



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGUKURAN ZAT BESI DALAM BAYAM MERAH DAN
SUPLEMEN PENAMBAH DARAH SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP PENINGKATAN HEMOGLOBIN DAN ZAT BESI
DALAM DARAH**

SKRIPSI

MELATI AZIZKA FAJRIA

0706262520

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI S1 FISIKA
DEPOK
DESEMBER 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGUKURAN ZAT BESI DALAM BAYAM MERAH DAN
SUPLEMEN PENAMBAH DARAH SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP PENINGKATAN HEMOGLOBIN DAN ZAT BESI
DALAM DARAH**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

MELATI AZIZKA FAJRIA

0706262520

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FISIKA
DEPOK
DESEMBER 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Melati Azizka Fajria

NPM : 0706262520

Tanda tangan : 

Tanggal : 15 Desember 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Melati Azizka Fajria
NPM : 0706262520
Program studi : Fisika Medis
Judul Skripsi : Pengukuran Kadar Besi dalam Bayam Merah dan Suplemen Penambah Darah serta Pengaruhnya Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin dan Zat Besi dalam Darah.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program studi Fisika Medis, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Seruni K. U. Freisleben ()
Pembimbing II : Sri Handayani, M.Bio.Med ()
Penguji I : Prof. Dr. rer. nat Rosari Saleh ()
Penguji II : Arreta Rei, M.Si ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 15 Desember 2011

KATA PENGANTAR

Segala puji serta syukur Saya penjatkan kepada Allah SWT, karena berkah serta rahmat kasih sayangNya Saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Jurusan Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Banyak pihak yang telah membantu Penulis dalam proses belajar penulis selama jenjang sarjana ini, mulai dari awal masa perkuliahan hingga skripsi ini selesai. Tanpa bantuan mereka, Penulis bukan apa-apa dan mungkin penulis akan kesulitan dalam penyelesaian skripsi ini. Oleh karena itu, izikan Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Seruni U.K Freisleben selaku pembimbing I yang begitu baik, tidak hanya membimbing tapi juga mendidik, mengayomi, dan memberikan teladan untuk penulis;
2. Sri Handayani, M.Bio.Med, selaku dosen pembimbing II yang baik telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membantu, mengarahkan serta mengayomi penulis dalam penyusunan skripsi ini;
3. Prof. Dr. Djarwani Soeharso Soejoko, selaku ketua peminatan fisika medis atas arahnya kepada penulis;
4. Prof. Dr. rer.nat. Rosari Saleh, selaku penguji I yang memberikan saran dan masukan serta peminjaman fasilitas sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. Ibu Arreta Rei, M.Si, selaku dosen penguji II atas saran dan diskusinya yang sangat berguna untuk penulis;
6. Prof. Dr. Hans-Joachin Freisleben dan Dra. Eka Puspita Wuyung, MS atas bimbingan, waktu, serta sarannya selama proses penyusunan skripsi ini;
7. dr. Nafrialdi, PhD, Sp.FK, Sp.Pd dan Prof. Dr. Frans D. Suyatna, SpFK, PhD atas izinnya atas peminjaman laboratorium penelitian ini;

8. Dr. Azwar Manaf dan Dr. Bambang Soegijono , atas kesediaanya memberikan pinjaman alat penelitian selama proses penelitian;
9. Bapak Dede dan tim di laboratorium farmakologi FK UI atas bimbingan dan kesabaran mengajarkan penulis bagaimana proses yang baik dan benar selama pengambilan data;
10. Penghuni Laboratorium 111, Lukmanda Evan Lubis, Yakub Aqib Bayhaqi, dan Mbak Kristina Wigati atas asupan semangat yang kalian berikan setiap harinya;
11. Saudara/i hijau dan lingkaran, khususnya Maya, Ifah dan Sita yang setia berdoa setiap harinya tanpa diminta untuk penulis dan yang lainnya, terimakasih atas segala bentuk perhatian yang kalian berikan kepada penulis;
12. Staf pengajar Departemen Fisika FMIPA UI, yang sangat berjasa memberikan ilmu kepada penulis;
13. Rekan-rekan seperjuangan di Fisika 2007 atas segala bantuan dan dukungan semangat baik secara langsung maupun tidak;
14. Tanpa bermaksud melupakan, kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama ini;
15. Skripsi ini penulis persembahkan untuk Ibu dan Bapak tercinta serta adik perempuan di rumah yang tak henti-hentinya memberikan semangat, nasehat, perhatian serta doa untuk penulis;

Hanya Allah SWT yang dapat membalas kebaikan yang telah membantu penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga semua kebaikan yang kalian berikan kepada penulis diberikan balasan yang jauh lebih besar dan lebih baik oleh Allah SWT.

Jakarta, Desember 2011

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Melati Azizka Fajria
NPM : 0706262520
Program Studi : S1
Departemen : Fisika
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk membarikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksekutif (*Non-executive Royalty Free Right*) atas karya Ilmiah saya yang berjudul :

Pengukuran Zat Besi dalam Bayam Merah dan Suplemen Penambah Darah serta Pengaruhnya terhadap Peningkatan Hemoglobin dan Zat Besi dalam Darah

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksekutif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmediakan/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 : Jakarta
Pada tanggal : 15 Desember 2011
Yang menyatakan :



(Melati Azizka Fajria)

ABSTRAK

Peningkatan kadar oksigen dalam darah dapat dicapai dengan meningkatkan kadar hemoglobin yang berfungsi dalam pengangkutan oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Kadar hemoglobin di dalam tubuh dapat meningkat, apabila zat besi yang memiliki peran dalam sintesis hemoglobin meningkat. Penelitian ini merupakan suatu tahapan awal dari upaya untuk meningkatkan kadar oksigen sel pada pasien kanker.

Pada penelitian ini digunakan bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) untuk meningkatkan kadar besi dalam tubuh, yang dibandingkan dengan suplemen penambah darah. Kadar zat besi pada larutan bayam merah dan suplemen penambah darah diukur dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS). Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur BALB/c dalam kondisi sehat, kemudian dibagi secara acak ke dalam tiga kelompok. Dosis kadar besi yang diberikan kepada setiap mencit adalah sebesar 50 µg/hari. Pengukuran kadar zat besi dan hemoglobin pada sampel darah hewan uji dilakukan sebelum dan setelah perlakuan. Pengukuran kadar zat besi dalam darah dilakukan dengan menggunakan AAS, sedangkan pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan kadar zat besi dalam darah pada mencit yang diberi bayam merah meningkat sebesar 29,32% dan kadar hemoglobin meningkat sebesar 17,47%, sedangkan sampel uji yang diberikan suplemen penambah darah kadar zat besi dalam darah meningkat sebesar 8,94% dan diikuti dengan peningkatan kadar hemoglobin sebesar 7,28%. Peningkatan kadar hemoglobin pada sampel yang diberikan bayam merah lebih tinggi dibandingkan dengan sampel yang diberikan suplemen penambah darah karena bayam merah memiliki faktor tanaman yang dapat membantu sintesis hemoglobin. Secara teoritis, meningkatnya kadar hemoglobin diikuti dengan peningkatan kapasitas maksimal oksigen dalam darah.

Kata Kunci : bayam merah, zat besi, AAS, hemoglobin, UV-Vis.

ABSTRACT

Increased levels of oxygen in the blood can be achieved by increasing the levels of hemoglobin that function in transporting oxygen from the lungs throughout the body. Increased oxygen levels may improve the results of radiation therapy in skin cancer treatment.

It is assumed that iron plays role in hemoglobin biosynthesis an increased iron levels in the blood may induce increased hemoglobin levels, at least in anemic conditions. This study intends to clarify whether iron and hemoglobin levels can be increased in healthy non-anemic test animals. Male mice, strain BALB/c, were randomly divided into three groups, two treatment groups and a control group.

The effect of red spinach (*Amaranthus gangeticus*) on the levels of iron and hemoglobin in the blood of these mice was compared with the effect of commercial iron sulphate tablets. The iron contents in the spinach extract and pharmaceutical FeSO₄ tablets were measured by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). Iron doses of 50 micrograms per day were given to each mice. Measurements of iron and hemoglobin levels in the blood of the animals were performed before and after treatment using AAS and UV-Vis spectrophotometry, respectively.

Iron levels in the blood of mice treated with red spinach increased by 29,32% and hemoglobin levels by 17,47%, while the iron levels in the blood of the group treated with iron tablet increased by 8,94% and hemoglobin by 7,28%. Our results demonstrate that iron and hemoglobin level are more effectively increased by red spinach extract than by commercial iron tablets, possibly due to phytofactors in the spinach, which may improve the gastrointestinal absorption of iron and/or induce hemoglobin biosynthesis.

In conclusion, increased levels of hemoglobin should consecutively also increase the maximum oxygen transport capacity in the blood.

Key Word : Red Spinach, iron, hemoglobin, spectrophotometer UV-Vis.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Batasan Penelitian.....	3
1.3 Metodologi Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Tujuan Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bayam Merah (<i>Amaranthacea gangeticus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi Bayam Merah	5
2.1.2 Kandungan Bayam	6
2.2 Mencit BALB/c	6
2.3 Zat Besi	7
2.3.1 Definisi Zat Besi	7
2.3.2 Zat Besi Dalam Tubuh	9
2.4 Hemoglobin	10
2.4.1 Definisi Hemoglobin	10
2.4.2 Struktur Hemoglobin	10
2.4.3 Reaksi Hemoglobin dalam Tubuh	11
2.4.5 Fungsi Hemoglobin	12
2.5 Analisis Spektroskopi	12
2.6 <i>Atomic Absorption Spectroscopy</i> (AAS)	14
2.6.1 Prinsip Dasar Spektroskopi Serapan Atom	14
2.6.2 Komponen Spektroskopi Serapan Atom	15
2.6.3 Gangguan Pada AAS	16
2.7 Spektrofotometer <i>UV-Vis</i>	16
2.7.1 Prinsip Dasar <i>UV-Vis</i>	16

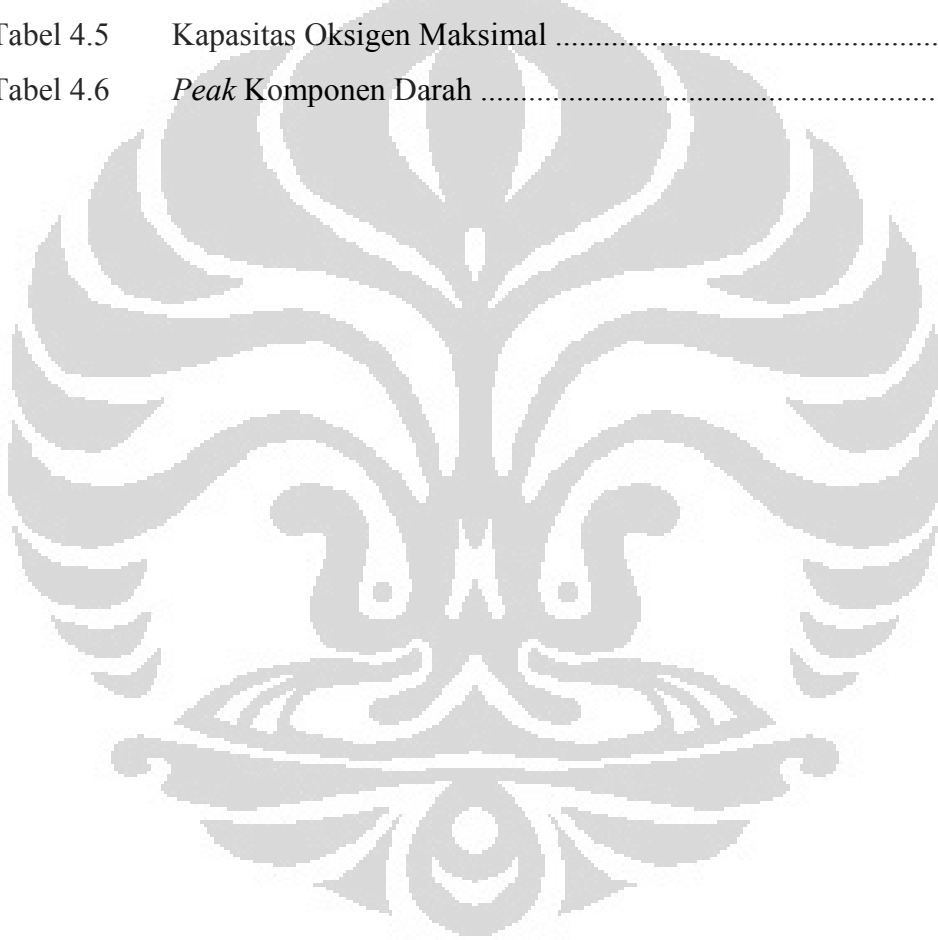
2.7.2	Komponen <i>UV-Vis</i>	17
2.7.3	Pengukuran Spektrum Darah dengan <i>UV-Vis</i>	18
BAB III.	METODE PENELITIAN	22
3.1	Rancangan Penelitian	22
3.2	Lokasi Penelitian	23
3.3	Alat dan Bahan	23
3.3.1	Alat	23
3.3.2	Bahan	24
3.4	Prosedur Kerja	24
3.4.1	Penyiapan Hewan Uji	25
3.4.2	Pengukuran Kadar Besi Total dalam Sampel Uji dan Darah Hewan Uji	26
3.4.3	Pengukuran Kadar Hemoglobin	29
3.4.4	Pemberian Sampel Uji	29
3.4.7	Pemeriksaan Spektra Darah	29
BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1	Pengukuran Kurva Kalibrasi	31
4.2	Perhitungan Kadar Zat Besi pada Sampel	32
4.3	Pengukuran Hemoglobin dan Kadar Zat Besi dalam Darah	34
4.2	Pengukuran Spektrum Darah dengan <i>UV-Vis</i>	38
BAB V.	KESIMPULAN DAN SARAN	42
	DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Struktur Molekul dari Bagian Aktif Oksihemoglobi	2
Gambar 2.1	Bayam Mearh (<i>Amaranthus gangetisus</i>)	5
Gambar 2.2	Mencit Balb/c	7
Gambar 2.3	Ion Besi pada Gugus Heme	8
Gambar 2.4	Kondisi Spin Orbital Ion Fe^{2+}	9
Gambar 2.5	Struktur Hemoglobin	11
Gambar 2.6	Penampang	AAS 15
.....		
Gambar 2.7	Penampang Sederhana <i>UV-Vis</i>	18
Gambar 2.8	Spektrum Absorpsi Darah	19
Gambar 2.9	Spektrum Peningkatan Kadar Oksigen	20
Gambar 2.10	Diagram Level Energi Elektronik	21
Gambar 3.1	Diagram Alur Penelitian	22
Gambar 4.1	Grafik Kurva Kalibrasi	31
Gambar 4.2	Diagram Kadar Zat Besi dan Hemoglobin	35
Gambar 4.3	Diagram Kapasitas Oksigen Maksimal	38
Gambar 4.4	Spektrum Darah	39

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Daerah Spektrum Elektromagnetik	13
Tabel 4.1	Pengukuran Larutan Standar Besi untuk Kurva Kalibrasi	31
Tabel 4.2	Kadar Besi Total pada Sampel	32
Tabel 4.3	Kadar Besi Total pada Sampel Bayam Merah	33
Tabel 4.4	Data Pengukuran Zat Besi dan Hemoglobin	34
Tabel 4.5	Kapasitas Oksigen Maksimal	37
Tabel 4.6	<i>Peak</i> Komponen Darah	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Perhitungan Kadar Zat Besi pada Masing-Masing sampel	xiv
Lampiran B	Perhitungan Kadar Zat Besi pada Sampel Bayam Merah Bubuk dengan Berbagai Perlakuan	xvii
Lampiran C	Perhitungan Hemoglobin dalam Darah	xix
Lampiran D	Perhitungan Kadar Besi dalam Darah	xxi
Lampiran E	Perhitungan Kapasitas Oksigen Maksimal dalam Darah	xxv
Lampiran F	Spektrum Darah dengan UV-Vis	xxvii
Lampiran G	Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan dari LIPI	xlixii



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini pengobatan kanker dengan menggunakan radiasi pengion masih menjadi alternatif utama untuk penyembuhan penyakit kanker. Selama pelaksanaan terapi radiasi, efek radiobiologis harus diperhatikan dengan tujuan agar selama terapi radiasi yang diberikan berada dalam dosis optimal. Dengan demikian akan didapatkan probabilitas kerusakan sel kanker yang tinggi, sedangkan kerusakan pada sel sehat di sekitarnya seminimal mungkin. Efek-efek radiobiologis yang harus diperhatikan selama terapi radiasi diantaranya :

- a. *Repair*
- b. *Repopulation* c.
- Redistribution* d.
- Reoxygenation*¹

Proses *repair* dan *repopulation* selama proses terapi radiasi diharapkan terjadi pada sel sehat, sehingga dapat mentoleransi dosis total radiasi yang diberikan, sedangkan *redistribution* dan *reoxygenation* diharapkan dapat terjadi pada sel kanker. Dalam penelitian ini diharapkan terjadinya penambahan kadar hemoglobin dalam darah, hal tersebut berkaitan dengan proses *reoxygenation* sel kanker. Proses *reoxygenation* merupakan peningkatan kadar oksigen sel-sel yang tidak mengandung oksigen (hipoksik) yang bersifat resisten terhadap radiasi.² Sel kanker yang normoksik (sel yang kaya akan oksigen) lebih sensitif terhadap radiasi dibandingkan dengan sel yang hipoksik (sel yang miskin oksigen).³ Saat sel kanker berada dalam keadaan miskin oksigen, sel yang telah terionisasi oleh sumber radiasi dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi dan memulihkan kemampuannya untuk dapat berfungsi kembali. Peningkatan kadar oksigen pada sel kanker bertujuan agar saat pemberian terapi radiasi sel tersebut lebih sensitif dan tidak dapat memperbaiki kerusakannya setelah radiasi.⁴

Zat besi (Fe) merupakan mikroelemen yang diperlukan oleh tubuh dalam pembentukan darah, yaitu dalam sintesis hemoglobin. Dalam tubuh, zat besi biasanya tidak dapat berdiri sendiri namun terkonjugasi dengan protein lain (dalam penelitian ini, zat besi terkonjugasi dengan hemoglobin) dalam bentuk zat besi aktif yaitu ferro (Fe^{2+}) (Gambar 1.1) atau zat besi inaktif yaitu ferri (Fe^{3+}).⁵

Penelitian ini merupakan suatu tahap awal dari upaya untuk menaikkan kadar oksigen dari pasien kanker. Melalui penelitian ini ingin diketahui bagaimana pengaruh pemberian zat besi terhadap kadar hemoglobin pada sampel (berupa mencit dengan kondisi normal) dan diharapkan adanya peningkatan kadar hemoglobin dalam darah, sehingga kemampuan darah mengikat oksigen akan meningkat.

1.2. Batasan Penelitian

Batasan yang ingin dicapai dalam penelitian tugas akhir ini adalah ingin mengetahui kadungan zat besi yang terdapat dalam bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) dan pengaruhnya terhadap kenaikan kadar zat besi serta hemoglobin dalam darah. Sebagai pembanding perlakuan terhadap pemberian zat besi dalam tubuh mencit, diberikan suplemen penambah darah berupa tablet FeSO_4 dan sirup penambah darah.

1.3. Metodologi Penelitian

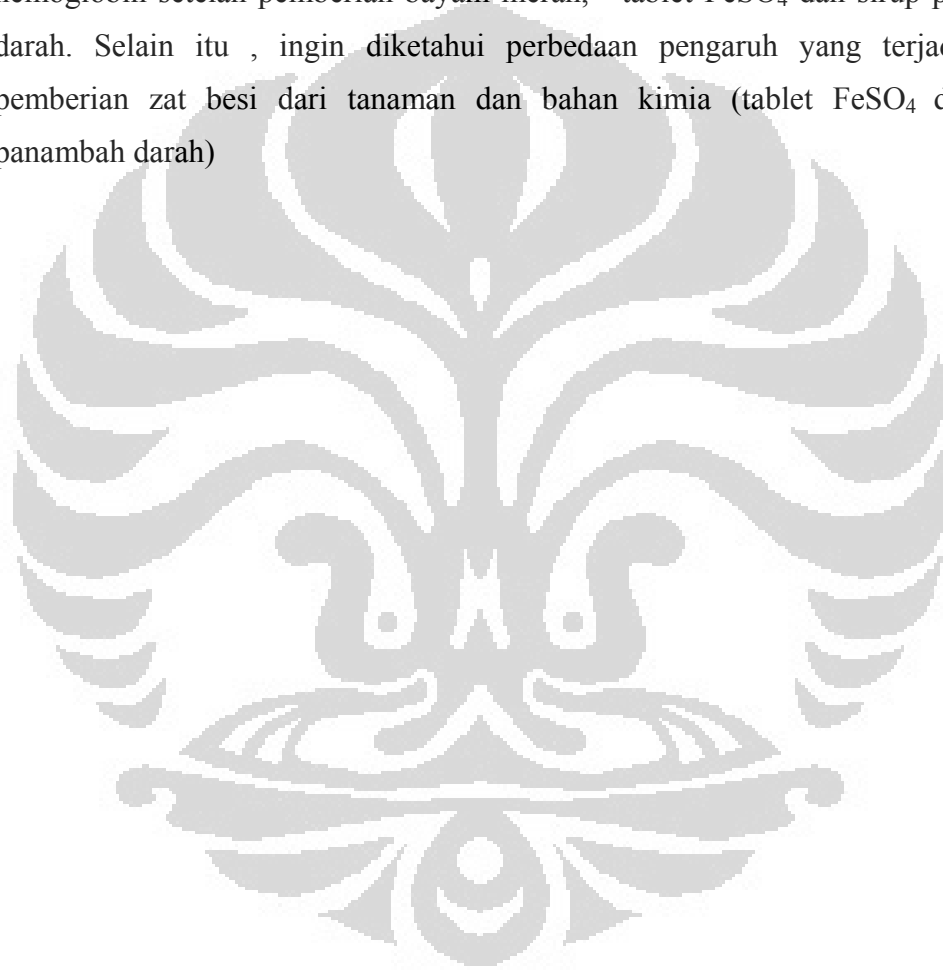
Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan empat perlakuan dengan enam kali ulangan. Perlakuan yang digunakan terdiri dari kelompok kontrol, kelompok yang diberikan larutan dari bayam merah bubuk, tablet FeSO_4 , dan sirup penambah darah. Pada penelitian ini digunakan hewan uji berupa mencit putih *Mus musculus* galur BALB/c⁹ berjenis kelamin jantan dengan usia 3 bulan sebanyak 24 ekor.

1.4 Hipotesis

Setelah penelitian ini dilakukan, diharapkan terjadi penambahan kadar zat besi dan hemoglobin dalam darah. Dengan kenaikan kadar hemoglobin tersebut kemampuan darah mengikat oksigenpun ikut meningkat.

1.5. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya peningkatan kadar hemoglobin setelah pemberian bayam merah,¹⁰ tablet FeSO₄ dan sirup penambah darah. Selain itu, ingin diketahui perbedaan pengaruh yang terjadi antara pemberian zat besi dari tanaman dan bahan kimia (tablet FeSO₄ dan sirup penambah darah)



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bayam Merah (*Amaranthus gangeticus*)

2.1.1 Klasifikasi Bayam Merah

Tamanan bayam termasuk dalam genus *Amaranthus*. Bayam merah merupakan keluarga dari rumpun *Amaranthus* dan memiliki nama latin *Amaranthus gangeticus*. Tanaman bayam berasal dari Amerika dan terus tersebar hingga ke daerah tropis dan subtropis. Di Indonesia, tanaman bayam dapat tumbuh di daerah panas dan dingin dengan ketinggian 5 – 2000 m di atas permukaan laut. Tanaman bayam merah merupakan tanaman semak dengan tinggi 0,4 – 1 m , memiliki batang lemah dan berair dengan daun berwarna hijau kemerahan.¹¹ Gambar 2.1 memperlihatkan gambar dari tanaman bayam merah.



[Sumber : www.iptek.net.id]

Gambar 2.1. Bayam Merah (*Amaranthus gangeticus*)

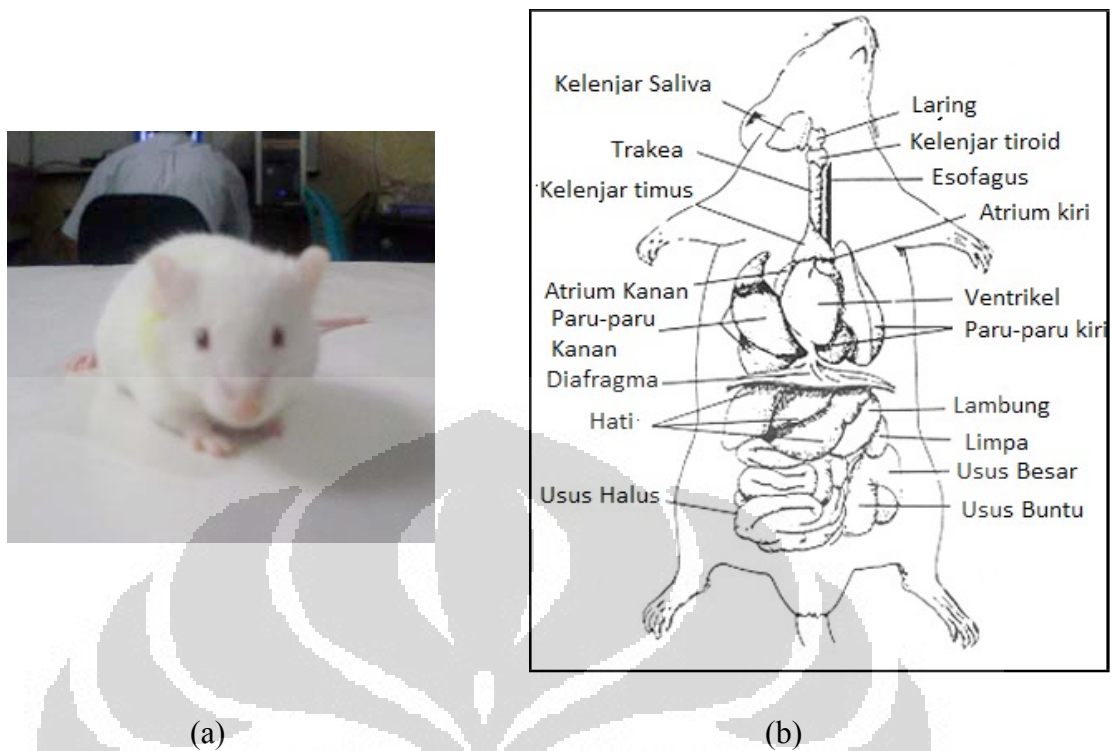
2.1.2 Kandungan Bayam

Kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman bayam antara lain protein, lemak, karbohidrat, kalium, zat besi, amarantin, rutin, purin, dan vitamin (A, B, dan C).¹² Bayam memiliki kandungan zat besi yang lebih tinggi dibandingkan sayuran berdaun lainnya.¹⁰ Dibandingkan dengan tanaman bayam duri (*Amaranthus spinosus*), tanaman bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) memiliki kadar zat besi yang lebih tinggi yaitu sekitar 2,64 mg Fe/100g, sedangkan untuk bayam duri kadar zat besi yang dimiliki sekitar 1,69 mg Fe/100g.¹³

Bayam memiliki kandungan asam oksalat yang dapat menghambat penyerapan besi dalam tubuh. Namun, menurut hasil penelitian Campen dan Welch, asam oksalat dalam bayam tidak mempengaruhi penyerapan besi dalam tubuh.¹⁰

2.2 Mencit BALB/c

Mencit BALB/c merupakan hewan laboratorium yang didapatkan dengan cara perkawinan sejenis. Mencit albino ini awalnya dikembangkan oleh H. Bagg pada tahun 1913, sehingga diberi nama “Bagg albino” atau BALB. Pada tahun 1923, mencit jenis ini dikembangbiakkan oleh MacDowell, yang menambahkan ‘c’ sebagai tambahan keterangan untuk albino.¹⁴ Mencit BALB/c biasa digunakan untuk penelitian yang berhubungan dengan kardiovaskular, darah, racun, farmakologi, dan antibodi.¹⁵ Gambar 2.2 (a) merupakan gambar dari hewan uji, yaitu mencit BALB/c, sedangkan Gambar 2.2 (b) merupakan struktur anatomi dari mencit.



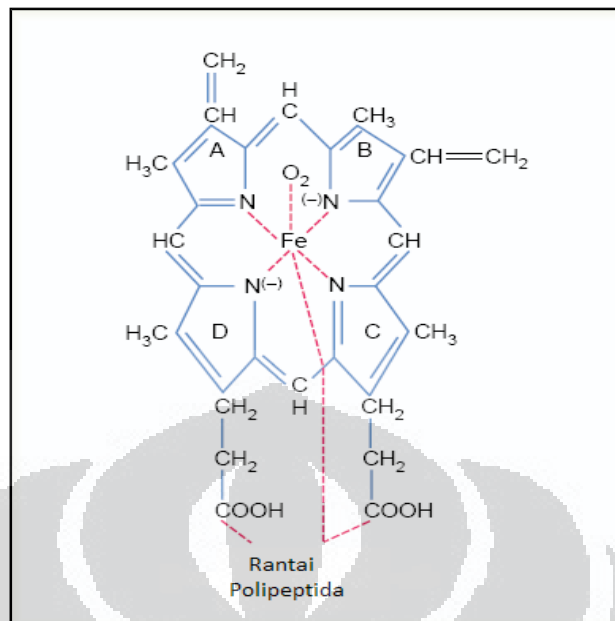
(a) Mencit BALB/c
 (b) Anatomi tubuh mencit BALB/c
 [Sumber : Harlan Laboratories]

Gambar 2.2. Mencit BALB/c

2.3 Zat Besi

2.3.1 Definisi Zat Besi

Zat besi merupakan salah satu komponen pada hemoglobin yang dapat berikatan dengan O_2 dan juga merupakan komponen dari *cytochromes* yang berperan dalam rantai transport elektron.¹⁶ Molekul besi (Fe) merupakan salah satu komponen mikro elemen esensial di dalam tubuh yang diperlukan dalam pembentukan darah (hemopoiesis), terutama dalam sintesis hemoglobin. Di dalam tubuh, zat besi terkonjugasi dalam dua bentuk yaitu bentuk aktif berupa ferro (Fe^{2+}) dan bentuk inaktif berupa ferri (Fe^{3+}).⁵ Gambar 2.3 adalah ilustrasi sederhana dari ion besi aktif (Fe^{2+}) yang berikatan dengan rantai heme pada molekul hemoglobin.

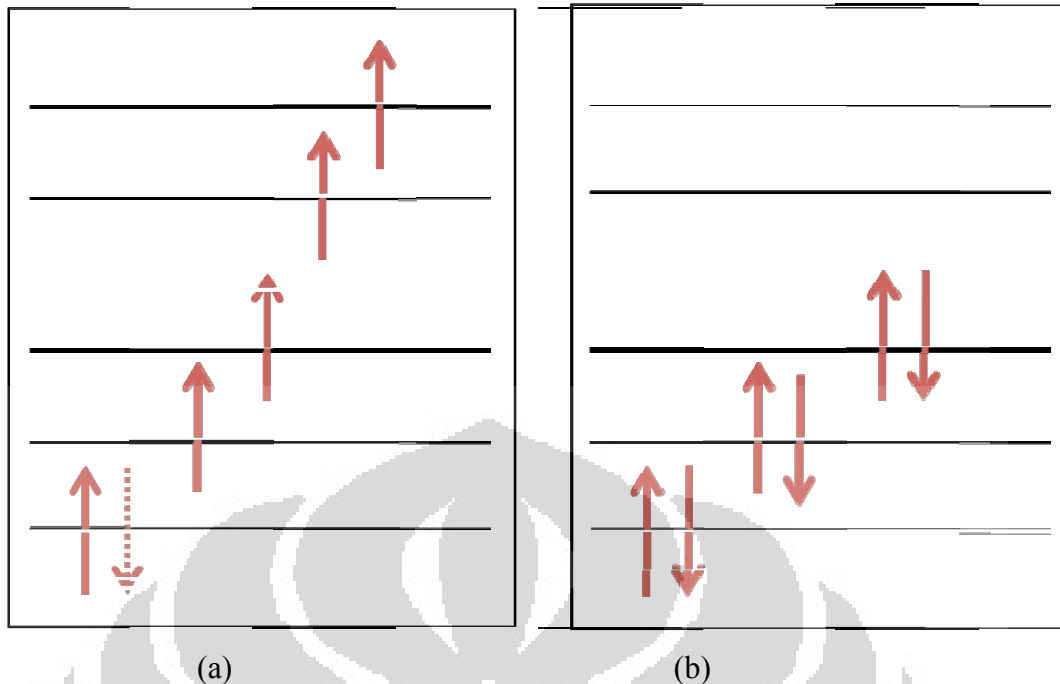


[Sumber : Guyton,A.C., Hall, J.E. Text Book of Medical. p.424]

Gambar 2.3 Ion Besi pada Gugus Heme

Besi Fe^{2+} maupun Fe^{3+} merupakan suatu ion logam transisi. Ion logam transisi berada dalam suatu keadaan oksidasi positif, dalam keadaan tersebut yang ditinjau adalah orbital d. Orbital d yang ada pada ion logam transisi dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu pada keadaan t_{2g} dan e_g . Kondisi penempatan elektron pada masing-masing orbital menyebabkan adanya konfigurasi *low-spin* dan *high-spin*.¹⁷

Hemoglobin yang belum berikatan dengan oksigen disebut juga deoksihemoglobin. Ion Fe^{2+} pada deoksihemoglobin berada dalam keadaan *high spin*. Untuk dapat berikatan dengan oksigen ion Fe^{2+} tidak merubah valensinya, namun ion Fe^{2+} merubah kondisi spinnya. Kondisi dari spin Fe^{2+} akan berubah dari kondisi *high spin* menjadi *low spin*.¹⁷ Gambar 2.4 memperlihatkan kondisi spin orbital pada ion Fe^{2+} , saat ion Fe^{2+} dalam keadaan *high spin* dan *low spin*.



[sumber : Rhicard, W.G., Scott,P.R. Energy Level in Atom and Moleculs]

- (a) High spin
- (b) Low spin

Gambar 2.4 Kondisi spin orbital ion Fe^{2+}

2.3.2 Zat Besi Dalam Tubuh

Di dalam tubuh, zat besi tidak hanya dibutuhkan untuk pembentukan hemoglobin. Zat besi juga merupakan elemen esensial yang dibutuhkan yang terdapat dalam molekul mioglobin, *cytochrome*, oksidase, peroksidase, dan katalase.¹⁸ Kandungan zat besi dalam tubuh terdapat dalam jumlah yang sangat kecil, yaitu sekitar 35 mg/bb pada wanita dan 50mg/bb pada pria.¹⁹ Kadar zat besi total dalam tubuh sekitar 4 – 5 gram, dengan 65% zat besi di dalam tubuh berasal dari hemoglobin.¹⁸

2.4 Hemoglobin

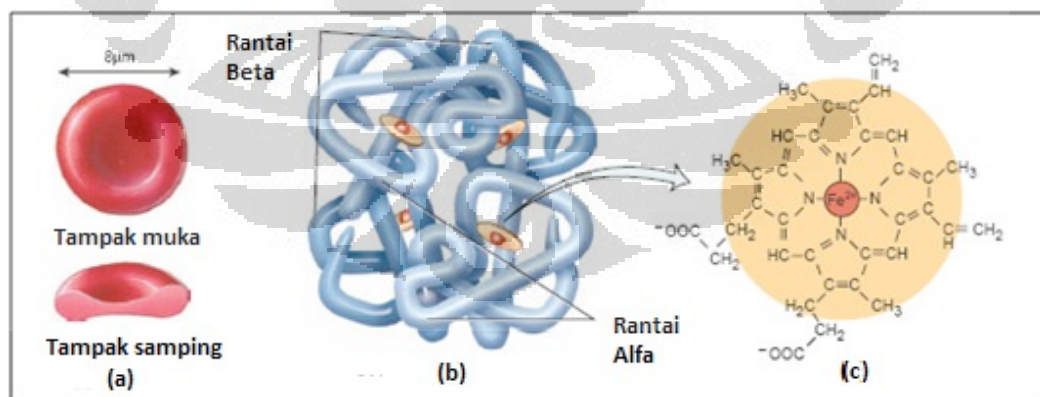
2.4.1 Definisi Hemoglobin

Hemoglobin berfungsi mengangkut O_2 dari paru-paru menuju sel-sel pada jaringan di dalam tubuh.⁵ Molekul ini merupakan suatu molekul protein yang terdiri dari empat rantai globin yang mengikat oksigen melalui gugus hemyanya yang mengandung besi sebagai *Fe(II)-porphyrin*.⁷ Hemoglobin merupakan salah satu contoh protein globuler dengan struktur kuaterner²⁰ dan memiliki berat molekul 64.450 dalton.²¹

Pada molekul hemoglobin, oksigen dapat berikatan dengan zat besi pada kondisi tekanan parsial yang tinggi. Agar dapat berikatan dengan zat besi yang terkonjugasi dengan hemoglobin, oksigen memberikan *lone pair*-nya pada ion Fe^{2+} yang berada dalam keadaan *low spin*.²²

2.4.2 Struktur Hemoglobin

Suatu molekul hemoglobin terdiri dari protein globuler, yang tersusun dari empat rantai polipeptida (dua buah rantai alfa dan rantai beta). Setiap rantai polipeptida ini memiliki suatu komponen nonpolipeptida yang disebut sebagai gugus heme.²⁰ Pada tengah gugus heme ini terdapat sebuah ion besi (Fe^{2+}) yang dapat mengikat satu molekul oksigen (gambar 2.5).²³



- Penampang sel darah merah
- Rantai hemoglobin
- Ion besi yang berikatan dengan gugus heme

[Sumber : Tortora,G.J., Derrickson, Bryan. Prinsiples of Anatomy and Physiology. p.696.]

Gambar 2.5. Struktur hemoglobin

2.4.3 Reaksi Hemoglobin dalam Tubuh

Suatu atom besi aktif, ferro (Fe^{2+}), yang terkonjugasi dalam gugus heme dapat berubah menjadi atom besi inaktif atau ferri (Fe^{3+}). Hal tersebut dapat terjadi apabila darah terkontaminasi oleh obat-obatan maupun faktor-faktor pengoksidasi lainnya.²⁴

Agar dapat berikatan dengan oksigen, atom besi yang terkandung dalam molekul hemoglobin harus berada dalam bentuk aktif, ferro (Fe^{2+}), sehingga terbentuk ikatan $\text{Hb}(\text{Fe}^{2+})$. Reaksi pengikatan dan pelepasan oksigen oleh hemoglobin dapat dituliskan²⁵ :



Dalam darah, daya ikat antara hemoglobin dan O_2 dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain pH, temperatur, dan konsentrasi dari *2,3-bisphosphoglycerate* (2,3-BPG) pada sel darah merah.²⁴

Total molekul oksigen yang dapat diikat oleh masing-masing molekul hemoglobin adalah empat molekul oksigen (terdiri atas delapan atom oksigen). Hal tersebut terjadi karena masing-masing molekul hemoglobin memiliki empat rantai globin, sehingga dengan empat rantai globin yang terdapat dalam sebuah molekul hemoglobin. Dengan demikian, setiap molekul dapat mentransportasikan empat molekul oksigen sekaligus.²⁶

2.4.4 Fungsi Hemoglobin

Molekul hemoglobin yang mengikat Fe^{2+} pada gugus hemyanya berfungsi mengikat oksigen. Oksigen tersebut dibawa dari paru-paru untuk selanjutnya disebarkan melalui aliran darah dan dilanjutkan ke dalam sel.²³ Di dalam tubuh, 23% total karbon dioksida yang dapat diangkut oleh hemoglobin yang merupakan sisa dari produksi metabolisme.²³ Apabila hemoglobin berikatan dengan karbon monoksida, akan terbentuk *carbon monoxyhemoglobin* (*carboxyhemoglobin*). Ikatan tersebut akan mempengaruhi ikatan hemoglobin dengan oksigen dalam darah.²⁴

2.5 Analisis Spektroskopi

Spektroskopi merupakan suatu ilmu yang mempelajari interaksi antara gelombang elektromagnetik dengan benda. Gelombang elektromagnetik yang mempengaruhi dapat berupa cahaya tampak, radiasi panas, sinar X, sinar UV, gelombang mikro dan gelombang radio.²⁷

Prinsip dasar spektroskopi adalah interaksi radiasi elektromagnetik dengan suatu materi. Suatu spesimen kimia dapat dianalisis dengan menggunakan spektrum radiasi elektromagnetik dengan cara mengetahui interaksi yang terjadi antara keduanya.²⁸ Pada tabel 2.1 memperlihatkan daerah spektrum elektromagnetik yang biasa digunakan untuk pengukuran spektroskopi.

Tabel 2.1 Daerah spektrum Elektromagnetik

Spektrum	Sinar λ	Sinar X	Cahaya tampak dan ultraviolet	Infra merah	Gelombang mikro	Gelombang radio
Sumber radiasi	Transisi inti atom	Transisi elektron dalam	Transisi Elektron valensi	Getaran molekul	Rotasi molekul	<i>Nuclear Precession</i>
λ (cm)	$<10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-9}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-3}$	0,3 - 30	$3 \cdot 10^3$
Tipe Interaksi*	A,E	A,E,F	A,E,F	A	A	A
Fase sampel**	S	S, L	L, G	L, G	G	L
Satuan zat***	At	At	At, Mol, Ion	Mol	Mol	Mol

*A = Absorpsi, E = Emisi, F = Fluorescence

**S = Solid, L = Liquid, G = Gas

***At = Atomic, Mol = Molekuler, Ion = Ionik

[Sumber : Tyson, J.F. Atomic Absorption Spectrometry. p.1-3.]

Interaksi radiasi elektromagnetik yang terjadi tersusun atas suatu energi diskrit yang disebut foton. Radiasi elektromagnetik tersebut memiliki karakter seperti gelombang yang bersifat kontinu.²⁹ Hubungan antara energi diskrit dari foton dan sifat gelombang yang dimiliki suatu radiasi elektromagnetik dijelaskan dalam persamaan energi radiasi elektromagnetik :

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad (2.1)$$

Dengan :

E = Energi (*joule*)

ν = Frekuensi (Hertz)

h = Konstanta Planck $6,63 \cdot 10^{-34}$ J s

c = Kecepatan cahaya dalam ruang vakum $3 \cdot 10^8$ m/s

λ = Panjang gelombang (m)²⁹

Hukum dasar perhitungan dengan menggunakan spektroskopi yaitu, apabila jika suatu berkas sumber sinar melewati suatu medium homogen, sebagian dari cahaya datang (P_0) diabsorpsi sebanyak (P_a). Sinar yang tidak diserap sebagian dapat dipantulkan (P_r) dan sisanya ditransmisikan (P_t). Pada spektroskopi berlaku hukum Lambert Beer³⁰, yaitu :

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot c \cdot b} \quad (2.2)$$

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot b \quad (2.3)$$

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot b \quad (2.4)$$

$$\epsilon \cdot c \cdot b = \log \frac{I_0}{I} \quad (2.5)$$

$$\epsilon \cdot c = \frac{\log \frac{I_0}{I}}{b} \quad (2.6)$$

Dengan :

T = Transmisi

a = tetapan absorbansi (1/mol cm)

b = jarak tempuh optik (cm)

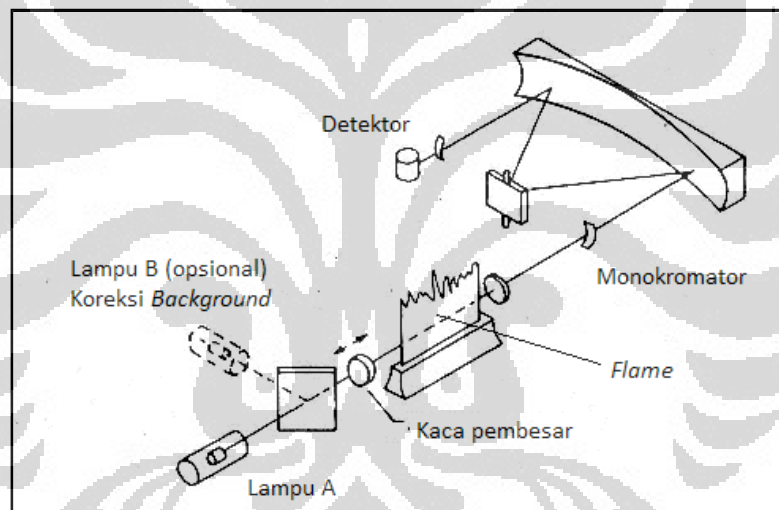
c = konsentrasi (mol/L atau mol/dm³)

A = Absorbansi

2.6 Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)

2.6.1 Prinsip Dasar AAS

Prinsip kerja AAS adalah absorpsi cahaya oleh atom yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu.³¹ Spektroskopi serapan atom bekerja berdasarkan penguraian molekul menjadi atom (atomisasi) menggunakan pemanfaatan energi api atau listrik.³² Energi tersebut mengubah sampel yang berupa *aerosol* menjadi atom-atom yang dapat menyerap energi cahaya dari sumber lampu yang ada.³² Saat terurai dalam bentuk atom-atom, sebagian atom akan tetap berada pada posisi *ground state* dan sebagian lainnya akan tereksitasi. Atom yang tereksitasi akan memancarkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu saat kembali ke *ground state*.²⁷



[Sumber: Haswell, S.J. Atomic Absorption Spectrometry. p.22]

Gambar 2.6. Penampang AAS

2.6.2 Komponen Spektroskopi Serapan Atom :

a. Unit Atomisasi

Teknik atomisasi pada AAS dilakukan dengan menggunakan *flame*.³¹

b. Sumber Radiasi

Sumber radiasi yang digunakan adalah suatu sumber sinar dengan garis absorpsi yang monokromatis³¹

c. Sistem Pengukur Fotometrik

Pada sistem pengukur fotometrik ini, digunakan suatu sistem elektronik (*chopper motor*) yang dapat mengatur perbandingan kedua radiasi yang melewati sampel.³¹ Penampang sederhana AAS ditunjukkan pada Gambar 2.6.

2.6.3 Gangguan Pada AAS

Gangguan yang sering dialami pada pengukuran menggunakan AAS secara garis besar dibagi menjadi 2 :

a. Gangguan Spektrum

Gangguan spektrum yang terjadi pada AAS disebabkan karena absorpsi antara panjang gelombang dari unsur yang diukur dan panjang gelombang dari unsur pengganggu saling berhimpitan.³¹

b. Gangguan Kimia

Gangguan kimia disebabkan karena adanya reaksi kimia selama proses atomisasi berlangsung, sehingga terjadi perubahan sifat-sifat absorpsi.³¹

2.7 Spektrofotometer *UV-Vis*

2.7.1 Prinsip Dasar *UV-Vis*

Spektrum yang digunakan dalam pengukuran *UV-Vis* merupakan hasil interaksi dari gelombang elektromagnetik dengan molekul. Pengukuran energi pada spektrofotometer terjadi apabila energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang.³¹

Proses absorpsi pada spektrofotometer *UV-Vis* melalui dua tahapan. Tahapan pertama yaitu eksitasi suatu atom dari materi yang terjadi akibat absorpsi foton ($h\nu$). Pada tahap kedua, atom yang tereksitasi mengalami relaksasi dan perubahan akibat reaksi fotokimia.³¹ Selain itu, proses absorpsi yang terjadi menyebabkan eksitasi elektron ikatan dan berfungsi untuk mengkaraktirasi gugus fungsi yang terdapat dalam materi yang diuji.³¹ Pada spektrofotometer,

puncak absorpsi λ_{max} , dapat menggambarkan jenis ikatan yang ada dalam sampel uji.

2.7.2 Komponen *UV-Vis*

Suatu spektrofotometer *UV-Vis* terdiri dari :

a. Sumber Cahaya

Sumber yang digunakan adalah lampu wolfram yang memiliki energi radiasi yang bebas dan tidak bervariasi pada berbagai panjang gelombang. Selain itu digunakan pula lampu deuterium sebagai sumber.³³

b. Monokromator

Monokromator merupakan suatu piranti optis yang berfungsi untuk mengisolasi berkas radiasi dari sumber yang kontinyu. Pada spektrofotometri, digunakan monokromator berupa prisma atau *grating* (kisi).³³

c. Sel Absorpsi

Sel absorpsi yang digunakan harus dapat meneruskan energi radiasi pada rentang spektrum yang akan diamati. Digunakan sel kuarsa untuk bahan pembuatan kuvet.³³

d. Detektor

Pada Spektrofotometer *UV-Vis* digunakan detektor *photomultiplier tube*.³³

Penampang sederhana dari *UV-Vis* akan ditunjukkan pada gambar 2.7.



[Sumber : Underwood, A.L. Day, R.A. Analisis Kimia Kuantitatif. P 407]

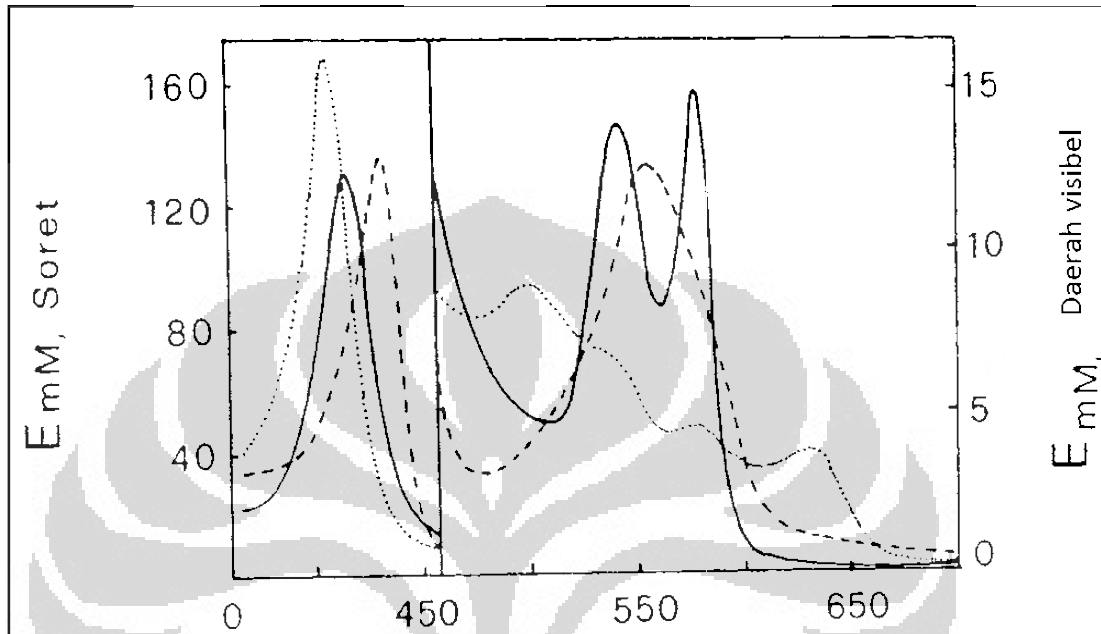
Gambar 2.7. Penampang sederhana UV Vis

2.7.3 Pengukuran Spektrum Darah dengan Menggunakan *UV-Vis*

Pengukuran spektrum darah dilakukan dengan menggunakan darah secara keseluruhan (*whole blood*). Untuk mengetahui komponen-komponen yang terdapat dalam darah, pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 250 nm hingga 700 nm.

Komponen darah yang dapat terlihat antara lain munculnya *peak* pada panjang gelombang 260 nm yang menunjukkan adanya DNA dan RNA dalam darah. Protein darah ditunjukkan oleh *peak* pada panjang gelombang 280 nm. *Peak* yang terbentuk pada panjang gelombang 340 dan 405 nm memperlihatkan bahwa di dalam darah terdapat enzim. *Porphyryns* dalam darah memiliki fungsi sebagai prekursor dalam produksi hemoglobin. Pada pengukuran dengan menggunakan *UV-Vis*, adanya komponen *porphyryns* dalam darah ditunjukkan

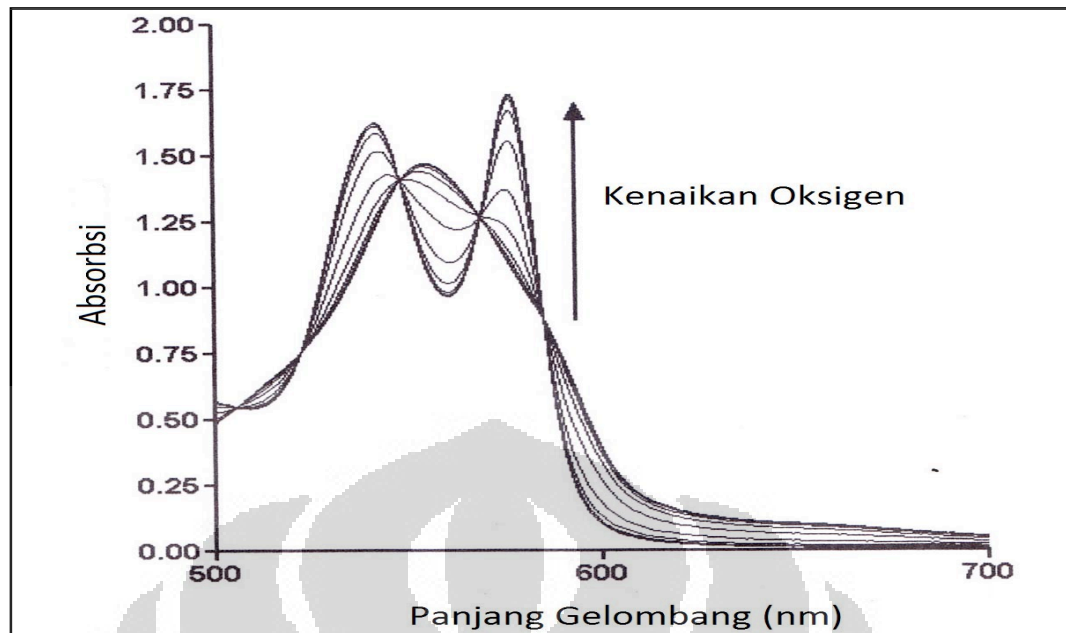
dengan *peak* pada panjang gelombang 400-410 nm.³⁴ Apabila darah memiliki ikatan antara oksigen dengan hemoglobin (oksihemoglobin), maka pada spektrum *UV-Vis* akan muncul 2 buah *peak* pada panjang gelombang 540 dan 575 nm.³⁵



[Sumber : Meyers, A.R. Molecular Biology and Biotechnology.p 404]

Gambar 2.8. Spektrum absorpsi darah

Gambar 2.8 memberikan gambaran spektrum komponen darah. Kurva dengan garis putus-putus menggambarkan adanya ikatan deoksihemoglobin pada darah. Ikatan oksihemoglobin ditunjukkan dengan kurva menggunakan garis yang solid. Kurva dengan garis titik-titik menunjukkan adanya ikatan methemoglobin.³⁶ Untuk kurva deoksihemoglobin *peak* muncul pada panjang gelombang ~550 nm.³⁵



[Sumber : <http://www.bochem.arizona.edu>]

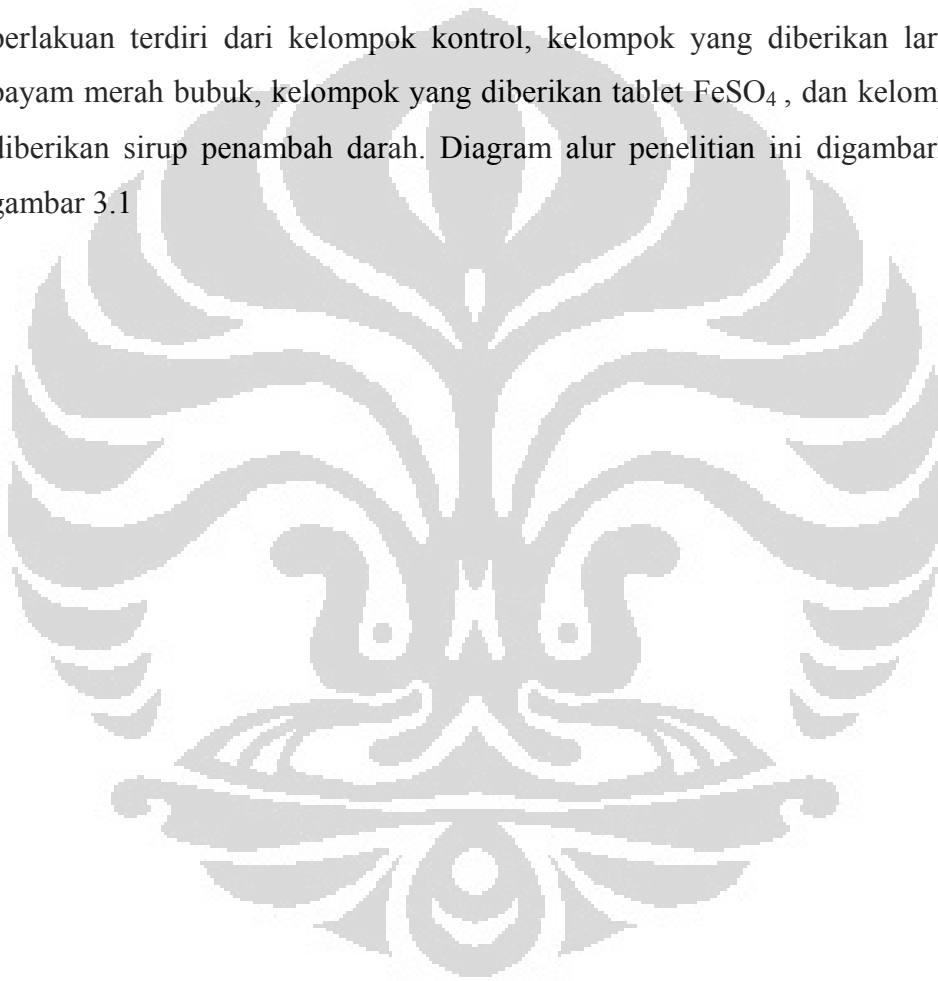
Gambar 2.9 Spektum Peningkatan Kadar Oksihemoglobin

Melalui pengukuran spektrum darah, peningkatan kadar oksigen dalam darah dapat diketahui. Peningkatan kadar oksigen ditunjukkan dengan meningkatnya absorbansi serapan pada spektrum (Gambar 2.9). Perbedaan spektrum maksimum antara oksihemoglobin dan deoksihemoglobin terlihat pada panjang gelombang sekitar 576 nm. Ketika kadar O_2 dalam darah meningkat dan berikatan dengan hemoglobin membentuk oksihemoglobin, maka pada panjang gelombang 576 nm akan mengalami peningkatan absorpsi.³⁵

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan tiga perlakuan dan enam kali ulangan pada masing-masing kelompok. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok kontrol, kelompok yang diberikan larutan dari bayam merah bubuk, kelompok yang diberikan tablet FeSO_4 , dan kelompok yang diberikan sirup penambah darah. Diagram alur penelitian ini digambarkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1. Diagram alur pelaksanaan penelitian

3.2 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di beberapa laboratorium antara lain :

- a. Laboratorium Farmako Kedokteran , Fakultas Kedokteran , Universitas Indonesia
- b. Laboratorium Biomedik Kedokteran , Fakultas Kedokteran , Universitas Indonesia
- c. Laboratorium AAS (*Atomic Absorption Spektometry*) , Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam FMIPA Universitas Indonesia
- d. Laboratorium Kimia Industri , Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam FMIPA Universitas Indonesia
- e. Laboratorium *UV-Vis* , Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam FMIPA Universitas Indonesia
- f. Laboratorium Klinik Pramita , Jalan Matraman Raya, Jakarta Pusat.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain

- a. *Atomic Absorption Spectrometry (SpectraAA-30, varian)*,
- b. Spektrofotometer *UV-Vis Single Beam*
- c. Spektrofotometer *UV – Vis Double Beam (UV-2450)*
- d. Lemari asam
- e. Kandang perawatan mencit
- f. Penangas
- g. Timbangan analitik
- h. Labu ukur 100 mL
- i. *Erlenmeyer* 100 mL
- j. Gelas *beaker* 200 mL
- k. Corong
- l. Batang pengaduk
- m. Termometer

- n. Pipet
- o. Mikro pipet (100 μL dan 1000 μL)
- p. *Test tube*
- q. *Syringe* (1 mL)
- r. Kertas timbang
- s. Kertas saring *whatman* (nomor 41, \approx 110 nm)
- t. Spatula
- u. Termometer
- v. Mortar dan alu
- w. Kuvet (3 mL)

3.3.2 Bahan

a. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih *Mus musculus* galur BALB/c jenis kelamin jantan dengan usia 3 bulan sebanyak 24 ekor.

b. Sampel Uji

Pada penelitian ini digunakan 3 sampel uji, yaitu :

1. Bayam Merah (*Amaranthus gangeticus*) bubuk, yang sudah diidentifikasi di LIPI, Pusat Penelitian Biologi
2. Tablet FeSO_4
3. Sirup penambah darah yang terdiri dari *iron polymalrose complex* dan asam folat

c. Reagen dan Pelarut

1. *Aquadest*
2. *Aquabidest*
3. HNO_3 1%
4. Larutan standar besi 1000 ppm ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ dalam HNO_3 0,5 mol/L)
5. EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic Acid*)

6. Hemoglobin kit yang terdiri dari reagen pelarut darah dengan komposisi:
- i. *Potassium Ferricyanide* 0,061 mmol/L
 - ii. *Potassium Cyanide* 0,77 mmol/L
 - iii. *Potassium Phosphate,* 1,03 mmol/L
 - iv. *Surfactant* 0,1% v/v

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Penyiapan Hewan Uji

Mencit diaklimatisasi selama satu minggu dengan diberi makanan dan minuman standar dengan jumlah sama setiap hari. Pada tahap ini, dilakukan pengamatan terhadap kondisi kesehatan dan berat badan mencit.

Setelah diaklimatisasi, hewan uji dibagi berdasarkan rancangan acak kelompok. Mencit dibagi menjadi 3 kelompok yaitu:

- a. Kelompok I : Kelompok mencit yang merupakan kontrol. Kelompok ini tidak diberikan perlakuan apapun, kecuali makan dan minum standar.
- b. Kelompok II : Kelompok mencit yang diberikan larutan bayam merah bubuk secara oral 1X sehari dengan dosis besi antara 50 – 60 μg .
- c. Kelompok III: Kelompok mencit yang diberikan larutan tablet FeSO_4 secara oral 1X sehari dengan dosis besi antara 50 – 60 μg .
- d. Kelompok IV: Kelompok mencit yang diberikan larutan sirup penambah darah yang terdiri dari *Iron Polymaltose complex* dan asam folat secara oral 1X sehari dengan dosis besi antara 50 – 60 μg

Jumlah ulangan tiap kelompok dihitung menurut rumus Federer³⁸:

$$\frac{(n \square 1) \times (t \square 1)}{15} \geq \quad (3.1)$$

Dengan :

n = jumlah ulangan

t = jumlah perlakuan

Dalam penelitian ini terdapat 4 kelompok hewan uji, maka dengan menggunakan rumus Federer didapatkan perhitungan jumlah ulangan tiap kelompok sebagai berikut :

$$(n - 1) \times (4 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \geq \frac{15}{3}$$

$$(n - 1) \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Dari perhitungan tersebut diperoleh jumlah minimum ulangan untuk setiap kelompok adalah 6.

3.4.2 Pengukuran Kadar Besi Total dalam Sampel Uji dan Darah Hewan Uji

Pada pengukuran kadar besitotal digunakan *Atomic Absorbtion Spectroscopy* (*SpectraAA-30*, keluaran varian) . Pemakaian AAS untuk pengukuran kadar besi menggunakan nyala dari *air-acetylene*, selain itu panjang gelombang yang digunakan adalah 248,3 nm untuk konsentrasi besi dari 0,5 hingga 10 ppm.

3.4.2.1 Preparasi larutan standar

Dibuat larutan standar Fe dengan mengencerkan larutan Larutan standar besi 1000 ppm ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ dalam HNO_3 0,5 mol/L). Pengenceran dilakukan dengan menggunakan persamaan :

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2 \quad (3.2)$$

Dengan menggunakan menggunakan metode pengenceran tersebut, dibuat seri larutan 0,5ppm ; 1ppm ; 2,5 ppm ; 5ppm ; dan 10ppm. Selanjutnya dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dengan menggunakan seri larutan standar yang telah

disiapkan. Kurva kalibrasi yang terbentuk selanjutnya digunakan untuk perhitungan konsentrasi pada pengukuran sampel.

3.4.2.2 Preparasi Larutan Uji

a. Larutan Bayam Merah (*Amaranthus gangeticus*) Bubuk

Bayam merah bubuk didapatkan dari bayam merah segar yang melalui proses pengeringan. Bayam merah segar dicuci bersih terlebih dahulu, setelah itu di jemur pada suhu kamar hingga kadar air berkurang. Proses selanjutnya, untuk mempercepat proses pengeringan bayam dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50-60°C, selama kurang lebih 2-3 jam. Bayam yang sudah kering kemudian di hancurkan dengan menggunakan blender hingga menjadi bubuk.³⁹

Untuk mendapatkan larutan bayam merah bubuk dengan konsentrasi tertinggi dilakukan berbagai variasi perlakuan antara lain :

a.1 Bayam merah bubuk dicampur dengan aquabidest yang tidak dipanaskan kemudian disaring:

Sampel bayam merah bubuk ditimbang sebanyak ± 10 gram, kemudian dicampurkan dalam 35 mL *aquabidest*. Suspensi yang terbentuk antara bubuk dengan *aquabidest* diberikan perlakuan pengadukan selama 10 menit, didiamkan selama 5 menit, kembali diaduk selama 10 menit, dan terakhir didiamkan selama 5 menit (total waktu 30 menit). Setelah suspensi selesai diberikan perlakuan, suspensi kemudian diperas dengan menggunakan kain kasa. Sampel yang telah diperas kemudian disaring kembali dengan kertas saring *wathman* (nomor 41, \square 110nm) .

a.2 Bayam merah bubuk dicampur dengan aquabidest yang dipanaskan dengan suhu 60°C kemudian disaring :

Sampel bayam merah bubuk ditimbang sebanyak ± 10 gram, kemudian dicampurkan dalam 35 mL *aquabidest* yang sebelumnya telah dipanaskan hingga suhu 60°C . Suspensi yang terbentuk antara bubuk dengan *aquabidest* diberikan perlakuan sama seperti sampel a.1. Setelah suspensi selesai diberikan perlakuan, suspensi yang terbentuk kemudian diperas dengan menggunakan kain kasa. Hasil

perasan kemudian disaring kembali dengan kertas saring *wathman* (nomor 41, \square 110nm).

a.3 Bayam merah bubuk dicampur dengan *aquabidest* yang dipanaskan dengan suhu 60°C dan tidak disaring :

Sampel bayam merah bubuk ditimbang sebanyak ± 10 gram, kemudian dicampurkan dalam 35 mL *aquabidest* yang sebelumnya telah dipanaskan hingga suhu 60°C . Suspensi yang terbentuk antara bubuk dengan *aquabidest* diberikan perlakuan pengadukan selama 10 menit, didiamkan selama 5 menit, kembali diaduk selama 10 menit, dan terakhir didiamkan selama 5 menit (total waktu 30 menit). Setelah suspensi selesai diberikan perlakuan, suspensi kemudian diperas dengan menggunakan kain kasa. Hasil perasan tersebut kemudian diukur kadar besinya dengan menggunakan AAS.

b. Larutan Tablet FeSO_4

Tablet FeSO_4 dihaluskan dengan menggunakan mortar dan alu. Sampel yang telah halus ditimbang sebanyak ± 1 gram, kemudian dicampurkan ke dalam 20mL *aquabidest* hingga larut. Hasil yang terbentuk kemudian diukur kadar besi dalam larutan dengan menggunakan AAS.

c. Sirup penambah darah yang terdiri dari *Iron Polymaltose complex* dan asam folat

Sampel diencerkan dengan menggunakan *aquabidest*. Sampel yang telah diencerkan diukur kandungan besi dengan menggunakan AAS.

3.4.2.3 Pengukuran Kadar Fe dalam darah

Sampel darah sebelum dan setelah perlakuan diambil 5 μL , kemudian diencerkan dalam 0,5mL HNO_3 1%. Campuran antara darah dengan HNO_3 1% yang terbentuk diukur kadar besi yang terkandung dalam darah dengan menggunakan AAS.

3.4.3 Pengukuran Kadar Hemoglobin

a. Sebelum Perlakuan (*pretest*)

Darah diambil dari ekor mencit sekitar 2-4 tetes, kemudian ditampung dalam *test tube* yang terlebih dahulu telah diberikan EDTA. Pengukuran hemoglobin darah mencit menggunakan spektrofotometer *visible* pada panjang gelombang 540 nm. Sampel darah sebanyak 20 μ L diencerkan dalam reagen sebanyak 5 mL.⁴⁰ Campuran tersebut kemudian diperiksa dengan spektrofotometer *Visible* pada panjang gelombang 540 nm. Pembacaan dengan menggunakan spektrofotometer dilakukan tiga menit setelah pengenceran berlangsung.

b. Setelah Perlakuan (*posttest*)

Darah dari mencit diambil melalui jantung (*cardiac puncture*) menggunakan *syringe* 1mL yang sebelumnya telah diberikan EDTA. Selanjutnya, darah yang telah diambil ditempatkan pada tabung (*test tube*) yang telah berisi EDTA. Pada tahap ini dilakukan pemeriksaan darah lengkap di Laboratorium Klinik Pramita.

3.4.4 Pemberian Sampel Uji

Sampel uji diberikan secara oral kepada kelompok II s.d III. Masing-masing kelompok mendapatkan dosis 50 – 60 μ g Fe per hari. Perhitungan jumlah dosis didapatkan dari pengukuran kadar zat besi dalam sampel uji dengan menggunakan AAS. Dosis yang diberikan pada hewan uji berdasarkan berat badan mencit (sekitar 20 gram).

3.4.5 Pemeriksaan Spektrum Darah

Pemeriksaan darah dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 250 – 700 nm. Darah yang digunakan untuk pengukuran spektrum *UV-Vis* adalah keseluruhan darah (*whole blood*), sehingga dengan pemeriksaan spektrum darah ini dapat diketahui komponen-komponen yang terkandung dalam darah.

Pada pengukuran pengukuran spektrum darah dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*, darah yang akan diperiksa diencerkan terlebih dahulu. Sebanyak 5 μL darah (whole blood) diambil dari sampel yang ada kemudian diencerkan dalam 3 mL *aquabidest* di dalam kuvet. Sebelum dilakukan pengukuran, dipastikan sisi kuvet berada dalam keadaan bersih agar tidak mempengaruhi hasil pengukuran.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

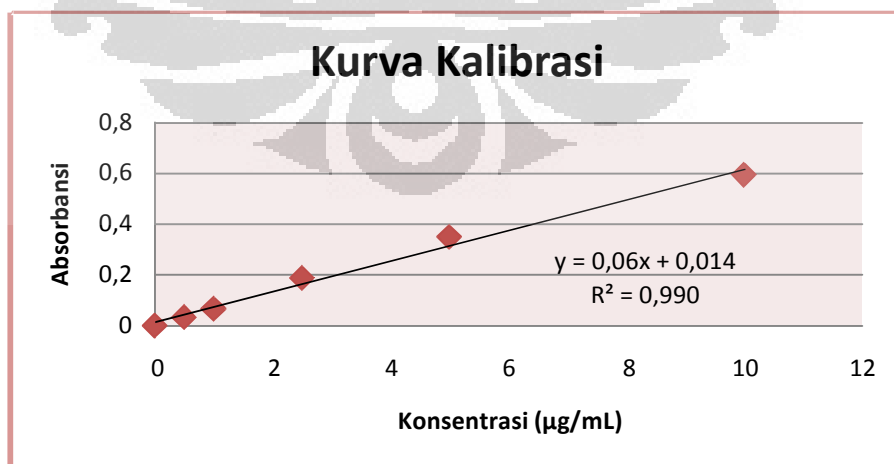
4.1 Pengukuran Kurva Kalibrasi

Dari seri larutan standar besi 0,5 ppm , 1 ppm , 2,5 ppm , 5 ppm ,dan 10 ppm dilakukan pengukuran dengan AAS dan didapatkan hasil absorbansi dari larutan standar besi terhadap konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Pengukuran larutan standar besi untuk kurva kalibrasi

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
1	0	0
2	0,5	0,033
3	1	0,066
4	2,5	0,187
5	5	0,349
6	10	0,594

Dari data pada tabel 4.1 selanjutnya di buat kurva kalibrasi (Gambar 4.1) konsentrasi standar besi terhadap absorbansi yang didapatkan dari pengukuran dengan menggunakan AAS:



Gambar 4.1 Grafik Kurva Kalibrasi

4.2 Pengukuran Kadar Zat Besi pada Sampel

Tiga macam sampel yang terdiri atas bubuk bayam merah, tablet FeSO_4 , serta sirup penambah darah yang terdiri atas *Iron Polymaltose complex* dan asam folat. Sampel uji tersebut diukur kadar kandungan besi total dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS). Dari hasil pengukuran didapatkan konsentrasi zat besi total yang ada pada masing masing sampel yang ditunjukkan pada Tabel 4.2:

Tabel 4.2. Kadar besi total pada sampel

Sampel	Ulangan	Konsentrasi Larutan ($\mu\text{g/mL}$)	Konsentrasi Rata-rata ($\mu\text{g/mL}$)
Bayam Merah Bubuk	1	75,17	$72,7 \pm 3,60$
	2	74,33	
	3	74,00	
	4	73,67	
	5	66,33	
FeSO_4	1	14000	14500 ± 288
	2	14667	
	3	14667	
	4	14667	
	5	14500	
Sirup penambah darah yang terdiri dari <i>Iron Polymaltose complex</i> dan asam folat	1	10667	$10583,33 \pm 166$
	2	10500	
	3	10667	
	4	10333	
	5	10750	

Untuk dapat diberikan pada hewan uji, dilakukan preparasi sampel dengan menggunakan aquabidest. Pada tahap preparasi sampel ini, dilakukan berbagai perlakuan untuk sampel bayam merah (*Amaranthus gangeticus*). Hal tersebut dilakukan untuk mendapatkan kadar besi yang paling tinggi pada sampel bayam.

Hasil pengukuran kadar besi pada sampel bayam dengan berbagai perlakuan yang diberikan tertera pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Kadar besi total pada sampel bayam merah

Sampel	Ulangan	Konsentrasi (µg/mL)	Konsentrasi rata-rata
Bayam merah bubuk + aquabidest tidak dipanaskan	1	5,51	5,57 ± 0,09
	2	5,53	
	3	5,67	
Bayam merah bubuk + aquabidest 60°C, disaring	1	9,39	9,38 ± 1,20
	2	8,18	
	3	10,58	
Bayam merah bubuk + aquabidest 60°C, tidak disaring	1	71,47	73,28 ± 1,61
	2	73,82	
	3	74,56	

Dari hasil yang didapatkan, diketahui bahwa bayam merah yang dilarutkan dengan aquabidest yang telah dipanaskan hingga 60°C mengandung zat besi dua kali lipat dibandingkan dengan bayam merah yang dilarutkan hanya dengan aquabidest yang tidak dipanaskan. Kadar zat besi yang lebih tinggi yang terdapat pada bayam merah bubuk yang diberikan aquabidest yang telah dipanaskan hingga 60°C, karena salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kelarutan suatu zat adalah faktor temperatur.⁴¹ Kenaikan temperatur suatu zat pelarut mengakibatkan terjadinya penguraian derajat kelarutan suatu mineral dalam bahan,⁴¹ sehingga kelarutan zat besi pada bayam merah bubuk yang dilarutkan pada aquabidest yang dipanaskan akan lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak dipanaskan.

Pada bayam merah bubuk yang dilarutkan dalam aquabidest yang telah dipanaskan 60°C dan tidak disaring memiliki kadar zat besi paling tinggi. Hal tersebut disebabkan masih adanya serpihan daun yang terdapat pada sampel yang

tidak disaring. Kadar besi pada daun tersebut yang menyebabkan tingginya kadar zat besi pada sampel yang diukur.

4.3 Pengukuran Kadar Zat Besi dan Hemoglobin dalam Darah

Pengukuran hemoglobin pada sampel uji dilakukan pada saat sebelum dan setelah pemberian perlakuan. Perhitungan konsentrasi hemoglobin dalam darah dapat dihitung dengan persamaan⁴⁰ :

$$K = \frac{22,82 \times Abs}{\text{...}} \quad (4.1)$$

$$K = \frac{36,77 \times Abs}{\text{...}} \quad (4.2)$$

Dengan :

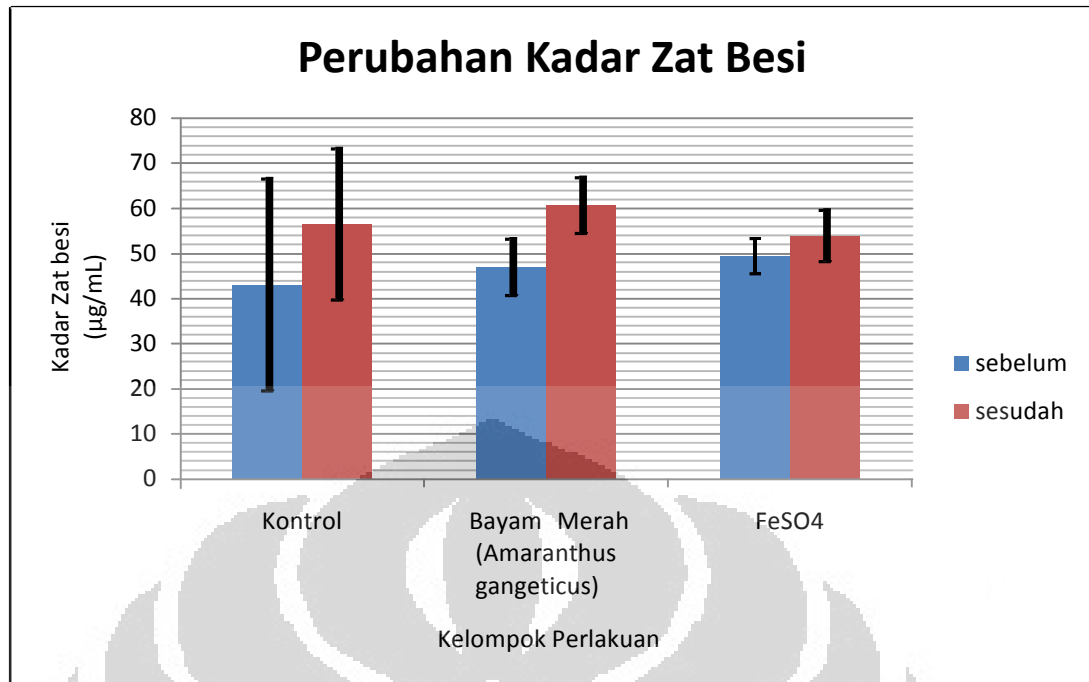
K = Konsentrasi hemoglobin dalam darah (mmol/L atau g/dL)

Abs = Absorpsi yang terbaca pada spektrofotometer

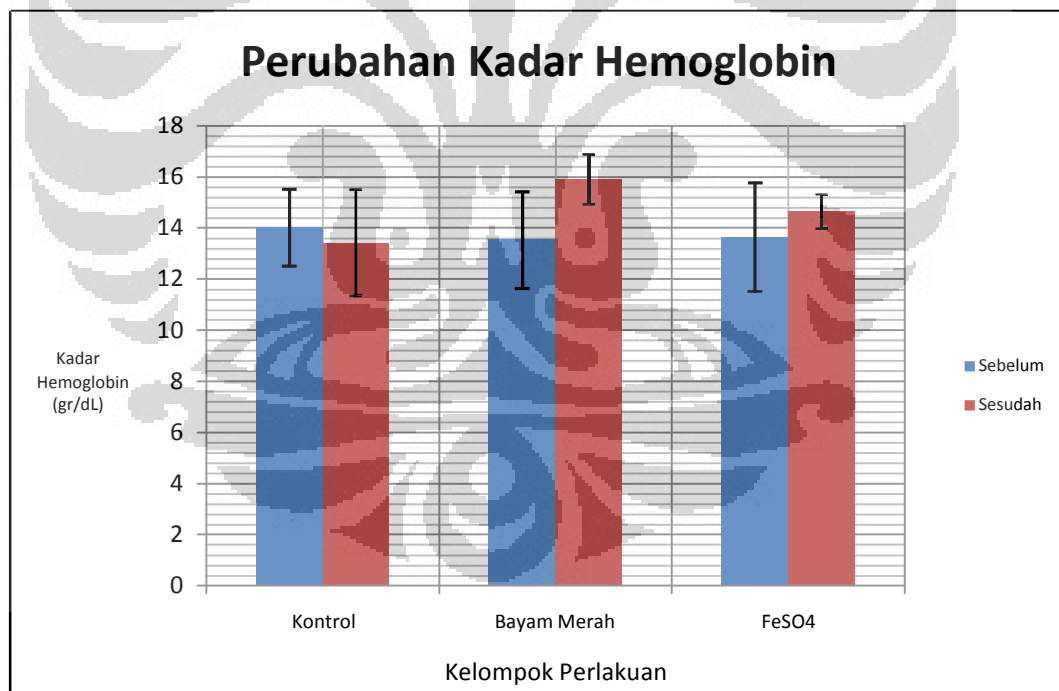
Selain dilakukan pengukuran terhadap kadar hemoglobin dalam darah, dilakukan pula pengukuran terhadap kadar besi dalam darah sebelum dan setelah perlakuan. Tabel 4.4 menunjukkan rata-rata pengukuran zat besi dan hemoglobin dalam darah sebelum dan setelah perlakuan beserta persentasenya.

Tabel 4.4. Data pengukuran zat besi dan hemoglobin :

Kelompok	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan		Persentase Perubahan (%)	
	Zat Besi (µg/mL)	Hemoglobin (g/dL)	Zat Besi (µg/mL)	Hemoglobin (g/dL)	Zat Besi	Hemoglobin
Kontrol	42,32 ± 20,96	14,02 ± 1,50	46,32 ± 22,10	13,42 ± 2,07	9,43	-4,28
Bayam Merah	46,84 ± 6,27	13,53 ± 1,89	60,58 ± 6,16	15,90 ± 0,98	29,32	17,42
FeSO ₄	49,38 ± 3,91	13,64 ± 2,13	53,79 ± 5,66	14,63 ± 0,67	8,94	7,28



(a)



(b)

- (a) Diagram batang kadar zat besi
 (b) Diagram batang kadar hemoglobin

Gambar 4.2 Diagram Kadar Zat Besi dan Hemoglobin

Gambar 4.2 memperlihatkan diagram batang dari perubahan kadar zat besi dan hemoglobin sebelum dan setelah perlakuan. Pada kelompok bayam merah dan FeSO₄ mengalami kenaikan zat besi dan hemoglobin darah setelah diberikan perlakuan.

Dari 24 sampel yang ada, hanya 11 sampel yang dapat diukur kadar hemoglobinnnya dan terdapat satu satu kelompok yang tidak dapat dibandingkan, yaitu kelompok yang diberikan sirup penambah darah yang terdiri dari *iron polymaltose complex* dan asam folat. 13 sampel yang tidak dapat dibandingkan disebabkan sampel darah kelompok tersebut mengalami penggumpalan.

Penggumpalan darah dapat terjadi antara lain sewaktu pengambilan darah melukai pembuluh darah menciit. Darah yang keluar dari pembuluh darah dapat dengan mudah menggumpal karena perbedaan temperatur saat darah masih berada di dalam tubuh dan saat sudah dikeluarkan dari pembuluh.²²

Tabel 4.4 dan Gambar 4.2 menjelaskan bahwa kelompok yang diberikan larutan bayam merah bubuk mengalami peningkatan kadar zat besi dalam darah sebesar 29,32% dan kelompok yang diberikan tablet FeSO₄ sebesar 8,94%. Naiknya kadar zat besi diikuti dengan kenaikan kadar hemoglobin dalam darah. Hemoglobin pada kelompok dengan perlakuan bayam merah mengalami peningkatan sebesar 17,42% setelah perlakuan dan kelompok yang diberikan tablet FeSO₄ mengalami peningkatan kadar hemoglobin sebesar 7,28%.

Kelompok dengan perlakuan dengan larutan bayam merah bubuk mengalami peningkatan hemoglobin lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberikan tablet FeSO₄. Hal tersebut kemungkinan disebabkan tanaman bayam merah (*Amaranthus gangeticus*) selain memiliki kandungan zat besi yang cukup tinggi juga memiliki faktor-faktor tanaman yang berfungsi pada sintesa hemoglobin dalam tubuh.

Faktor-faktor tanaman pada bayam merah yang dapat membantu terjadinya induksi zat besi dalam tubuh sehingga mampu berikatan dengan gugus heme pada molekul hemoglobin antara lain vitamin C, vitamin B₆, folat, dan isoleusin.⁴² Kandungan vitamin C pada bayam membantu proses reduksi Fe³⁺ menjadi Fe²⁺ sehingga zat besi yang ada dalam tubuh mampu berikatan dengan oksigen. Vitamin B₆ dan folat berperan dalam pembentukan darah. Isoleusin merupakan

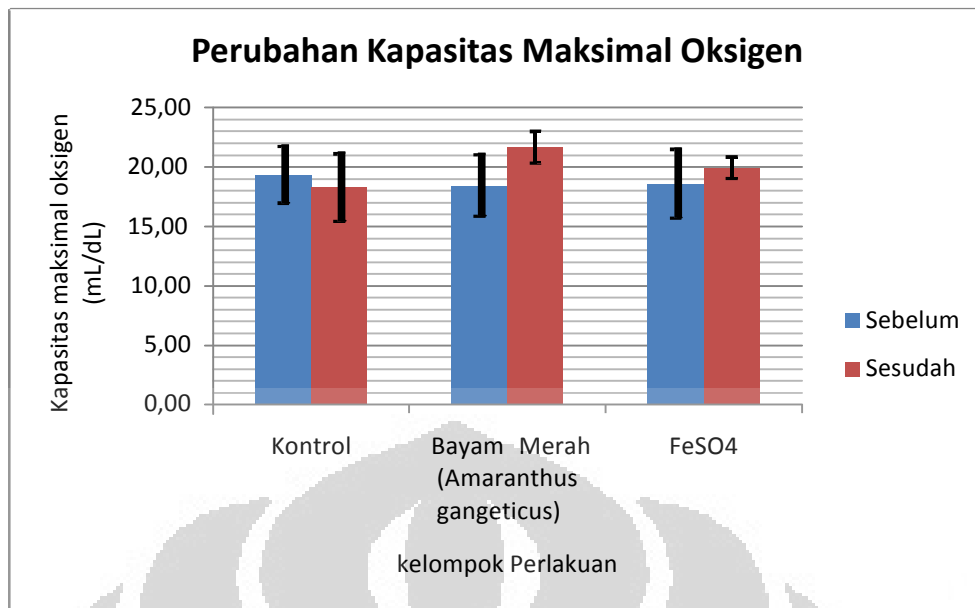
suatu asam amino esensial yang memiliki peran utama dalam pembentukan sel darah merah.⁴² Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa bayam merah memiliki efek sintesis hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan dengan tablet FeSO₄ sehingga kadar hemoglobin dalam darah pada sampel uji yang diberikan bayam merah lebih tinggi dibandingkan tablet FeSO₄.

Meningkatnya kadar hemoglobin dalam darah dapat menyebabkan peningkatan kapasitas oksigen dalam dalam darah. Meningkatnya kapasitas oksigen dalam darah dapat diketahui secara teoritis dengan menggunakan persamaan (1.1) dimana 1,36 mL oksigen terkandung dalam 1 gram hemoglobin.⁸ Dari persamaan (1.1) dapat diketahui berapa besar kapasitas maksimal oksigen yang terkandung dalam darah. Tabel 4.5 dan Gambar 4.3 memperlihatkan jumlah kapasitas maksimum oksigen pada masing-masing sampel sebelum dan setelah perlakuan.

Tabel 4.5 Kapasitas oksigen maksimal

Perlakuan	Kapasitas Oksigen Maksimal (mL/dL)		Perubahan Persentase (%)
	Sebelum	Sesudah	
Kontrol	19,31	18,22	-5,60
Bayam Merah (<i>Amaranthus gangeticus</i>)	18,40	21,62	17,49
FeSO ₄	18,55	19,90	7,26

Tabel 4.5 dan Gambar 4.3 menunjukkan bahwa kenaikan kadar oksigen dalam darah sejalan dengan kenaikan kadar hemoglobin dalam darah. Semakin banyak kadar hemoglobin dalam darah maka akan semakin banyak pula ikatan yang terbentuk antara hemoglobin dan oksigen membentuk suatu oksihemoglobin.

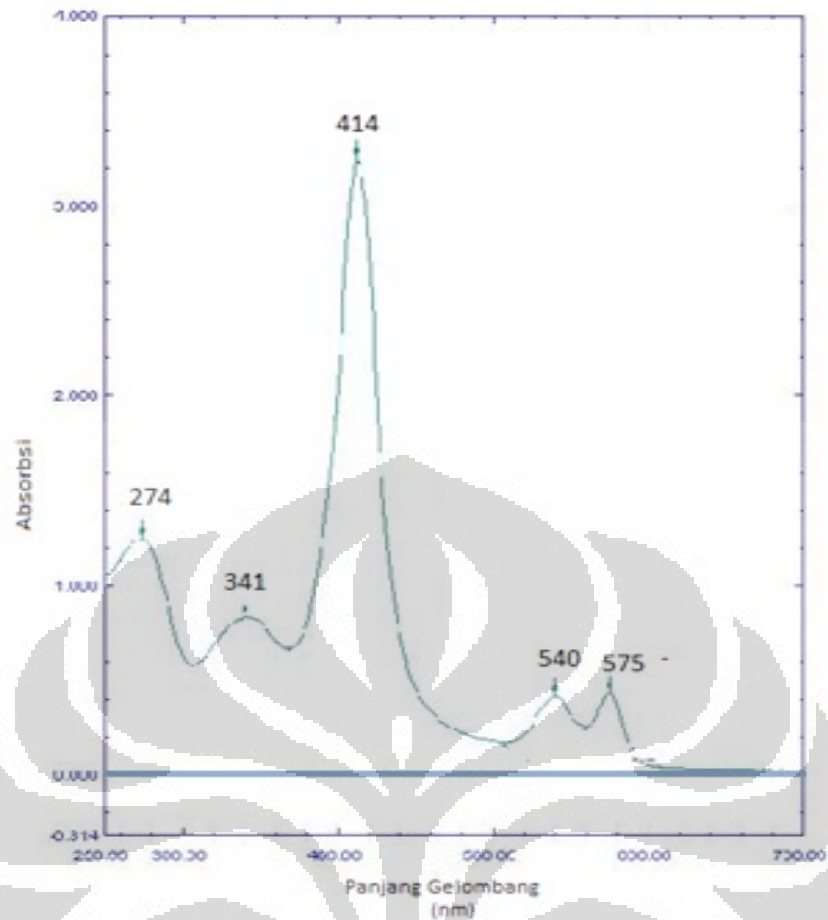


Gambar 4.3. Diagram Kapasitas Oksigen Maksimal

4.4 Pengukuran Spektrum Darah dengan *UV-Vis*

Pengukuran spektrum darah dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Rentang panjang gelombang yang digunakan dalam pengukuran ini antara 250 – 700 nm. Berikut merupakan gambar spektrum yang dihasilkan dari pengukuran dengan menggunakan *UV-Vis*

Gambar 4.4 merupakan salah satu hasil pengukuran spektrum darah (kelompok perlakuan dengan bayam merah) darah dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 250 – 700 nm. Spektrum darah keseluruhan sampel dapat dilihat pada Lampiran F. Dari spektrum yang didapatkan, diketahui bahwa setiap spektrum sampel memiliki *peak* absorpsi yang muncul pada panjang gelombang tertentu. Masing-masing *peak* yang muncul pada spektrum menunjukkan berbagai komponen kimia yang terdapat dalam darah. Tabel 4.6 menjelaskan *peak* absorpsi yang menunjukkan komponen darah yang muncul selama pengukuran.



Gambar 4.4. Spektrum Darah

Tabel 4.6. Peak Komponen Darah

Komponen Darah	Panjang Gelombang (nm)
Protein	274
Enzim	341
<i>Porphyryns</i>	414
Oksihemoglobin	540 dan 575

Komponen kimia dalam darah yang ditunjukkan oleh spektrum antara lain adanya protein, enzim, protein, *porphyryns*, dan oksihemoglobin. Protein dalam darah ditunjukkan dengan *peak* pada panjang gelombang 280 nm.³⁴ Pada sampel

yang diukur, *peak* yang menunjukkan protein bergeser pada panjang gelombang 268-272 nm. *Peak* dengan panjang gelombang ~ 400 nm menunjukkan adanya *porphyrins* dalam darah. *Porphyrins* memiliki fungsi sebagai prekursor dalam produksi hemoglobin.³⁴ *Peak* yang menunjukkan *porphyrins* pada pengukuran sampel ditunjukkan oleh panjang gelombang 407-415. Adanya enzim dalam darah dapat diketahui dengan munculnya *peak* 340 nm atau 405 nm.³⁴ Pada spektrum hasil pengukuran, adanya enzim dalam darah ditunjukkan oleh *peak* dengan panjang gelombang 340-347nm. Dari kelima *peak* yang sering muncul, pada penelitian ini terdapat dua *peak* yang menjadi perhatian yaitu *peak* pada panjang gelombang 540nm dan 575nm. Spektrum dengan panjang gelombang tersebut menunjukkan *peak* untuk oksihemoglobin.³⁵ Oksihemoglobin pada pengukuran sampel ditunjukkan oleh *peak* dengan panjang gelombang antara 539-541 nm dan 574-575nm.

Peak yang muncul pada pengukuran spektrum dengan menggunakan *UV-Vis* ini diakibatkan adanya kromofor dalam sampel yang diukur. Kromofor adalah gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak dan hampir semua kromofor memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.³⁵ Selain itu *peak* yang muncul pada spektrum hasil pengukuran dengan menggunakan *UV-Vis* karena pada sampel dengan ikatan rangkap terkonjugasi memiliki pasangan elektron pada level energi $\uparrow \downarrow \square \square \square \square \square \square \square \downarrow \uparrow$.³⁷

Pada spektrum hasil keluaran *UV-Vis*, yang ditunjukkan oleh gambar 4.4, *peak* pada panjang gelombang ~ 400 nm menunjukkan tingkat serapan yang sangat tinggi dibandingkan dengan *peak* yang lainnya. *Peak* yang dapat menyerap energi cahaya lebih tinggi dibandingkan dengan *peak* lainnya tersebut disebut dengan *sorret peak*. Tingginya nilai serapan yang dimiliki oleh *sorret peak* diakibatkan banyaknya ikatan rangkap terkonjugasi pada komponen yang ditunjukkan oleh panjang panjang gelombang pada *sorret peak*.⁴³ Hal ini sesuai dengan hasil pengukuran spektrum pada penelitian ini. *Peak* maksimum (*sorret peak*) yang didapatkan menunjukkan *porphyrins* yang memiliki banyak ikatan rangkap terkonjugasi.

Oksihemoglobin pada spektrum darah hasil pengukuran ditunjukkan dengan *peak* pada panjang gelombang 540 nm dan 575 nm. Pada *peak* tersebut dapat

diketahui bahwa dalam suatu ikatan oksihemoglobin yang terbentuk terdapat ion Fe^{2+} . Ion Fe^{2+} memiliki kulit orbital d yang tidak terisi penuh, yaitu hanya terdapat 6 elektron pada orbital d, akan berwarna hijau¹⁷ dengan panjang gelombang 500 nm s.d 560 nm⁴⁴ hingga warna kuning - hijau pada panjang gelombang 560 nm s.d. 580 nm.⁴⁴ Pada kedua rentang panjang gelombang tersebut, panjang gelombang yang menunjukkan adanya ikatan oksihemoglobin beririsan diantara rentang tersebut. Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa pada ikatan oksihemoglobin yang terbentuk terdapat ion Fe^{2+} .

Ion Fe^{2+} yang berikatan pada gugus heme dalam suatu molekul hemoglobin berfungsi untuk mengikat molekul oksigen sehingga terbentuk $\text{Hb}(\text{Fe}^{2+})\text{O}_2$.²⁵ Dalam keadaan deoksihemoglobin, ion Fe^{2+} yang berikatan dengan gugus heme berada dalam keadaan orbital dengan spin tinggi (*high spin*). Saat hemoglobin akan mengikat oksigen, ion Fe^{2+} akan mengubah kondisi spinnya dari keadaan *high spin* menjadi *low spin* sehingga hemoglobin dapat berikatan dengan oksigen membentuk oksihemoglobin.¹⁷

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian zat besi secara umum memberikan efek peningkatan kadar hemoglobin dalam darah.
2. Kelompok sampel yang diberikan bayam merah mengalami peningkatan hemoglobin sebesar 17,42%, sedangkan kelompok yang diberikan tablet FeSO₄ mengalami peningkatan sebesar 7,28%.
3. Secara umum, meningkatnya kadar hemoglobin dalam darah secara perhitungan teori diikuti pula dengan meningkatnya kapasitas maksimum oksigen dalam darah. Dengan perhitungan yang ada didapatkan kapasitas oksigen maksimal dari kelompok dengan perlakuan bayam merah meningkat sebesar 17,41% dan kelompok yang diberikan perlakuan dengan tablet FeSO₄ meningkat sebesar 7,27%.

5.2 Saran

Terjadinya penggumpalan pada proses pengambilan darah yang terjadi menjadi kendala dalam perolehan data. Agar penggumpalan darah tidak terulang, EDTA yang diberikan pada tabung bisa ditambahkan atau penggunaan EDTA dapat digantikan dengan menggunakan heparin sebagai anti-koagulan. Selain itu untuk menghindari terjadinya penggumpalan darah metode pengambilan darah juga dapat dilakukan dengan menggunakan metode lain.

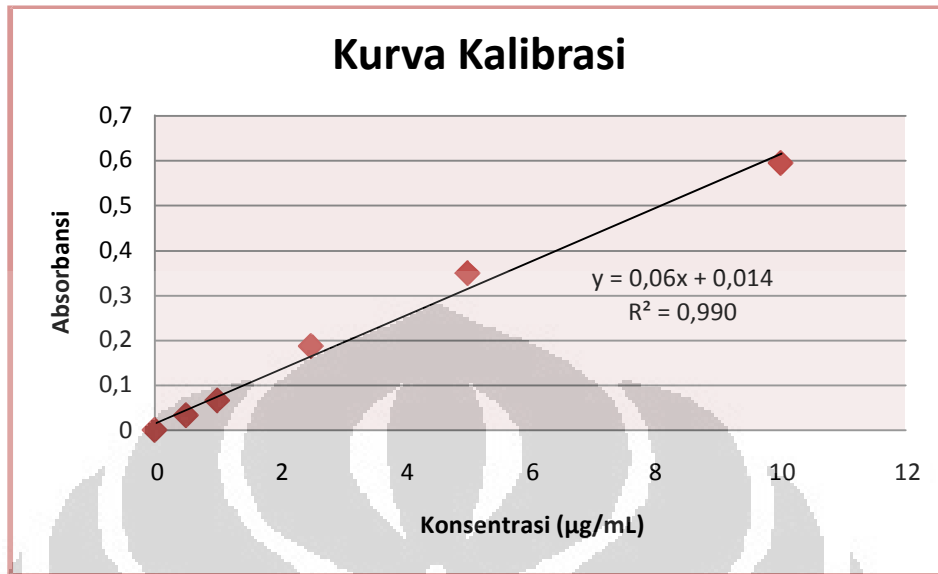
DAFTAR PUSTAKA

1. Saw CB. Foundation of Radiological Physics. Omaha, NE : C.B.Saw Publishing; 2004.p.442.
2. Alatas, Zubaidah. Peran Radiobiologi dalam Peningkatan Kualitas Radio Terapi. Buletin Alara. 1(2),9-13(1997).
3. Saw CB. Foundation of Radiological Physics. Omaha, NE : C.B.Saw Publishing; 2004.p.466.
4. Hall, E.J. Radiobiology for The Radiologist. 5th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. 2000. P.94
5. Sediaoetama AD. Ilmu Gizi Untuk Mahasiswa dan Profesi Jilid I. Jakarta: Dian Rakyat; 2006.
6. Udyaningsinh-Freisleben SK. XAS and RR Structural Analysis of Hemoglobin and EPR Spetroscopic Labelling of Red Blood Cells Membranes (dissertation). Sydney: University of Sydney; 2003.
7. Mutschler E. Arzneimittelwirkungen. 7th ed. Stuttgart: Wiss.Verl. Ges ; 1996. p .403.
8. Thews G, Mutschler E, Vaupel P. Anatomic, Phycologic, Pathophysiologic der Menschen. 4th ed. Stuttgart : Wiss.Verl.Ges; 1991.p.95.
9. Rochaeni A., Pujadi. Pengaruh Pemberian Teh Hijau (*Camelia sinesis*) Terhadap Jumlah Trombosit Mencit BALB/c yang Diberi Metrotreksat. Artikel Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 2006.
10. Van Campen DR., Welch RM. Availability to Rats of Iron from Spinach Effects of Oxalic Acid. J Nutr . 1980;110:1618-21.
11. IPTEKnet. Tanaman Obat Indonesia. Agustus, 10, 2011. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat.
12. Penelitian Obat Bahan Alam. Sekolah Farmasi ITB. Telaah Kandungan Kimia Daun *Amaranthus tricolor L.* Agustus, 10, 2011. bahan-alam.fa.itb.ac.id.
13. E Siong , T., Swan-Choo , K., & Mizura Shahid, S. Determination of Iron in Foods by the Atomic Absorption Spectrometric and Colorimetric Methods. Kuala Lumpur, Malaysia. Pertanika 1989;12(3) : 313-22.
14. Research Animal Model, Charles river. September, 22, 2011. <http://www.criver.com>
15. Harlan Laboratories. September, 22, 2011. <http://www.harlan.com>

16. Tortora, G.J., Derrickson, Bryan. Principles of Anatomy and Physiology. 12th ed. USA: Jahn Wiley and Sons, Inc. 2009. p.725.
17. Rhicard, W.G., Scott, P.R. Energy Levels in Atoms and Molekuls. Oxford : Oxford University Press. 1994. p. 57.
18. Guyton, A.C., Hall, J.E. Text Book of Medical Physiology : Blood Cells, Immunity and Blood Clotting. 11th ed. Philadelphia : Elsevier , Inc. 2006. p.425.
19. Winarno, F.G. Kimia Pangan dan Giza. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. 1984. p.158.
20. Campbell, N.A., Reece, J.B., Mitchell, L.G. Biologi : Struktur dan Fungsi Makromolekul. 5th ed. Jakarta : Erlangga. 2000. p.79.
21. Barret, K.E., Barman, S.M., Baitano .S., Brooks, H.L. Ganong's Review of Medical Physiology. 23th ed. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc. 1976. p.575.
22. Winter, J.M. d-Block Chemistry. New York : Oxford University Press. Inc. 1994. p.3.
23. Tortora, G.J., Derrickson, Bryan. Principles of Anatomy and Physiology. 12th ed. USA: Jahn Wiley and Sons, Inc. 2009. p.696.
24. Barret, K.E., Barman, S.M., Baitano .S., Brooks, H.L. Ganong's Review of Medical Physiology. 23th ed. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc. 1976. p.651.
25. Sadikin, Mohammad. Biokimia Darah. 1th ed. Jakarta: Widya Medika. 2001. p.17.
26. Guyton, A.C., Hall, J.E. Text Book of Medical Physiology : Blood Cells, Immunity and Blood Clotting. 11th ed. Philadelphia : Elsevier , Inc. 2006. p.424.
27. Harmita. Buku Ajar Analisis Fisikokimia. Jakarta : Cipta Kreasi Bersama. 2006. p.87.
28. Khopkar, S.M. Basic of Analytical Chemistry. UK : Wiley Eastern Limited, Inc. 1985. p.189.
29. Ingle, J.D., Crouch, S.R. Spectrochemical Analysis. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. 1988. p.2.
30. Khopkar, S.M. Basic of Analytical Chemistry. UK : Wiley Eastern Limited, Inc. 1985. p.194-195.
31. Khopkar, S.M. Basic of Analytical Chemistry. UK : Wiley Eastern Limited, Inc. 1985. p.274-278.
32. Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy. USA: Perkin-Elmer Corporation. 1996. p.3-4.
33. Khopkar, S.M. Basic of Analytical Chemistry. UK : Wiley Eastern Limited, Inc. 1985. p.215 – 217.

34. Upstone, S.L. Ultraviolet Visible Light Absorption Spectrophotometry in Clinical Chemistry. UK: Jhon Wiley & Sons, Ltd. 2000.
35. Proteins : Purification and Characterization. Chapter 5 and 6. P 130-150. December, 2, 2011. <http://www.biochem.arizona.edu>
36. Meyers, A.R. Molecular Biology and Biothecnology. New York : VHC Publisher, Inc. 1995.p.404.
37. Khopkar,S.M. Basic of Analytical Chemistry. UK : Wiley Eastern Limited, Inc. 1985. p.201-203.
38. Rancangan Acak Kelompok. Oktober, 5, 2011. <http://smartstat.com>
39. Balitro.litbang.deptan.go.id
40. Radox Laboratories Limited.United Kingdom
41. Underwood,A.L., Day, R.A. Analisis Kimia Kuantitatif. 6th ed. Jakarta : Erlangga. p.231.
42. Jonson, trevor. Vitamin in spinach. September, 4 , 2011. <http://www.spinachword.com>
43. Goldoni,A. Porphyrins: fascinating molecules with biological significance. Trieste, Italy.
44. Underwood,A.L., Day, R.A. Analisis Kimia Kuantitatif. 6th ed. Jakarta : Erlangga. p.384

Lampiran A. Perhitungan Kadar Besi pada Masing-masing Sampel



Gambar A.1

Grafik hubungan antara konsentrasi Fe dengan absorbansi

Tabel A.1. Data absorbansi dari masing-masing sampel

Sampel	Ulangan	Absorbansi
Suplemen penambah darah yang terdiri dari <i>Iron Polymaltose complex</i> dan asam folat	1	0,142
	2	0,14
	3	0,142
	4	0,138
	5	0,143
FeSO ₄	1	0,098
	2	0,102
	3	0,102
	4	0,102
	5	0,101
Bayam Merah Bubuk	1	0,465
	2	0,46
	3	0,458
	4	0,456
	5	0,412

Diketahui bahwa persamaan garis yang didapatkan dari kurva kalibrasi larutan standar Fe adalah

$$y = 0,06x - 0,014$$

Dengan :

y = Absorpsi

x = Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

Data absorpsi hasil bacaan AAS untuk Suplemen penambah darah yang terdiri dari *Iron Polymaltose complex* dan asam folat yang diencerkan sebanyak 5000x seperti yang tertera pada tabel A.1. Untuk mendapatkan konsentrasi $\mu\text{g Fe}$ dalam setiap mL hasil absorpsi yang didapatkan tersebut kemudian di plot ke persamaan garis dari kurva kalibrasi yang ada.

$$0,142 = 0,06x - 0,014$$

$$0,142 + 0,014 = 0,06x$$

$$x = \frac{0,156}{0,06}$$

Contoh perhitungan konsentrasi untuk Suplemen penambah darah yang terdiri dari *Iron Polymaltose complex* dan asam folat ulangan pertama :

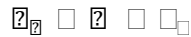
$$0,142 = 0,06x - 0,014$$

$$0,156 = 0,06x$$

$$x = 2,6$$

$$x = 2,6$$

Didapatkan konsentrasi besi dalam larutan suplemen penambah darah yang terdiri dari *Iron Polymaltose complex* dan asam folat yang telah diencerkan sebanyak 5000 x adalah sebesar $2,6\mu\text{g/mL}$. Hasil perhitungan tersebut merupakan konsentrasi Fe ($\mu\text{g/mL}$) pada sampel yang diencerkan, sehingga untuk mendapatkan konsentrasi sebenarnya (K_s), hasil konsentrasi yang didapatkan harus dikalikan dengan faktor pengencerannya.



Dengan :

K_s : Kadar besi pada sampel sebenarnya , sebelum pengenceran ($\mu\text{g/mL}$)

K : Kadar besi pada sampel yang diperoleh dari pembacaan oleh AAS ($\mu\text{g/mL}$)

f_p : Faktor pengencer

$$K_s = \frac{K}{f_p} = \frac{2,133}{0,2} = 10.665 \mu\text{g/mL}$$

Dengan perhitungan diatas, dapat diketahui besar kadar besi dalam sampel sebelum diencerkan. Untuk sampel suplemen penambah darah yang terdiri dari *Iron Polymaltose complex* dan asam folat didapatkan kadar besi sebesar $10.665\mu\text{g/mL}$.

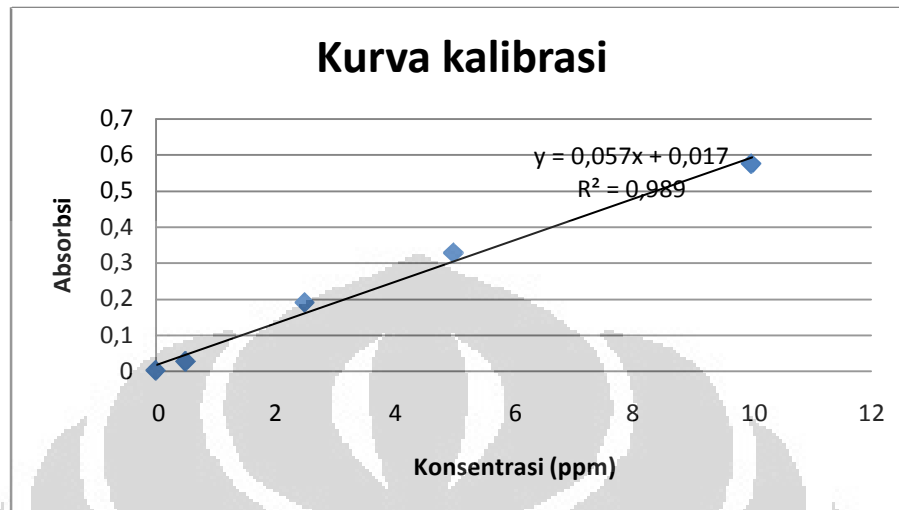
Tabel A.2. Kadar besi total pada masing-masing sampel

Sampel	Ulangan	K^* ($\mu\text{g/mL}$)	K_s^{**} ($\mu\text{g/mL}$)
Suplemen penambah darah Iron Polymaltose complex dan asam folat	1	2,133	10667
	2	2,100	10500
	3	2,133	10667
	4	2,067	10333
	5	2,150	10750
FeSO ₄	1	1,400	14000
	2	1,467	14667
	3	1,467	14667
	4	1,467	14667
	5	1,450	14500
Bayam Merah Bubuk	1	7,517	75,17
	2	7,433	74,33
	3	7,400	74,00
	4	7,367	73,67
	5	6,633	66,33

* K : Konsentrasi sampel yang diperoleh dari pembacaan oleh AAS ($\mu\text{g/mL}$)

** K_s : Konsentrasi sampel sebenarnya , sebelum sampel diencerkan ($\mu\text{g/mL}$)

Lampiran B. Perhitungan kadar zat besi pada sampel bayam merah bubuk dengan berbagai perlakuan



Gambar B.1

Kurva kalibrasi Untuk Pengukuran Zat Besi dalam Bayam Merah

Tabel B.1. Data absorbansi dan konsentrasi dari masing-masing sampel

Sampel	Ulangan	Absorpsi	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)
Bayam merah bubuk + aquabidest tidak dipanaskan	1	0,331	5,51
	2	0,332	5,53
	3	0,34	5,67
Bayam merah bubuk + aquabidest 60°C, disaring	1	0,552	9,39
	2	0,483	8,18
	3	0,62	10,58
Bayam merah bubuk + aquabidest 60°C, tidak disaring	1	4,09	71,47
	2	4,22	73,82
	3	4,27	74,56

Diketahui bahwa persamaan garis yang didapatkan dari kurva kalibrasi larutan standar Fe adalah

$$y = 0,057x - 0,017$$

Dengan :

y = Absorpsi

x = Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

Tabel B.1 menunjukkan data absorpsi untuk larutan bayam merah . Untuk mendapatkan konsentrasi $\mu\text{g Fe}$ dalam setiap mL hasil absorpsi yang didapatkan tersebut kemudian di plot ke persamaan garis dari kurva kalibrasi yang ada.

$$\begin{aligned} y &= 0,057x - 0,017 \\ 0,057x &= y + 0,017 \\ x &= \frac{y + 0,017}{0,057} \end{aligned}$$

Contoh perhitungan konsentrasi untuk bayam merah bubuk yang tidak dipanaskan pada ulangan pertama :

$$\begin{aligned} x &= \frac{0,331 + 0,017}{0,057} \\ &= \frac{0,214}{0,057} \\ &= 5,51 \\ &= 5,51 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

Lampiran C. Perhitungan Kadar Hemoglobin dalam Darah

Pengukuran hemoglobin pada sampel uji dilakukan pada saat sebelum diberikan perlakuan dan di akhir pemberian perlakuan. Perhitungan konsentrasi hemoglobin dalam darah dapat dihitung dengan persamaan³⁸ :

$$K = \frac{22,82 \times Abs}{\text{?}}$$

atau

$$K = \frac{36,77 \times Abs}{\text{?}}$$

Dimana

K = Konsentrasi dalam darah (mmol/L atau g/dL)

Abs = Absorpsi yang terbaca pada spektrofotometer

Tabel C.1 Data Absorpsi Hb dan Konsentrasi Sebelum Perlakuan

Perlakuan	Mencit	Sebelum perlakuan		
		Abs	Konsentrasi Hb	
			mmol/L	g/dL
Kontrol	IA ₂	0,442	10,08	15,52
	IA ₃	0,325	7,4	11,95
	IA ₄	0,441	10,06	16,22
	IB ₁	0,387	8,83	14,23
	IB ₂	0,356	8,81	13,09
	IB ₃	0,391	8,92	14,38
Bayam Merah Bubuk	IIA ₁	0,305	7,07	11,39
	IIA ₂	0,429	9,79	15,77
	IIA ₃	0,38	8,84	14,25
	IIB ₁	0,314	7,46	12,02
	IIB ₂	0,36	8,26	13,31
	IIB ₄	0,346	7,90	12,72
FeSO ₄	IIIA ₁	0,389	9,00	14,51
	IIIA ₂	0,35	8,11	13,07
	IIIA ₃	0,251	5,61	9,04
	IIIB ₁	0,334	7,69	12,39
	IIIB ₂	0,31	6,96	11,22
	IIIB ₃	0,407	9,44	15,2

Perlakuan	Mencit	Sebelum perlakuan		
		Abs	Konsentrasi Hb	
			mmol/L	g/dL
Suplemen penambah darah yang terdiri dari <i>Iron Polymaltose complex</i> dan asam folat	IVA ₃	0,24	5,48	8,82
	IVA ₄	0,436	9,95	16,03
	IVB ₁	0,34	7,79	12,56
	IVB ₂	0,272	6,25	10,08
	IVB ₃	0,437	10,23	16,49
	IVB ₄	0,388	12,57	20,26

Dari tabel data absorpsi diatas dapat diketahui kadar hemoglobin dalam darah dengan menggunakan persamaan (4.4) dan (4.5). Berikut merupakan contoh perhitungan pada hewan uji di kelompok I yaitu IA₂.

$$\frac{0,442}{100} \times 22,82$$

$$\frac{0,442}{100} \times 22,82$$

Atau

$$\frac{0,442}{100} \times 10,08$$

$$\frac{0,442}{100} \times 10,08$$

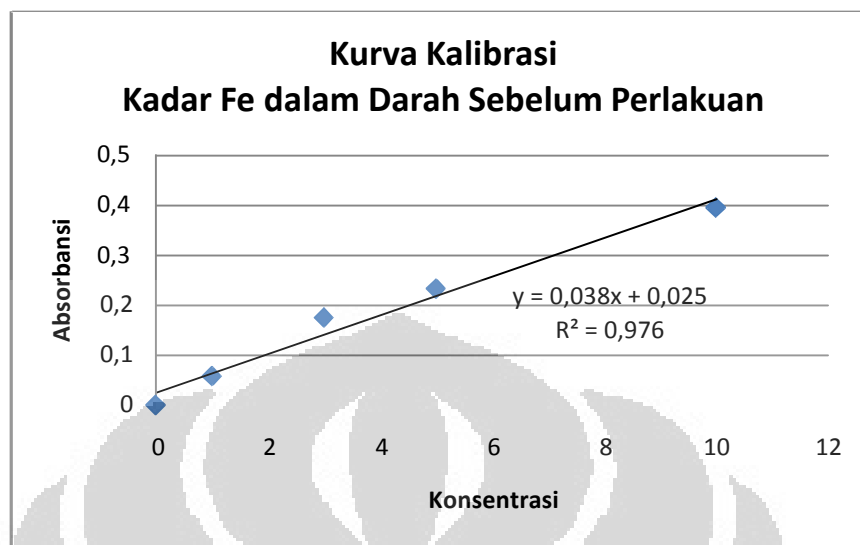
$$\frac{0,442}{100} \times 36,77$$

$$\frac{0,442}{100} \times 36,77$$

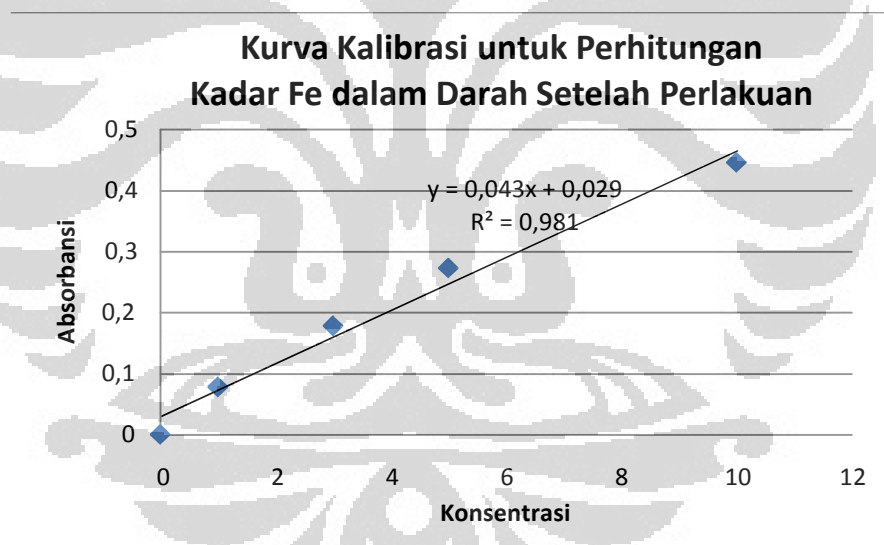
$$\frac{0,442}{100} \times 15,52$$

$$\frac{0,442}{100} \times 15,52$$

Lampiran D. Pengukuran Kadar Fe dalam Darah



(a)



(b)

(a) Grafik kurva kalibrasi sebelum perlakuan

(b) Grafik kurva kalibrasi setelah perlakuan

Gambar D.1 Kurva kalibrasi Untuk Pengukuran Besi dalam Darah

Sampel darah sebanyak 5 μ L diencerkan dalam HNO₃ 1% sebanyak 0,5mL (pengenceran 10 kali). Didapatkan absorbansi dan konsentrasi dari pengukuran menggunakan AAS sebagai berikut :

Tabel D.1 Data Absorpsi dan Konsentrasi Besi pada darah

Sampel	Sebelum Perlakuan			Setelah Perlakuan		
	Abs	K* ($\mu\text{g/mL}$)	Ks** ($\mu\text{g/mL}$)	Abs	K* ($\mu\text{g/mL}$)	Ks** ($\mu\text{g/mL}$)
IA ₂	0,139	3,00	30,00	0,296	6,21	62,09
IA ₃	0,092	1,76	17,63	0,173	3,35	33,49
IA ₄	0,119	2,47	24,74	0,082	1,23	12,33
IB ₁	0,232	5,45	54,47	0,344	7,33	73,26
IB ₂	0,243	5,74	57,37	0,201	4,00	40,00
IB ₃	0,29	6,97	69,74	0,273	5,67	56,74
IIA ₁	0,179	4,05	40,53	0,295	6,19	61,86
IIA ₂	0,199	4,58	45,79	0,276	5,74	57,44
IIA ₃	0,198	4,55	45,53	0,263	5,44	54,42
IIB ₁	0,113	2,32	23,16	0,241	4,93	49,30
IIB ₂	0,233	5,47	54,74	0,471	10,28	102,79
IIB ₄	0,236	5,55	55,53	0,324	6,86	68,60
IIIA ₁	0,2	4,61	46,05	0,234	4,77	47,67
IIIA ₂	0,158	3,50	35,00	0,068	0,91	9,07
IIIA ₃	0,2	4,61	46,05	0,144	2,67	26,74
IIIB ₁	0,239	5,63	56,32	0,157	2,98	29,77
IIIB ₂	0,229	5,37	53,68	0,265	5,49	54,88
IIIB ₃	0,209	4,84	48,42	0,282	5,88	58,84
IVA ₃	0,227	5,32	53,16	0,047	0,42	4,19
IVA ₄	0,211	4,89	48,95	0,067	0,88	8,84
IVB ₁	0,153	3,37	33,68	0,084	1,28	12,79
IVB ₂	0,348	8,50	85,00	0,042	0,30	3,02
IVB ₃	0,216	5,03	50,26	0,121	2,14	21,40
IVB ₄	0,202	4,66	46,58	0,286	5,98	59,77

*K = konsentrasi darah setelah diencerkan

**Ks = konsentrasi darah sebelum diencerkan

Diketahui bahwa persamaan garis yang didapatkan dari kurva kalibrasi larutan standar Fe adalah

$$y = 0,038x - 0,025$$

Dan

$$y = 0,043x - 0,029$$

Dengan :

y = Absorpsi

x = Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)

Data absorpsi hasil bacaan AAS untuk darah yang diencerkan sebanyak 10x seperti yang tertera pada tabel D.1. Untuk mendapatkan konsentrasi μg Fe dalam setiap mL hasil absorpsi yang didapatkan tersebut kemudian di plot ke persamaan garis dari kurva kalibrasi yang ada.

$$y = 0,038x - 0,025$$

$$0,038x - 0,025 = 0,025$$

$$0,038x = 0,025 + 0,025$$

$$0,038x = 0,05$$

$$x = \frac{0,05}{0,038}$$

Contoh perhitungan konsentrasi untuk sampel darah IA₂ adalah sebagai berikut :

$$y = 0,038x - 0,025$$

$$0,038x - 0,025 = 0,139$$

$$0,038x = 0,139 + 0,025$$

$$0,038x = 0,164$$

$$x = \frac{0,164}{0,038}$$

$$x = 4,3158$$

$$x = 43,158$$

Didapatkan konsentrasi besi dalam darah yang telah diencerkan sebanyak 10 x adalah sebesar $3\mu\text{g/mL}$. Hasil perhitungan tersebut merupakan konsentrasi Fe ($\mu\text{g/mL}$) pada sampel yang diencerkan , sehingga untuk mendapatkan konsentrasi sebenarnya (K_s), hasil konsentrasi yang didapatkan harus dikalikan dengan faktor pengencerannya.

$$K_s = 43,158 \times 10$$

$$K_s = 431,58$$

Dengan :

K_s : Kadar besi pada sampel sebenarnya , sebelum pengenceran ($\mu\text{g/mL}$)

K : Kadar besi pada sampel yang diperoleh dari pembacaan oleh AAS ($\mu\text{g/mL}$)

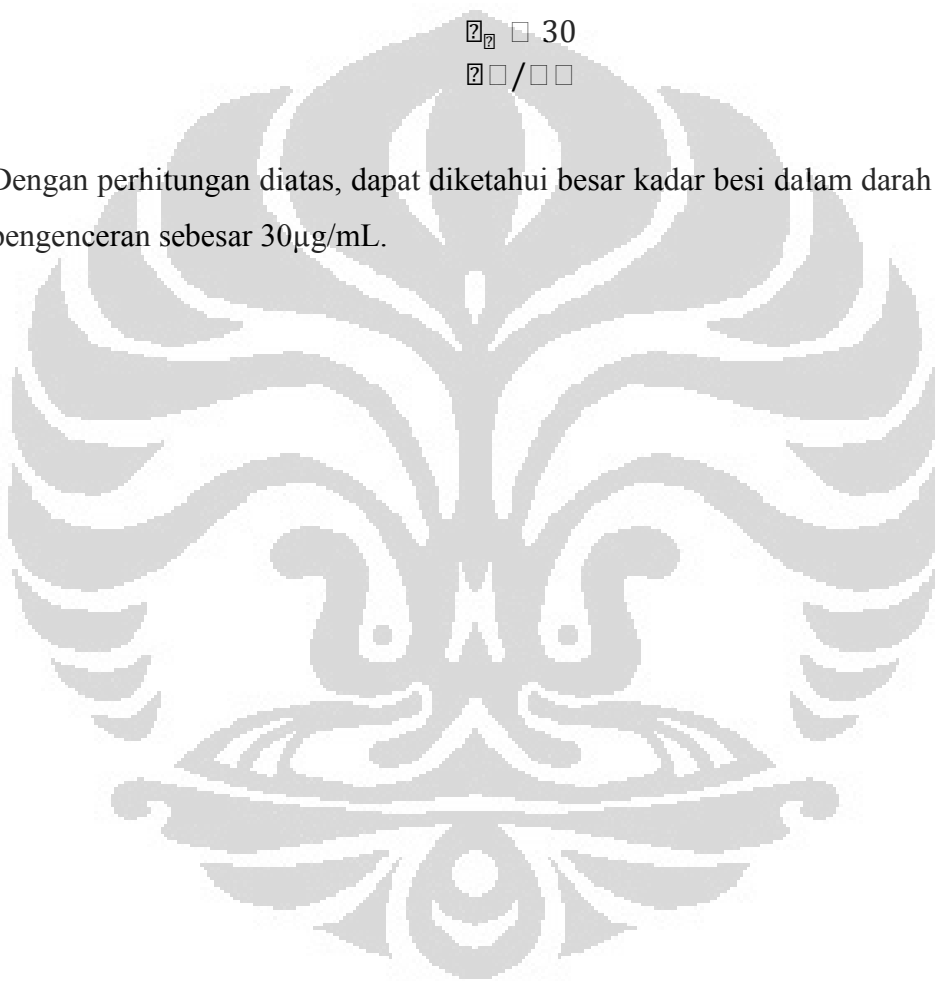
f_p : Faktor pengencer

$$K_s = 3 \frac{K}{f_p} = 10$$

$$K_s = 30$$

$$K = 10$$

Dengan perhitungan diatas, dapat diketahui besar kadar besi dalam darah sebelum pengenceran sebesar $30\mu\text{g/mL}$.



Lampiran E. Perhitungan Kapasitas Oksigen Maksimal dalam Darah

Satu gram hemoglobin dapat mengikat 1,36 mL oksigen .untuk dapat mengetahui berapa besar kapasitas oksigen dalam darah, data kadar hemoglobin yang tertera pada tabel C.1 dimasukkan dalam persamaan :

$$\frac{1,36 \text{ mL}}{1 \text{ g}} \times 20 \text{ g} = 27,2 \text{ mL}$$

Untuk sampel darah IA₂ dengan kadar hemoglobin 11,95 g/dL didapatkan kapasitas maksimal oksigen dalam darah sebagai berikut :

$$1,36 \text{ mL/g} \times 11,95 \text{ g/dL} = 16,25 \text{ mL/dL}$$

Dari hasil perhitungan tersebut dapat diketahui bahwa pada sampel uji IA₂ kadar oksigen maksimal dalam darah sebanyak 16,25 mL oksigen setiap 1 dL darah. Hasil perhitungan kapasitas maksimal oksigen dalam darah tercantum dalam tabel E.1 :

Tabel E.1. Kapasitas maksimal oksigen dalam darah

Perlakuan	Mencit	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan	
		Hemoglobin (g/dL)	Kapasitas oksigem maksimal (mL/dL)	Hemoglobin (g/dL)	Kapasitas oksigem maksimal (mL/dL)
Kontrol	IA ₂	15,52	21,11	13,90	18,90
	IA ₃	11,95	16,25	10,50	14,28
	IA ₄	16,22	22,06		
	IB ₁	14,23	19,35	15,50	21,08
	IB ₂	13,09	17,80		
	IB ₃	14,38	19,56	13,70	18,63
Bayam Merah	IIA ₁	11,39	15,50	15,20	20,67
	IIA ₂	15,77	21,45	17,10	23,26
	IIA ₃	14,25	19,38	16,30	22,17
	IIB ₁	12,02	16,35		
	IIB ₂	13,31	18,10		
	IIB ₄	12,72	17,30	15,00	20,40

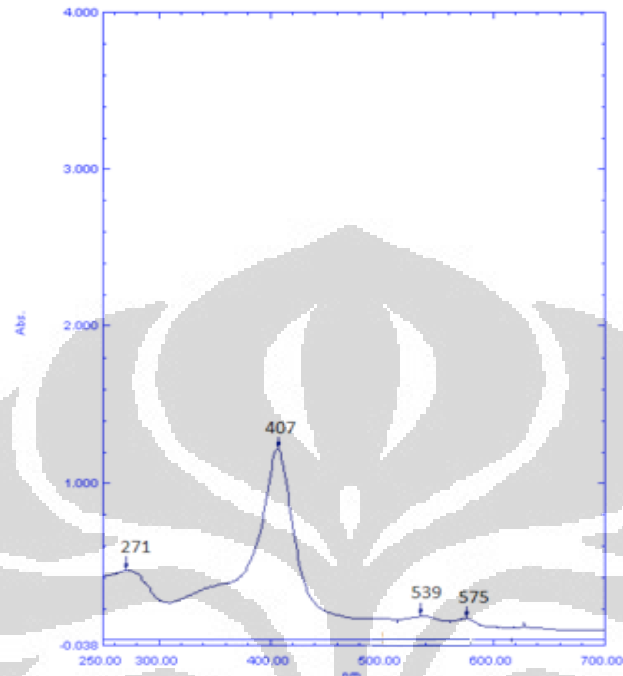
Perlakuan	Mencit	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan	
		Hemoglobin (g/dL)	Kapasitas oksigem maksimal (mL/dL)	Hemoglobin (g/dL)	Kapasitas oksigem maksimal (mL/dL)
FeSO ₄	IIIA ₁	14,51	19,73	14,80	20,13
	IIIA ₂	13,07	17,78		
	IIIA ₃	9,05	12,31		
	IIIB ₁	12,39	16,85		
	IIIB ₂	11,21	15,25	13,90	18,90
	IIIB ₃	15,2	20,67	15,20	20,67
Sirup penambah darah yang terdiri dari <i>Iron Polymaltose complex</i> dan asam folat	IIIA ₃	8,82	12,00		
	IIIA ₄	16,03	21,80		
	IIIB ₁	12,56	17,08	6,99	9,51
	IIIB ₂	10,08	13,71		
	IIIB ₃	16,49	22,43		
	IIIB ₄	20,26	27,55		

Lampiran F. Spektrum Darah dengan *UV-Vis*

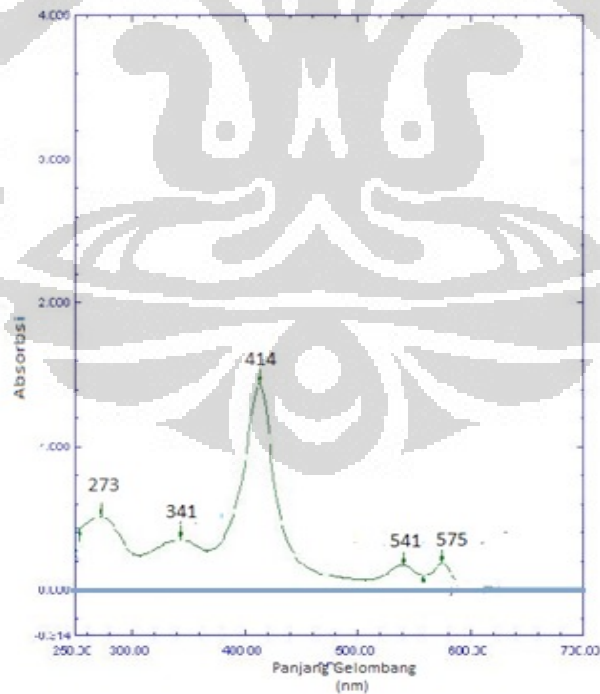
Kelompok I :

Perlakuan : Kontrol

Mencit : IA₂



(a)



(b)

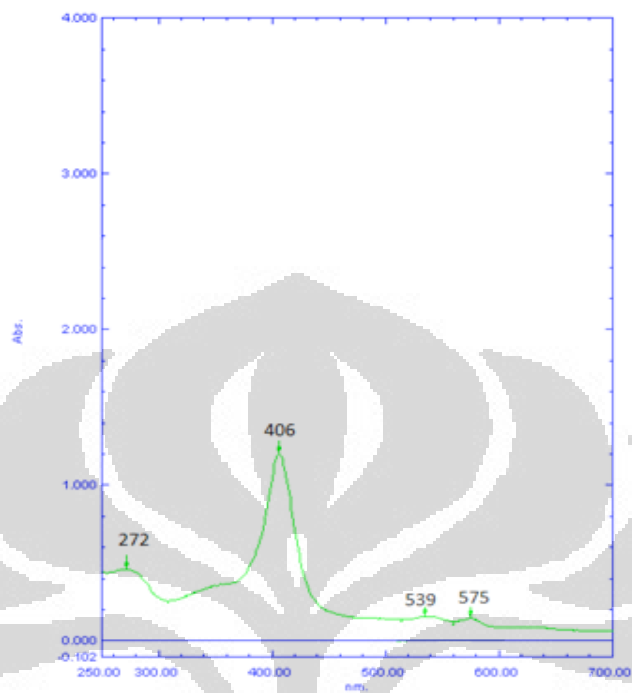
(a) Sebelum perlakuan

(b) Setelah perlakuan

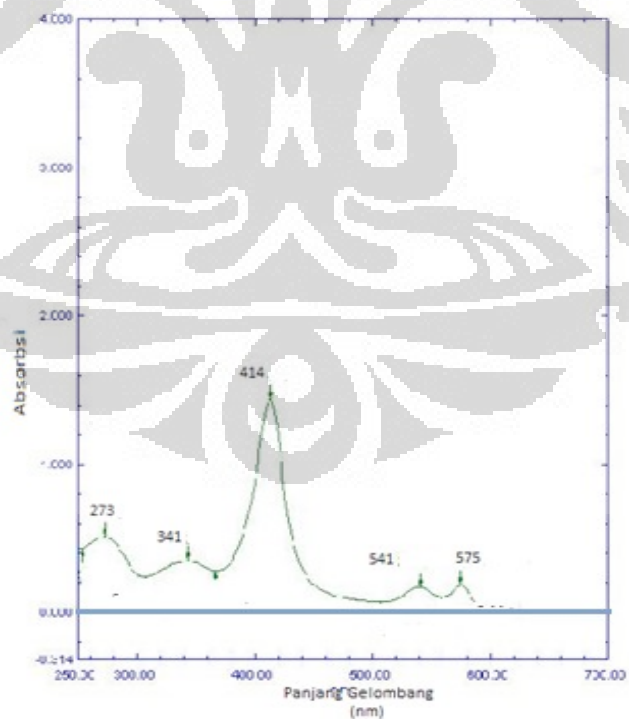
Kelompok I :

Perlakuan : Kontrol

Mencit : IA₃



(a)



(b)

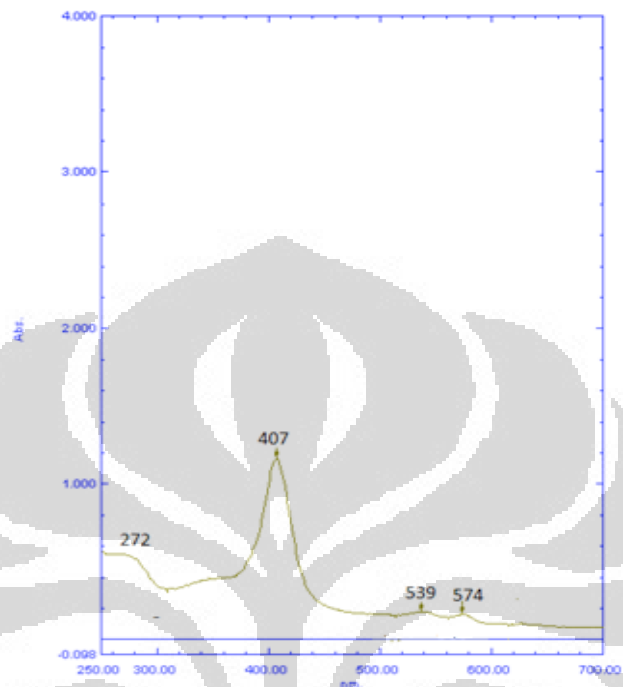
(a) Sebelum perlakuan

(b) Setelah perlakuan

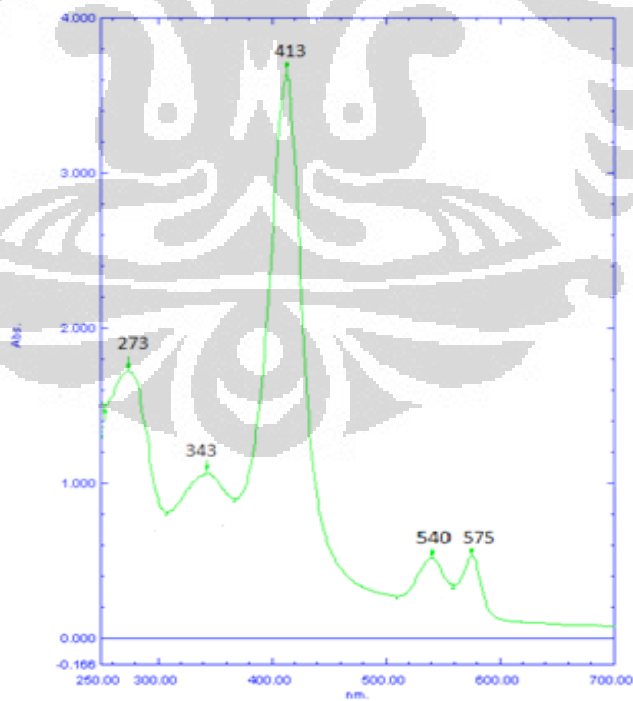
Kelompok I :

Perlakuan : Kontrol

Mencit : IA₄



(a)

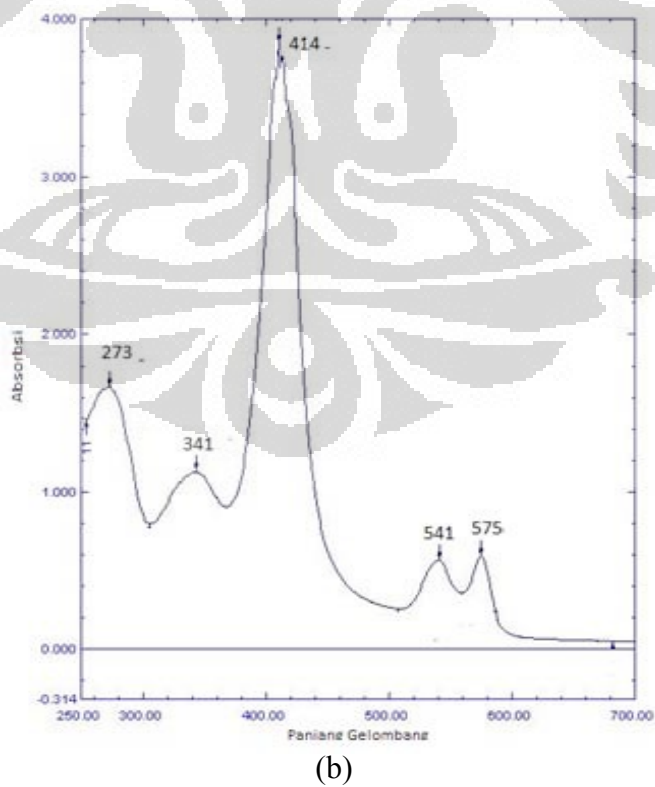
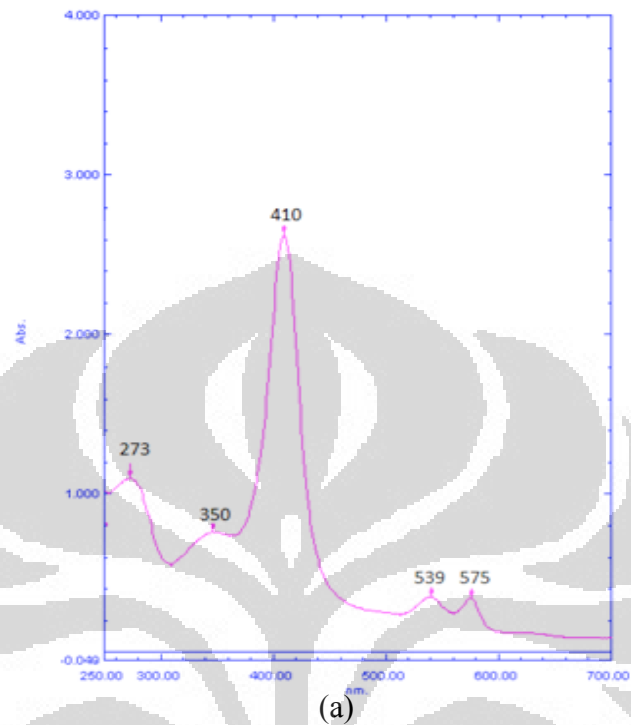


(b)

(a) Sebelum perlakuan

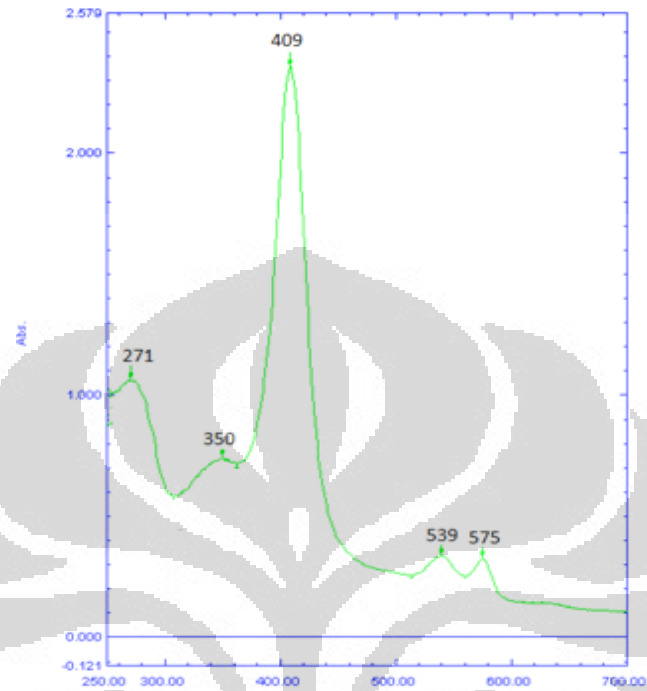
(b) Setelah perlakuan

Kelompok I :
 Perlakuan : Kontrol
 Mencit : IB₁

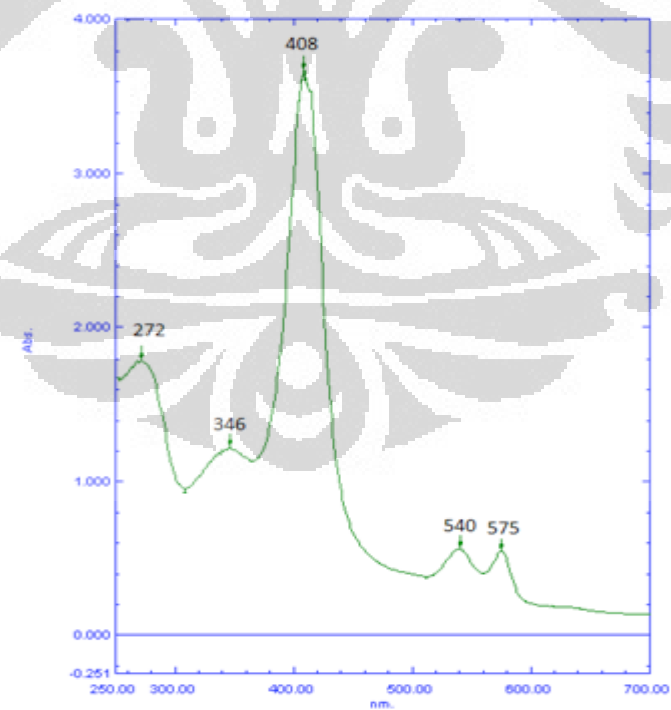


(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok I :
 Perlakuan : Kontrol
 Mencit : IB₂



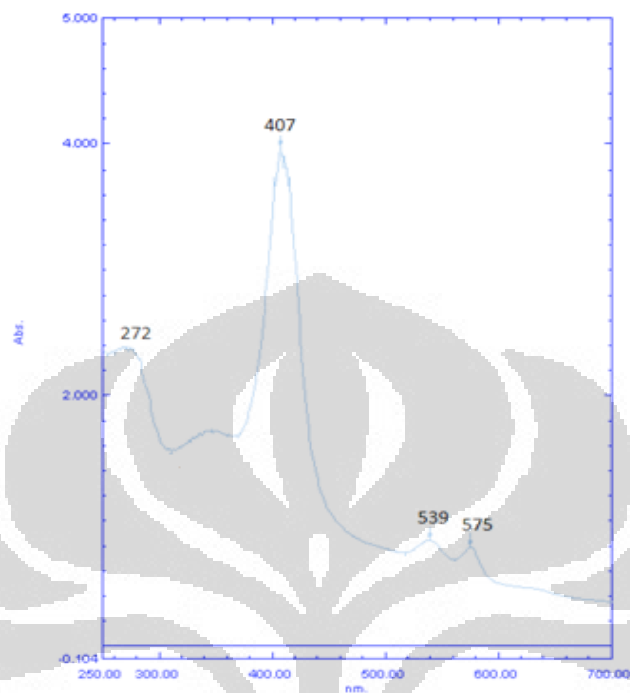
(a)



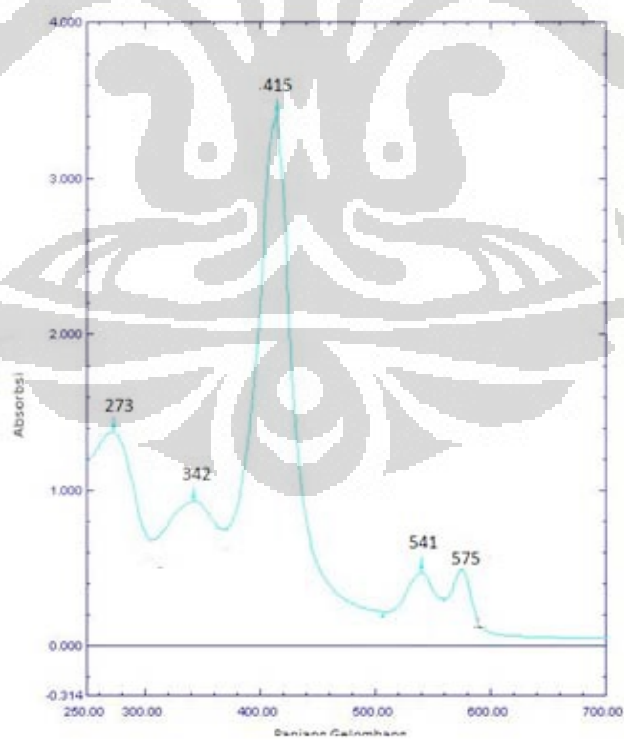
(b)

(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok I :
 Perlakuan : Normal
 Mencit : IB₃



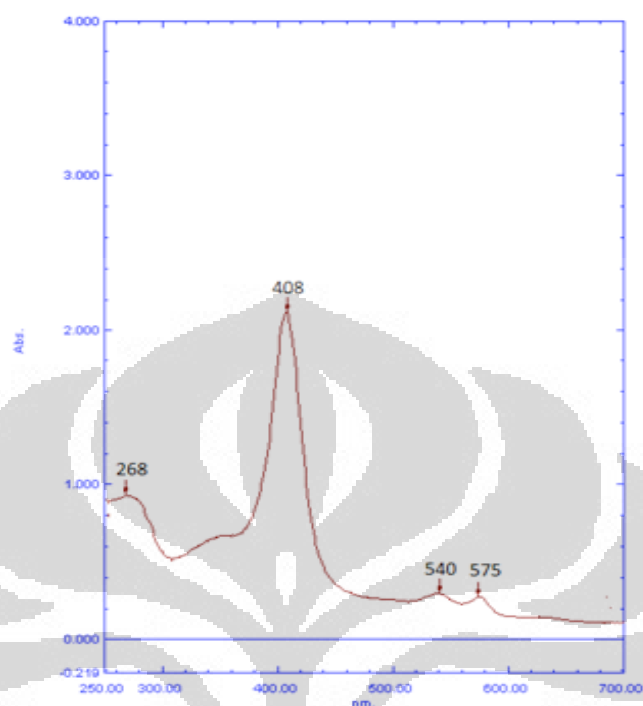
(a)



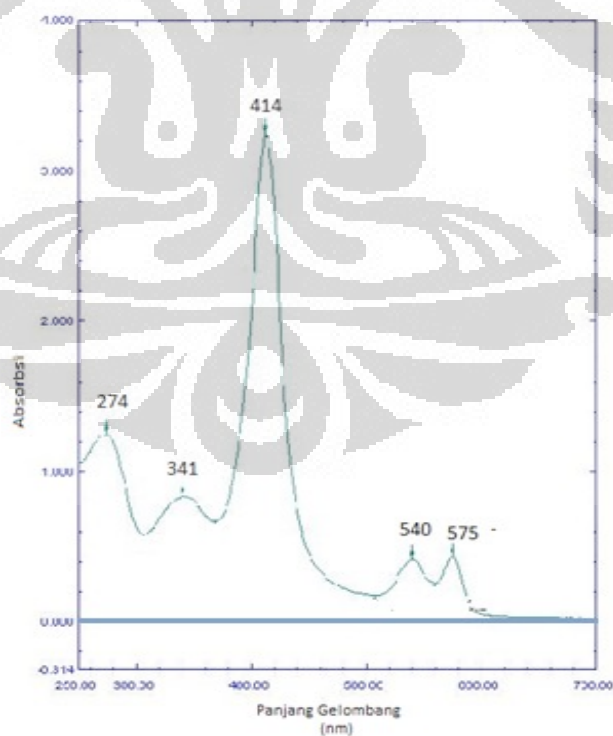
(b)

(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok II :
Perlakuan : Bayam merah
Mencit : IIA₁



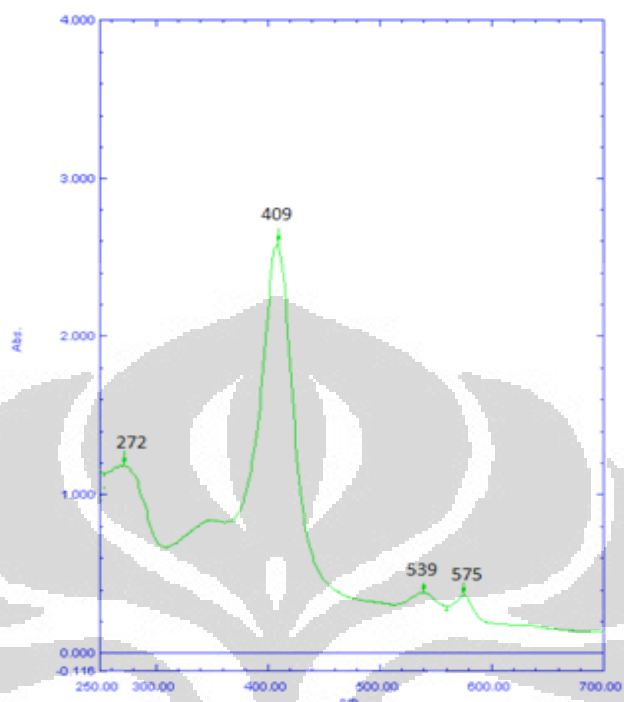
(a)



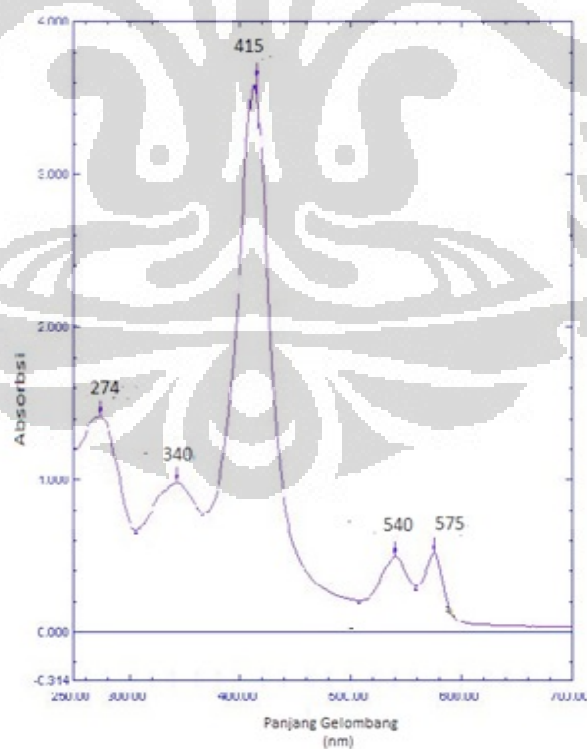
(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok II :
 Perlakuan : Bayam Merah
 Mencit : IIA₂



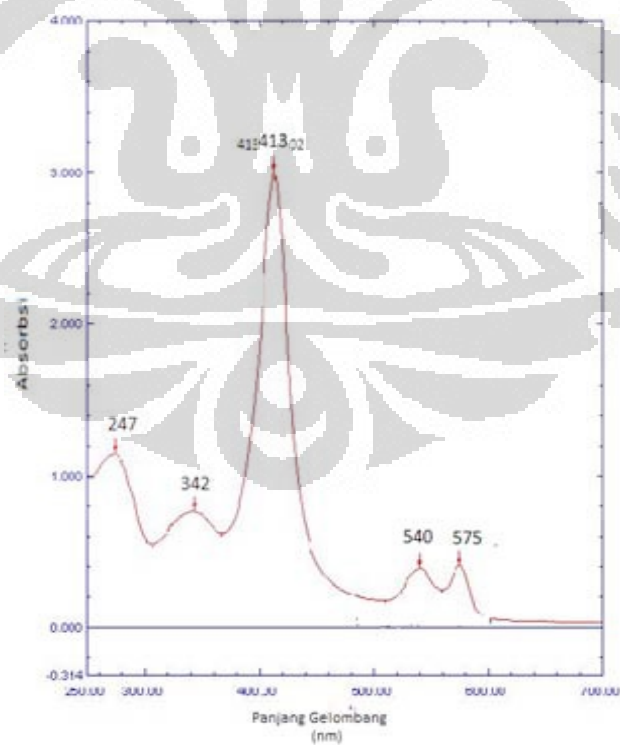
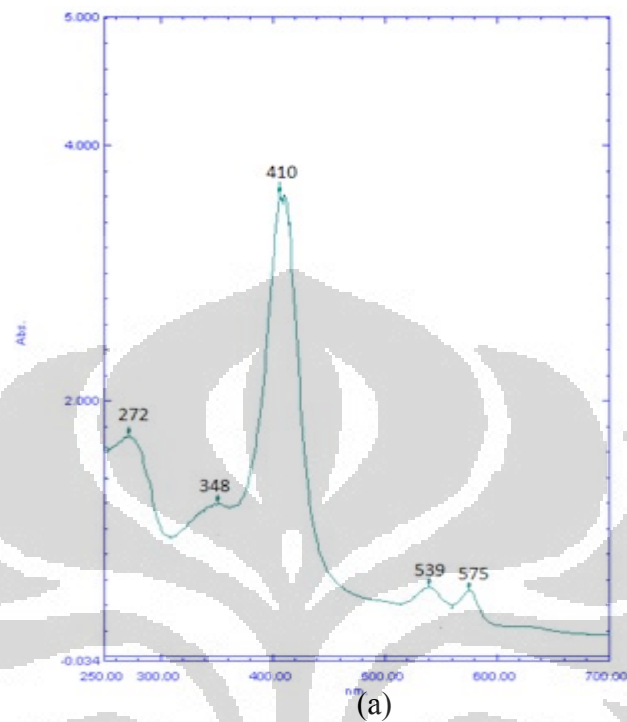
(a)



(b)

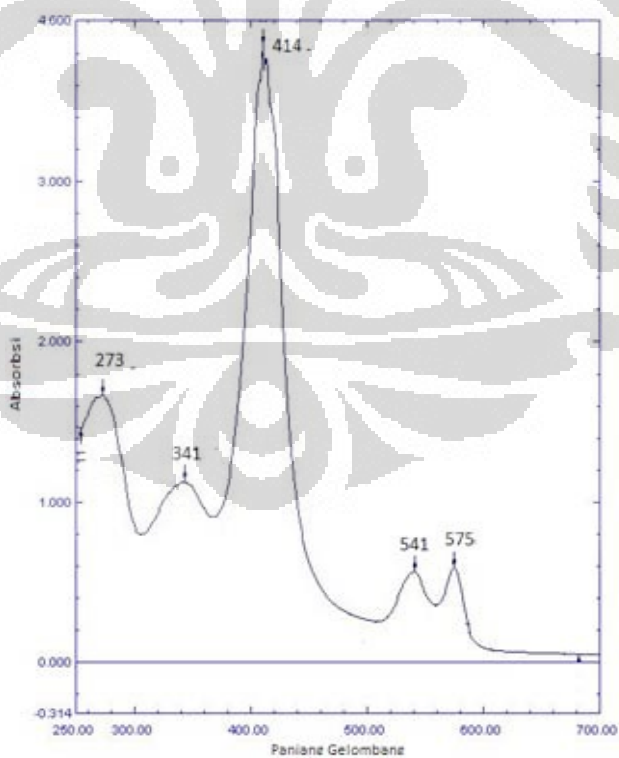
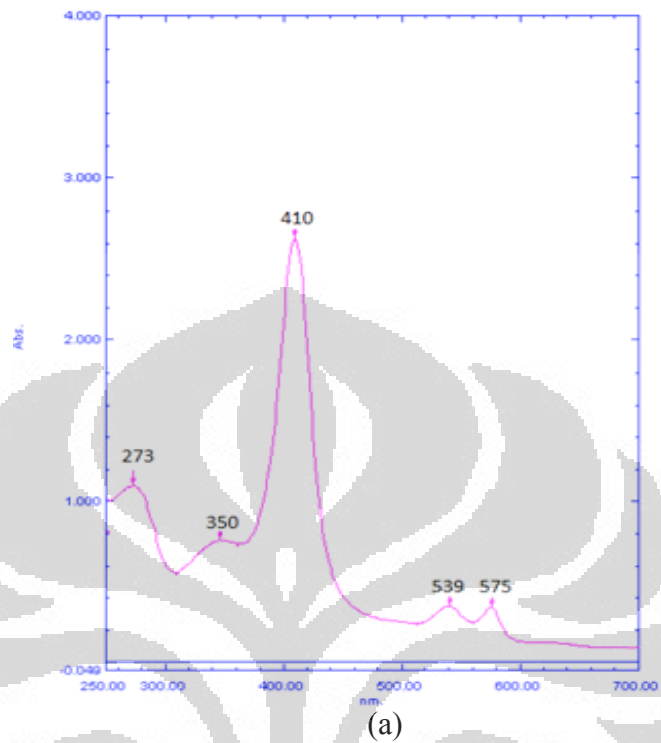
(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok II :
 Perlakuan : Bayam Merah
 Mencit : IIA₃



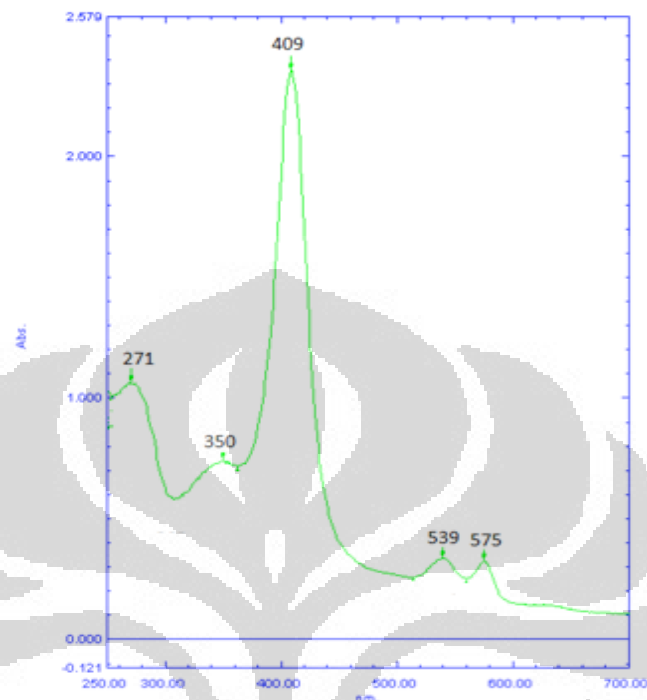
(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok II :
Perlakuan : Bayam Merah
Mencit : IIB₁

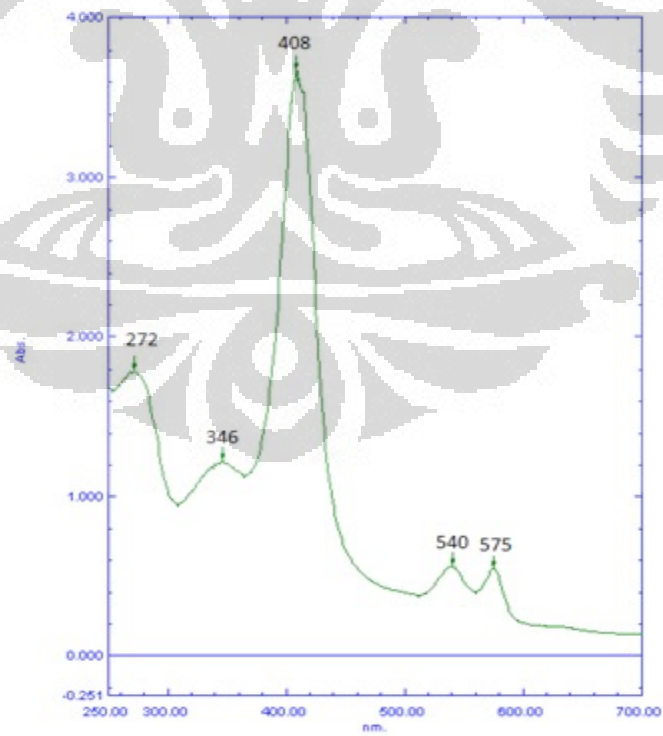


(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok II :
Perlakuan : Bayam Merah
Mencit : IIB₂



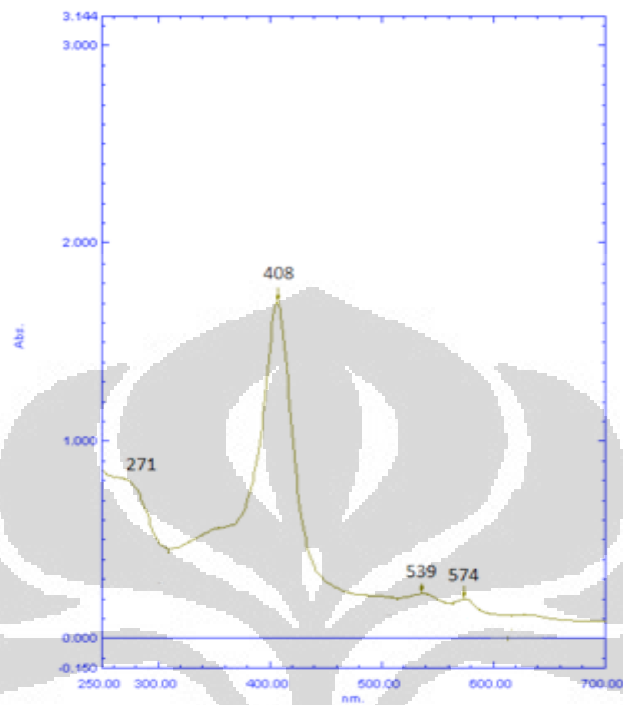
(a)



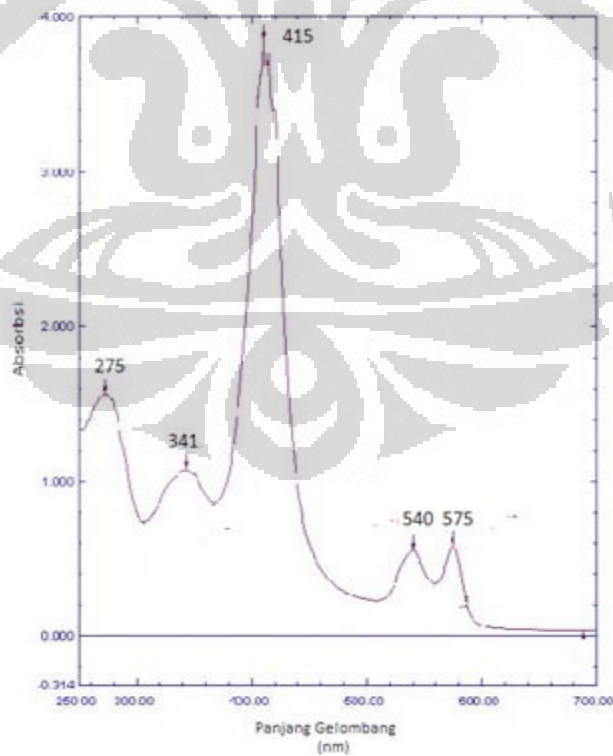
(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok II :
 Perlakuan : Bayam Merah
 Mencit : IIB₄



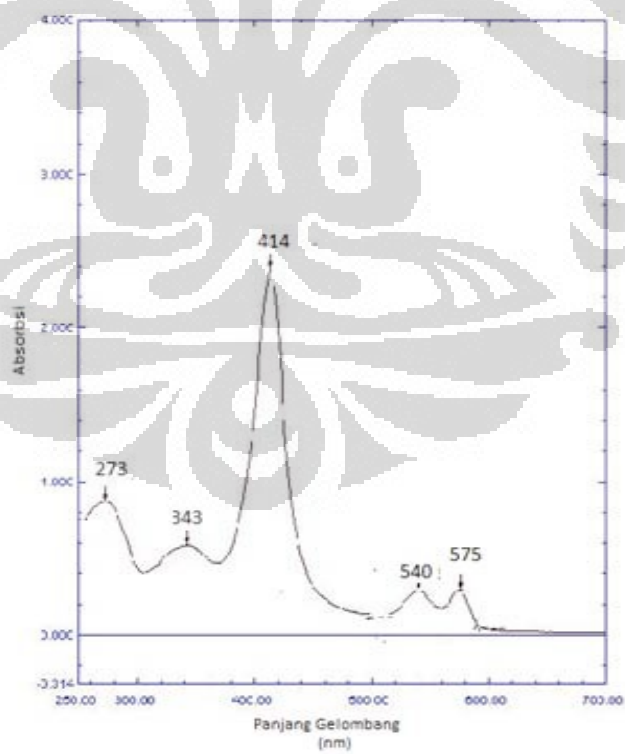
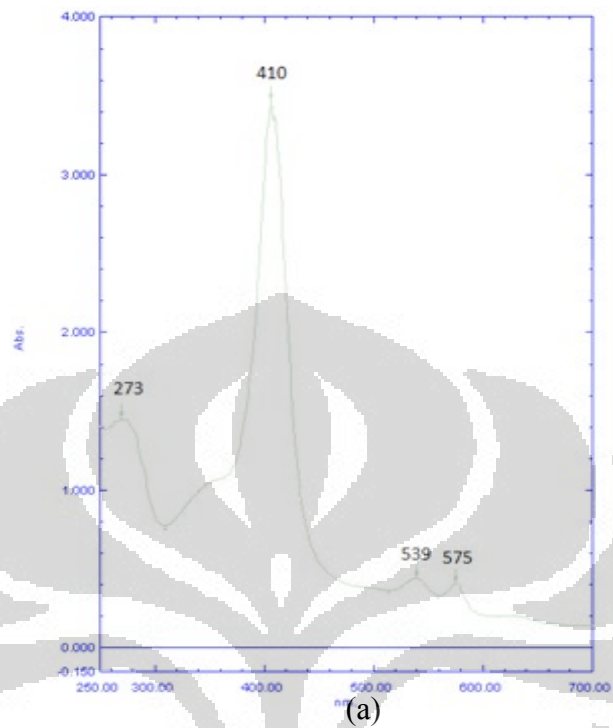
(a)



(b)

(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

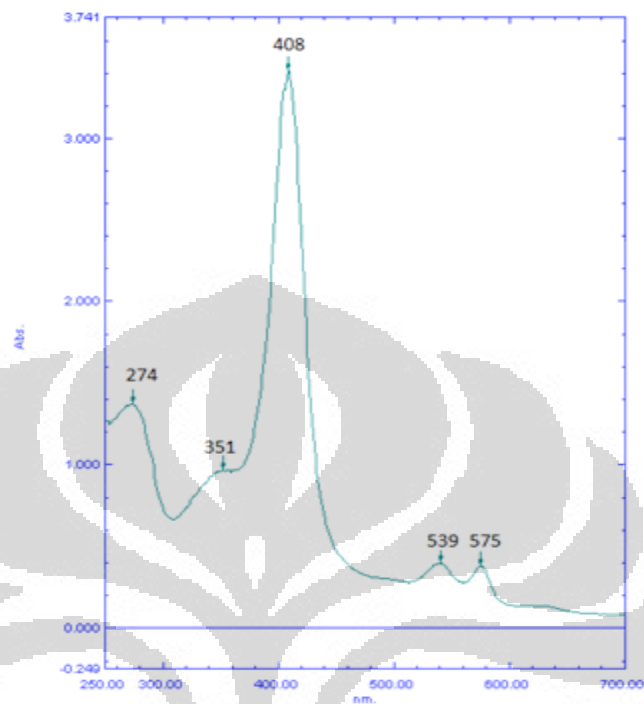
Kelompok III :
Perlakuan : FeSO_4
Mencit : IIIA₁



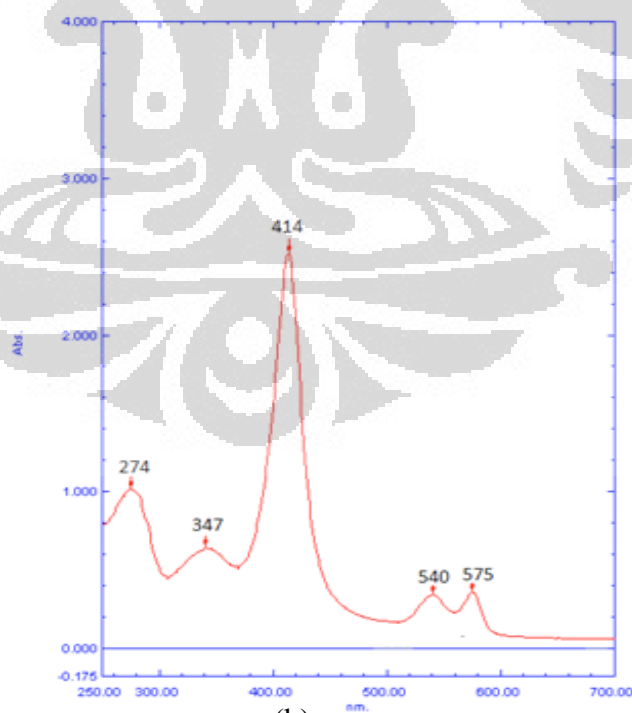
(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok III :
Perlakuan : FeSO_4
Mencit : H_2A_2



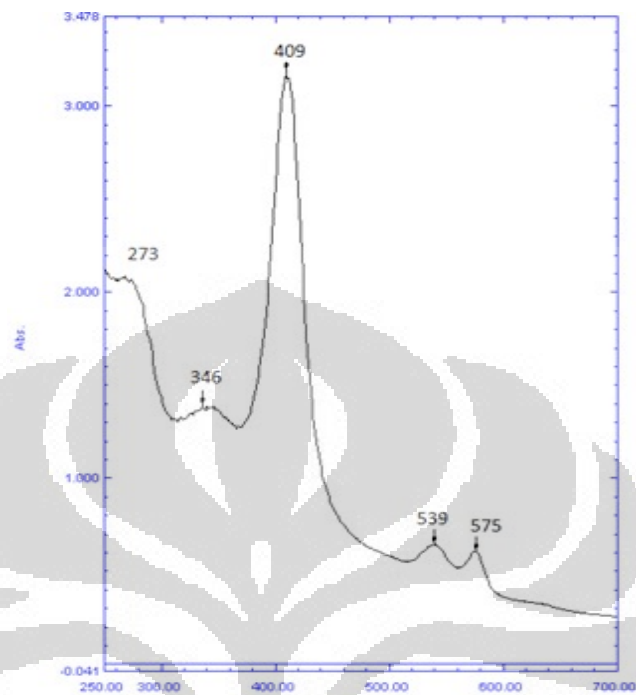
(a)



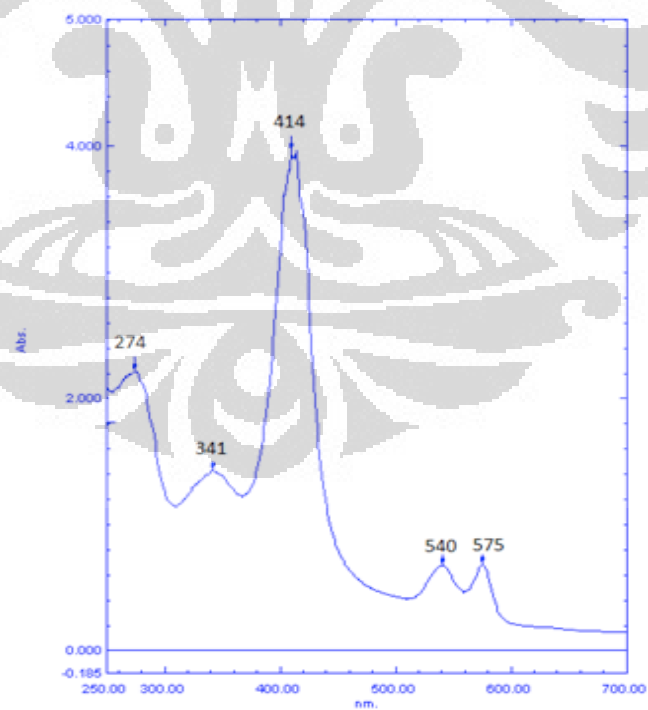
(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok III :
 Perlakuan : FeSO_4
 Mencit : HIA_3



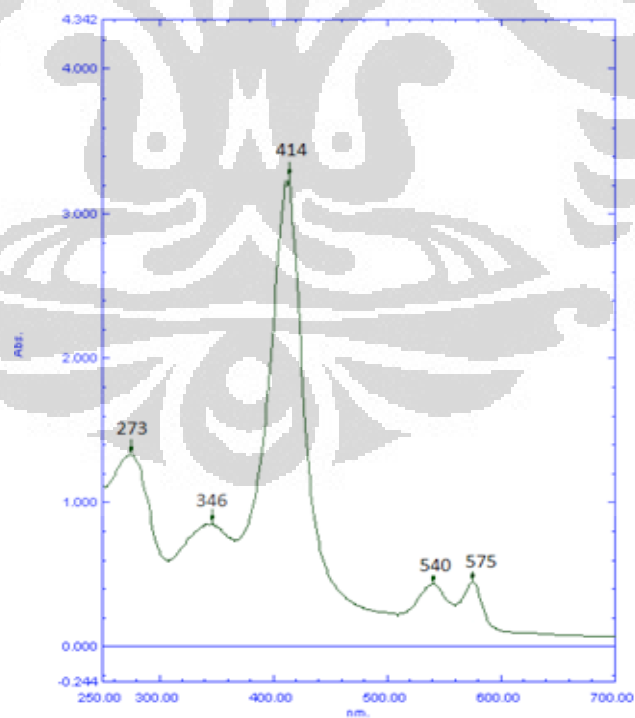
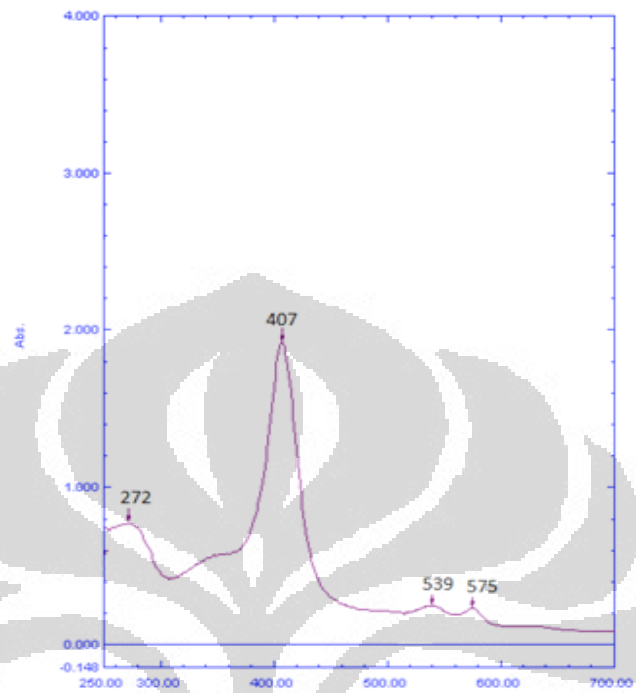
(a)



(b)

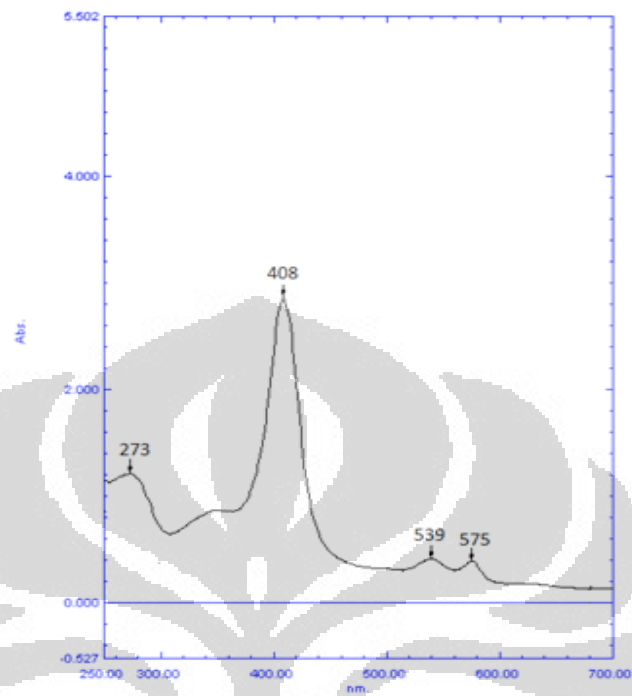
(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok III :
Perlakuan : FeSO_4
Mencit : IIB₁

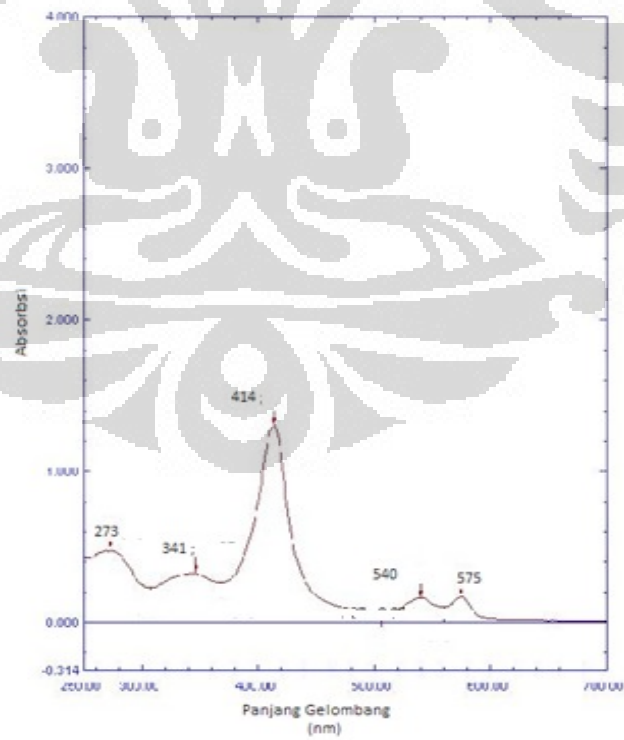


(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok III :
Perlakuan : FeSO_4
Mencit : HIB_2



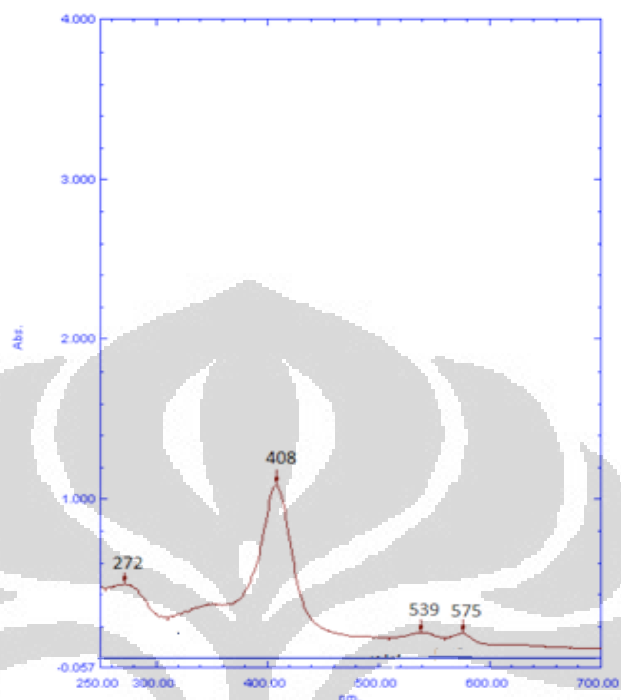
(a)



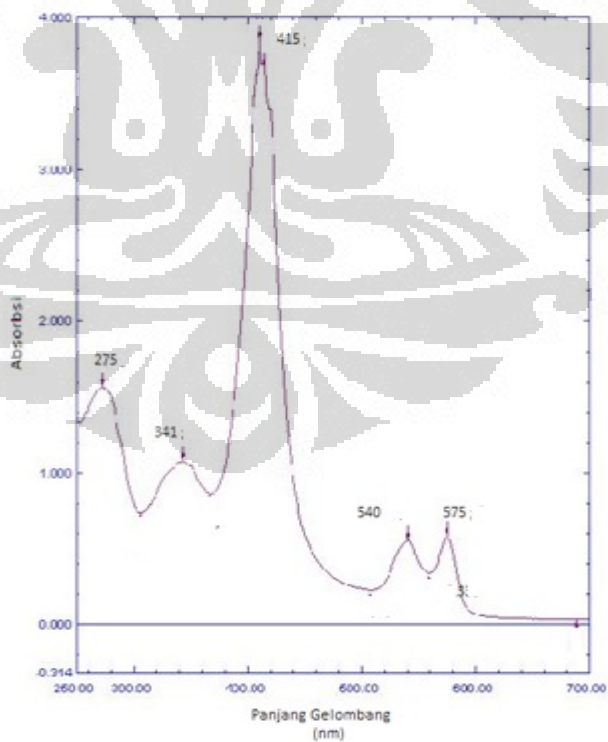
(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok III :
 Perlakuan : FeSO_4
 Mencit : IIB_3



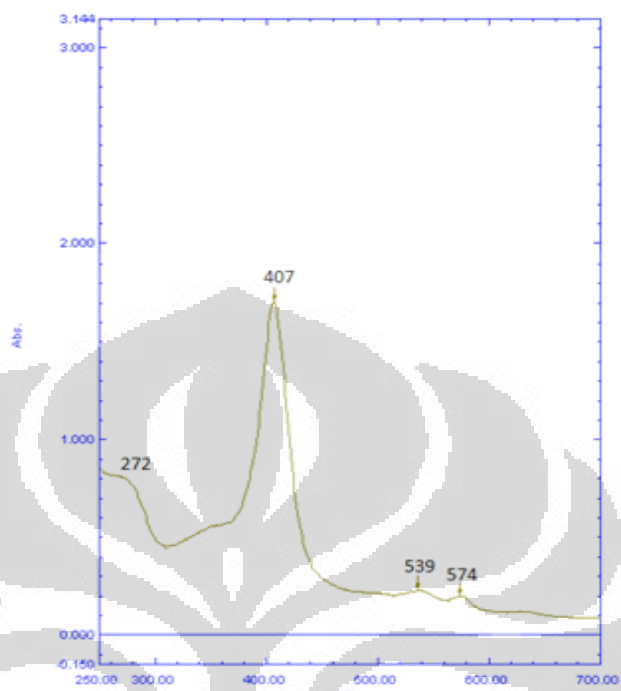
(a)



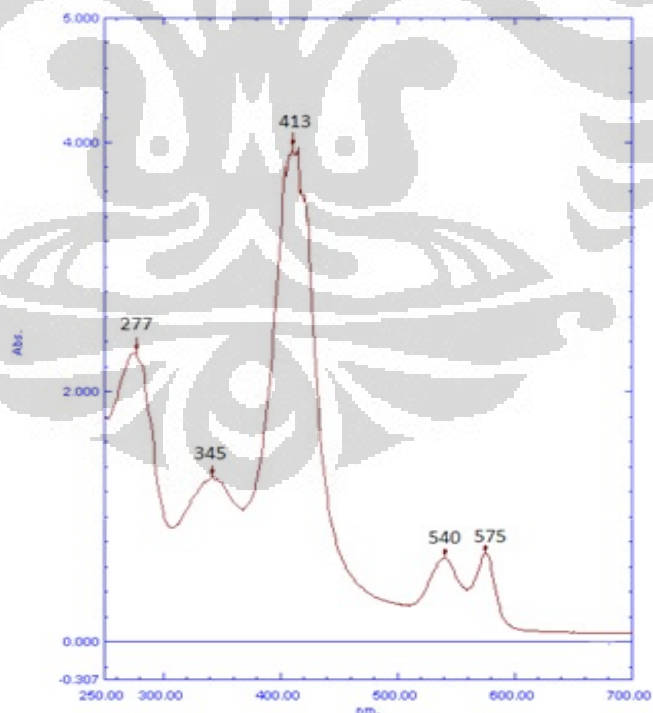
(b)

(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok IV :
Perlakuan : Sirup penambah darah
Mencit : IVA₃



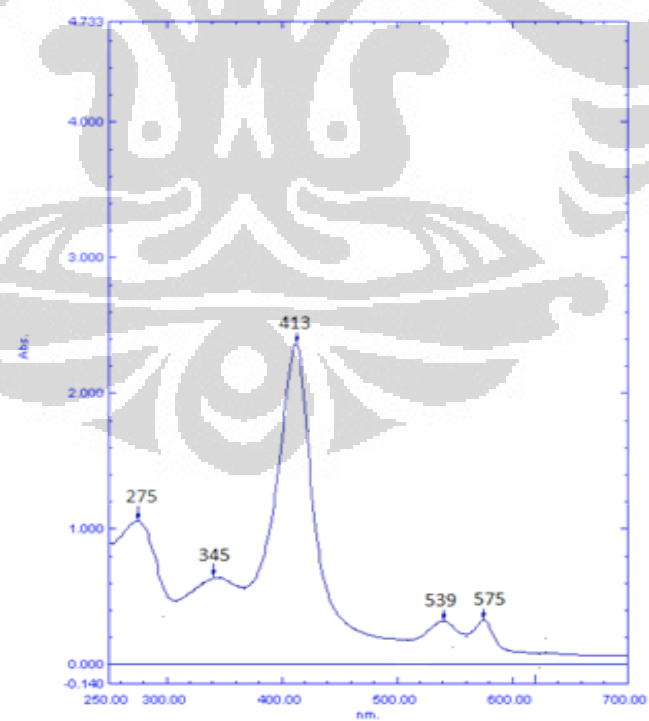
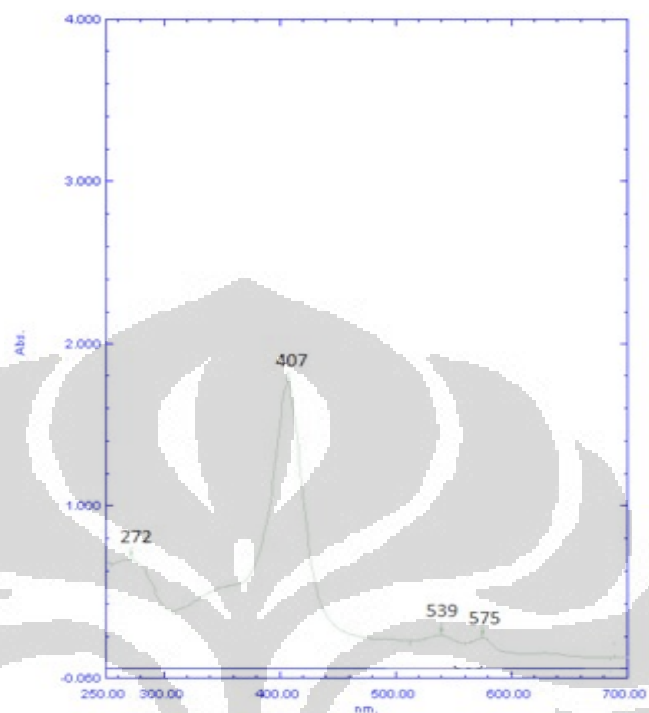
(a)



(b)

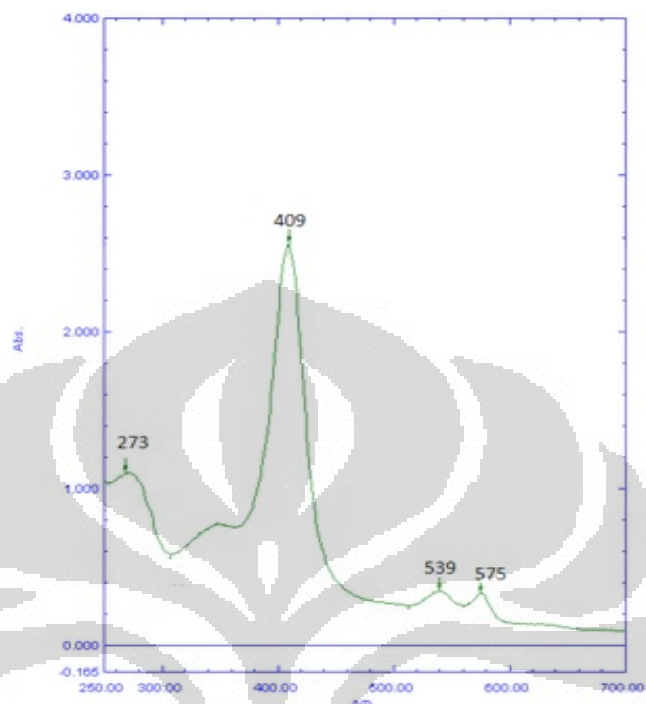
(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok IV :
Perlakuan : Sirup penambah darah
Mencit : IVA₄

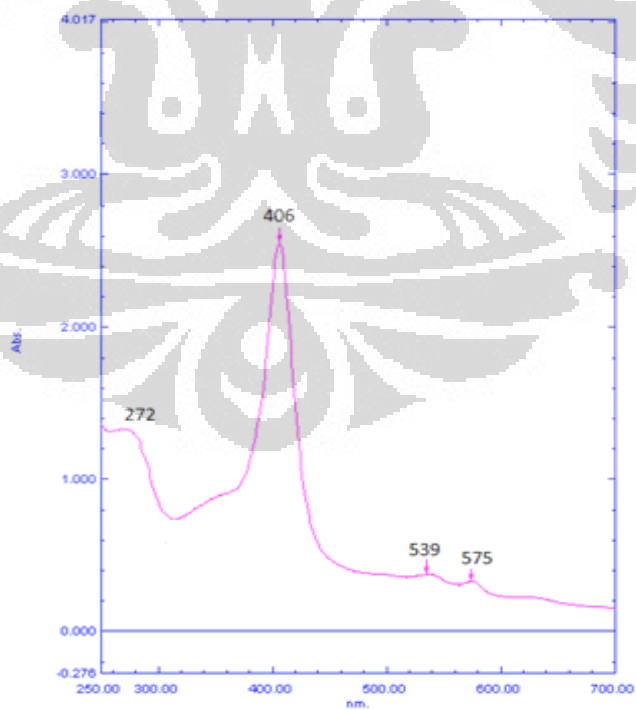


(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok IV :
Perlakuan : Sirup penambah darah
Mencit : IVB₁



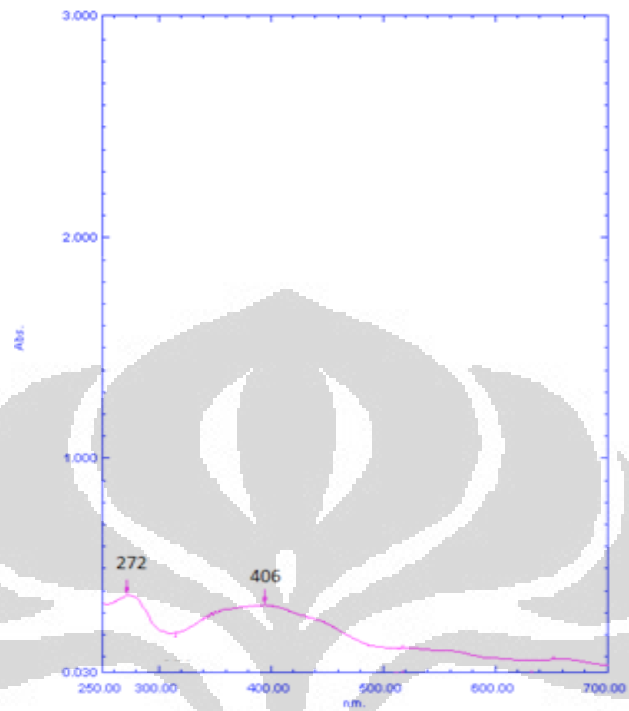
(a)



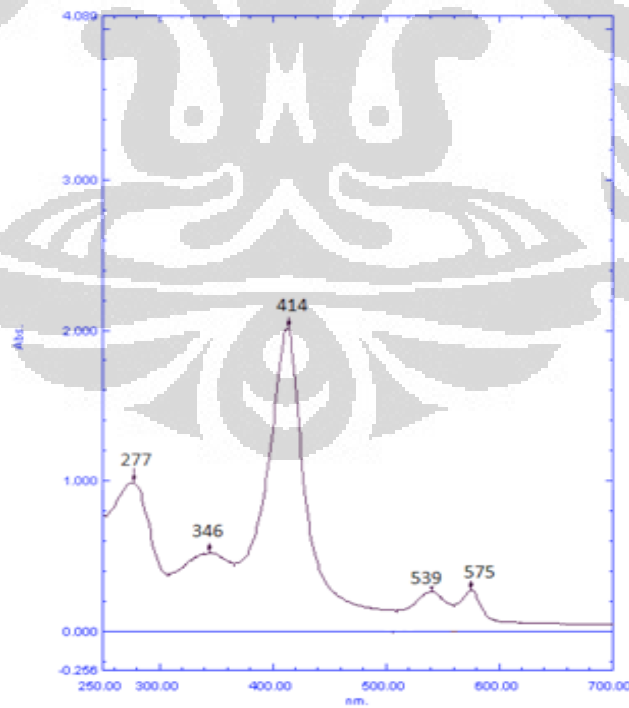
(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Kelompok IV :
 Perlakuan : Sirup penambah darah
 Mencit : IVB₂



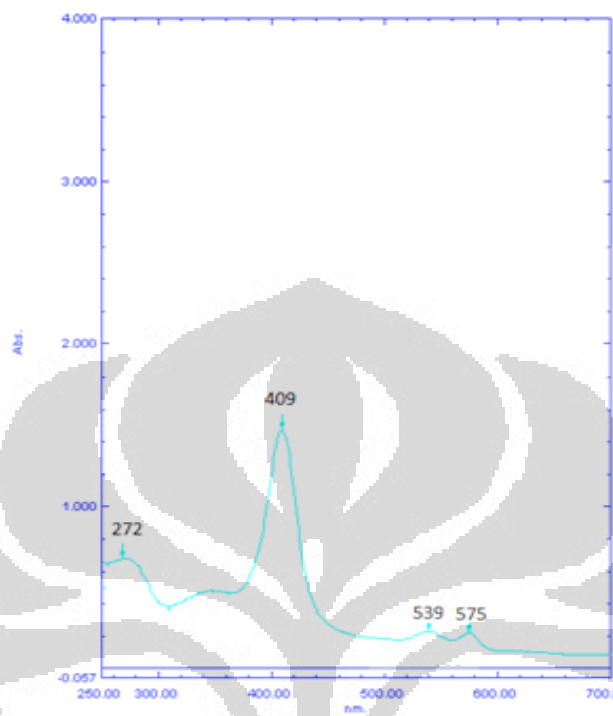
(a)



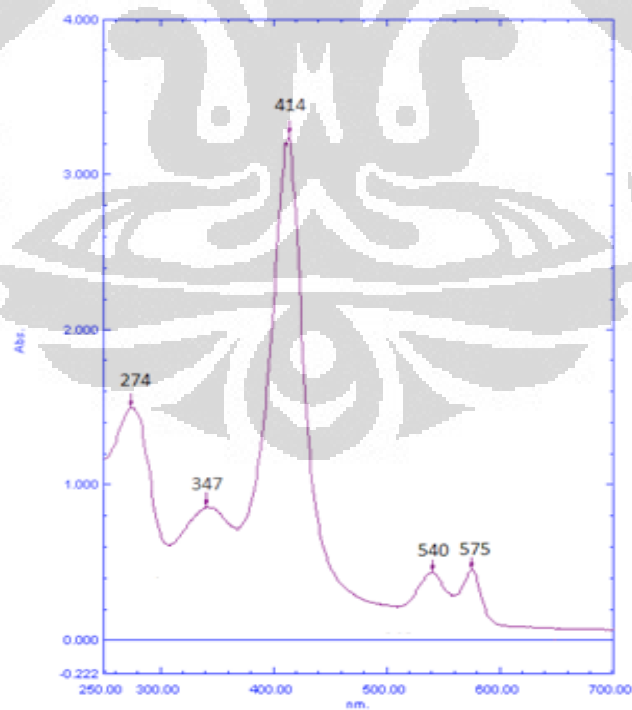
(b)

(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok IV :
 Perlakuan : Sirup penambah darah
 Mencit : IVB₃



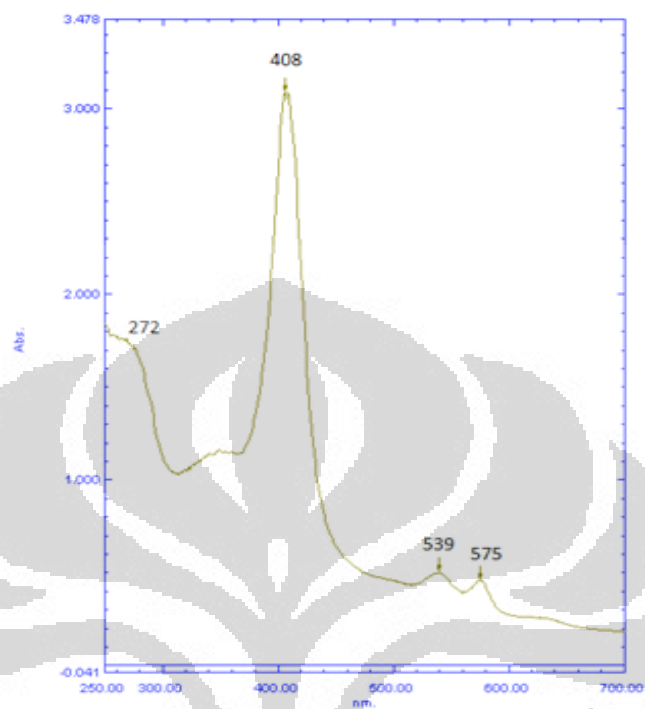
(a)



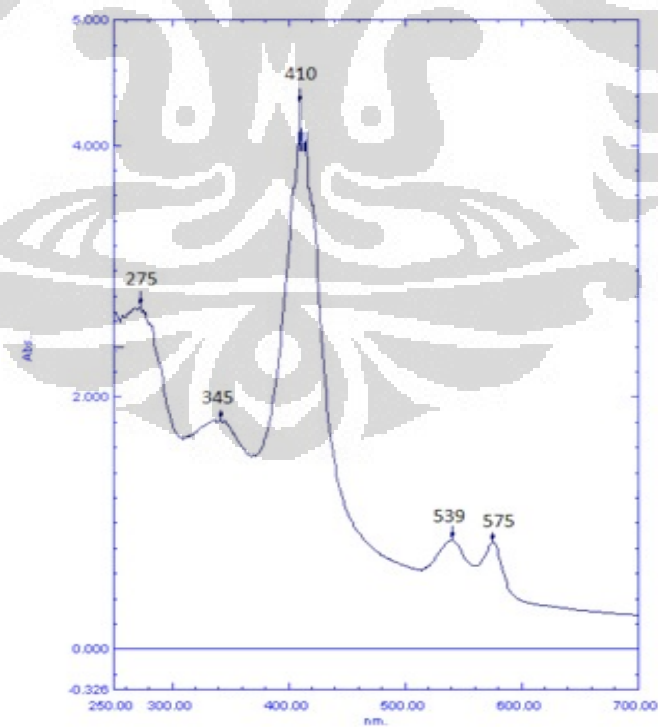
(b)

(a) Sebelum perlakuan
 (b) Setelah perlakuan

Kelompok IV :
Perlakuan : Sirup penambah darah
Mencit : IVB₄



(a)



(b)

(a) Sebelum perlakuan
(b) Setelah perlakuan

Lampiran G. Hasil identifikasil determinasi tumbuhan



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

Cibinong, *f8* Maret 2011

Nomor : 37/IPH.1.02/If.8/III/2011
Lampiran
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Purwinda Herin M.
Jl. Kedondong No. 7 Pondok Cina

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut:

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Bayam Merah	<i>Amaranthus tricolor</i> L.	Amaranthaceae
2	Daun Sirsak	<i>Annona muricata</i> L.	Annonaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

.....
Prof. Dr. Eko Baroto Walujo
NIP. 195111041975011001