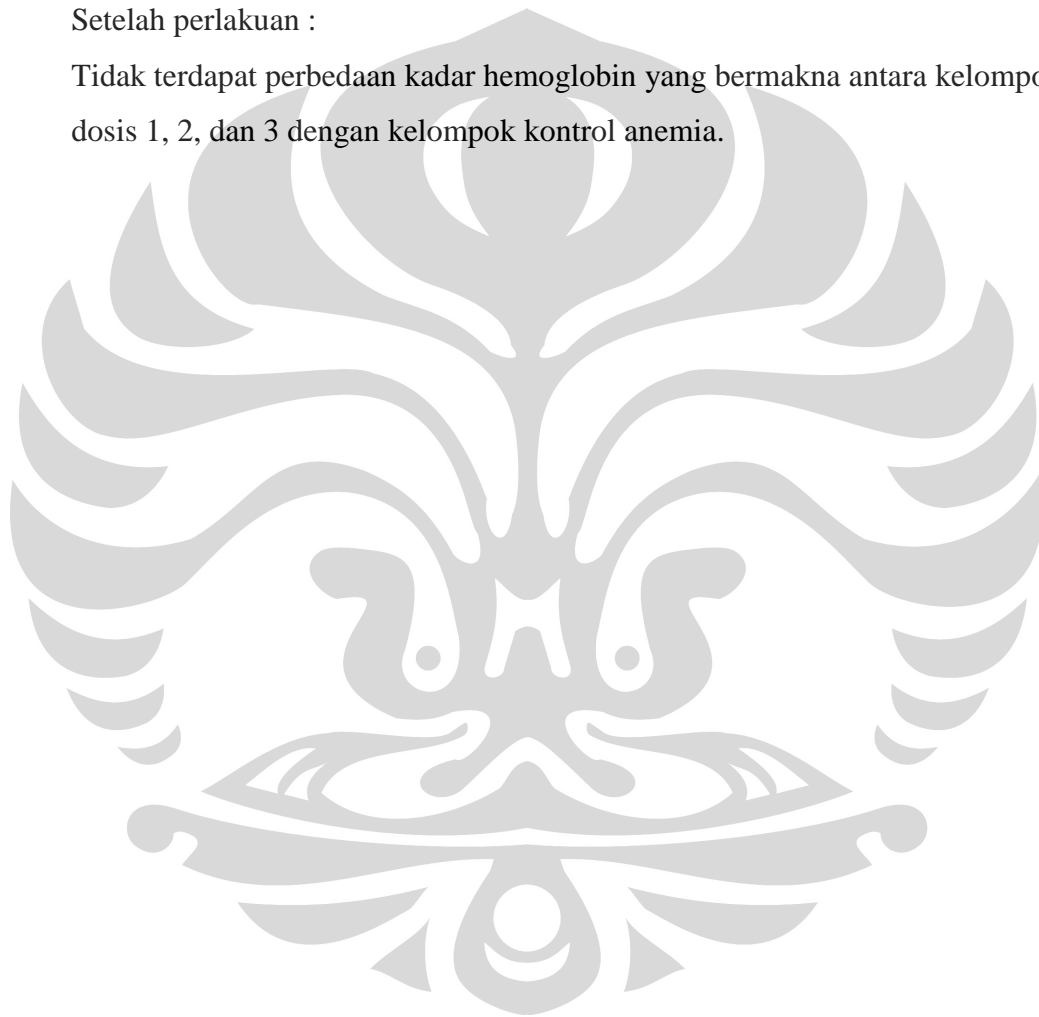
Sebelum perlakuan:

Terdapat perbedaan kadar hemoglobin yang bermakna antara kelompok anemia, dosis 1, dan 2 dengan kelompok normal.

Tidak terdapat perbedaan kadar hemoglobin yang bermakna antara kelompok dosis 3 dengan kelompok normal.

Setelah perlakuan :

Tidak terdapat perbedaan kadar hemoglobin yang bermakna antara kelompok dosis 1, 2, dan 3 dengan kelompok kontrol anemia.



Lampiran 18

Uji distribusi normal menurut *Shapiro-Wilk* terhadap kadar hematokrit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kenormalan distribusi data kadar hematokrit tikus yang diperoleh
2. Hipotesis :
 Ho = data kadar hematokrit berasal dari populasi yang terdistribusi normal
 Ha = data kadar hematokrit berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal
3. Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

Tests of Normality

	kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
sebelum	Normal	.861	5	.231
	Anilin	.872	5	.277
	Dosis 1	.787	5	.063
	Dosis 2	.813	5	.103
	Dosis 3	.929	5	.587
setelah	Normal	.785	5	.061
	Anilin	.742	5	.025
	Dosis 1	.856	5	.215
	Dosis 2	.868	5	.260
	Dosis 3	.883	5	.323

* This is a lower bound of the true significance.
 a. Lilliefors Significance Correction

5. Kesimpulan :
 Sebelum perlakuan : Ho diterima artinya kadar hematokrit berasal dari populasi yang terdistribusi normal.
 Setelah perlakuan : Ho ditolak artinya kadar hematokrit berasal dari populasi yang tidak terdistribusi normal.

Lampiran 19

Uji homogenitas varians menurut *Levene* terhadap kadar hematokrit tikus sebelum dan setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui kehomogenan data kadar hematokrit tikus yang diperoleh
2. Hipotesis :
 Ho = data kadar hematokrit berasal dari populasi yang bervariasi homogen
 Ha = data kadar hematokrit berasal dari populasi yang tidak bervariasi homogen
3. Kriteria Uji :
 Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.
 Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.
4. Hasil :

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
sebelum	Based on Mean	1.144	4	20	.364
	Based on Median	.313	4	20	.866
	Based on Median and with adjusted df	.313	4	16.838	.865
	Based on trimmed mean	1.075	4	20	.395
setelah	Based on Mean	2.746	4	20	.057
	Based on Median	1.036	4	20	.413
	Based on Median and with adjusted df	1.036	4	14.949	.421
	Based on trimmed mean	2.676	4	20	.062

5. Kesimpulan :
 Ho diterima artinya data kadar hematokrit berasal dari populasi yang bervariasi homogen

Lampiran 20

Uji analisis varians satu arah terhadap kadar hematokrit antar kelompok sebelum perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok sebelum perlakuan

2. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
sebelum	Between Groups	8.278	4	2.070	2.970	.045
	Within Groups	13.936	20	.697		
	Total	22.214	24			
setelah	Between Groups	4.026	4	1.006	1.057	.403
	Within Groups	19.040	20	.952		
	Total	23.066	24			

5. Kesimpulan :

Sebelum perlakuan : Ho ditolak artinya terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok.

Lampiran 21

Uji *Kruskal-Wallis* terhadap kadar hematokrit setelah perlakuan

1. Tujuan : untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok setelah perlakuan

2. Hipotesis :

Ho = Tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok

Ha = Terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok

3. Kriteria Uji :

Sig. < 0,05 berarti Ho ditolak.

Sig. > 0,05 berarti Ho diterima.

4. Hasil :

Test Statistics(a,b)

	sebelum	setelah
Chi-Square	3.575	5.242
df	4	4
Asymp. Sig.	.467	.263

a Kruskal Wallis Test

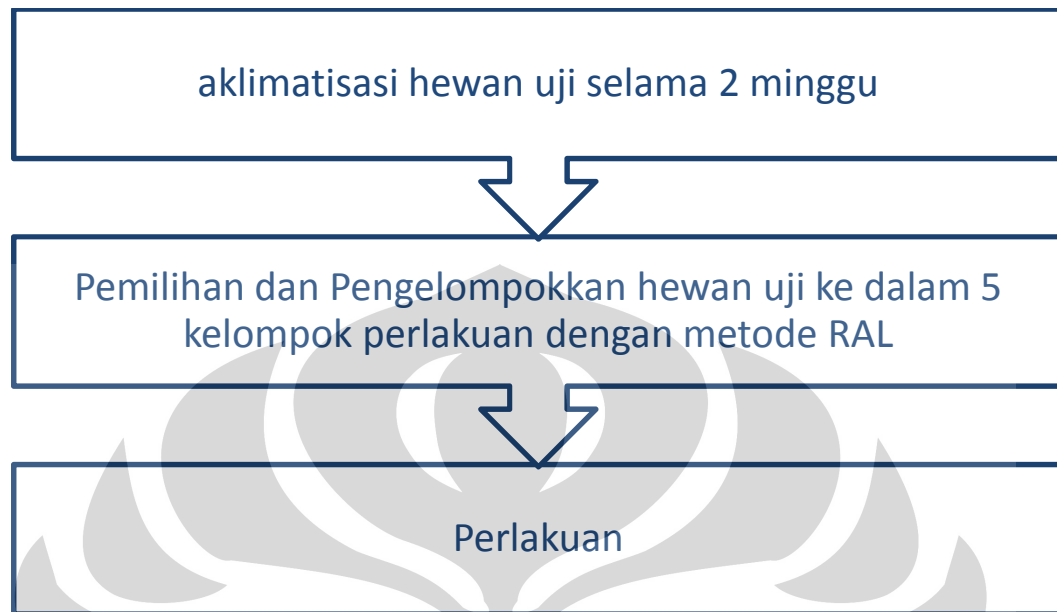
b Grouping Variable: kelompok

5. Kesimpulan :

Ho diterima artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari kadar hematokrit antar kelompok.

Lampiran 22

Skema kerja



Hari ke-	Kelompok				
	I (Kontrol Normal)	II (Kontrol anemia)	III (Dosis 1)	IV (Dosis 2)	V (Dosis 3)
1 & 2	induksi anilin dosis 0,004 ml/bb tikus				
3 pagi	Pengambilan dan pemeriksaan sampel darah (sebelum perlakuan)				
3 sore	Sonde aquadest 3ml/200g bb tikus		Sonde angkak dosis 1	Sonde angkak dosis 2	Sonde angkak dosis 3
4-8					
9	Pengambilan dan pemeriksaan sampel darah (setelah perlakuan)				