

# PENGARUH EKSTRAK SEGAR DAUN ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.) ANEMIA STRAIN DDW MELALUI INDUKSI NATRIUM NITRIT ( $\text{NaNO}_2$ )

Asmitra Sembiring<sup>1</sup>, Masitta Tanjung<sup>2</sup>, dan Emita Sabri<sup>3</sup>

Departemen Biologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara, Jalan Bioteknologi No.1, Padang Bulan, Medan 20155

E-mail : asmitra\_s@yahoo.co.id

## Abstrack

The purpose of this research is to investigate the effect of fresh leave extract of rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) on erythrocyte and haemoglobin concentration in anemia male mice (*Mus musculus* L.) DDW strain induced by sodium nitrite. Completely randomized design (CRD) was used in this experiment, consisting of 5 groups. The first two groups is control induced by  $\text{NaNO}_2$  for 18 days and the second group is induced by  $\text{NaNO}_2$  for 18 days and then distilled water for 14 days, and three groups of teratment. The treatment group, divided into three classes of concentration such as; 14 mg/ml (P1), 28 mg/ml (P2) and 42 mg/ml (P3). The treatment group induced by  $\text{NaNO}_2$  first for 18 days and then healing process by extract of rosela leaves for 14 days. Each class consisted of six experiments animals. The extract was given orally 0.3 ml/day. The results indicate that leave extract affect on increasing of erythrocytes and hemoglobin concentration that have a significantly different ( $p < 0.05$ ) between control and treatments.

Keyword: anemic, erythrocytes, haemoglobin, rosela leaves.

## Pendahuluan

Kekurangan gizi masih dialami oleh sebagian masyarakat di Indonesia. Misalnya, kekurangan zat besi (Fe) yang dapat menyebabkan kadar hemoglobin berkurang. Menurut Hoffbrand *et al.* (2005), anemia didefenisikan sebagai keadaan kuantitas dan kualitas darah tidak normal yang ditunjukkan oleh ukuran atau jumlah sel darah merah dan kadar hemoglobin dalam darah berkurang.

Anemia karena kekurangan zat besi dipengaruhi juga oleh vitamin C. Vitamin C berfungsi mereduksi besi ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) dalam usus halus sehingga mudah diabsorpsi. Vitamin C juga menghambat pembentukan hemosiderin yang sulit dimobilisasi untuk membebaskan zat besi bila diperlukan oleh tubuh. Absorpsi zat besi dalam bentuk non hem meningkat empat kali lipat bila ada vitamin C. Vitamin C berperan dalam memindahkan zat besi dari transferin di dalam plasma ke feritin hati. Sebagian besar transferin darah membawa zat besi ke sumsum tulang dan bagian tubuh lainnya. Di

dalam sumsum tulang zat besi digunakan untuk membentuk hemoglobin (Almatsier, 2001). Menurut Hoffbrand *et al.* (2005), sumsum tulang memerlukan prekursor seperti zat besi, vitamin C, vitamin B12, kobalt dan hormon untuk pembentukan sel darah merah dan hemoglobin.

Zat besi (Fe) dan vitamin C merupakan faktor yang berhubungan dengan pembentukan sel darah merah dan hemoglobin dalam darah. Menurut Kristiana & Herti (2008), rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki kandungan mineral, Fe dan vitamin C paling tinggi diantara tanaman obat lainnya, seperti bayam (*Amaranthus janjeticus*), daun singkong (*Manihot esculenta*), daun katuk (*Sauropus androgynus*) dan lain sebagainya. Kandungan Fe dan vitamin C dalam daun lebih tinggi dibandingkan pada kelopak maupun bunga dari rosela tersebut.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret 2012 sampai Agustus 2012 di Laboratorium Struktur

Hewan, dan Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara Medan.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah mikroskop, masker, sarung tangan, jarum gavage, gelas beaker, jarum pentul, alat bedah, alat penghitung, gelas penutup, gelas ukur, mortar, kertas saring, haemositometer, tabung sahli, haemometer, pipet eritrosit, spatula, spit 1 ml, pipet tetes dan kamera digital. Bahan yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) strain DDW, daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.), tabung Na-EDTA, pakan PB. 551, sekam, akuades, larutan Hayem, NaNO<sub>2</sub>, dan HCL 0,1 N.

### **Metodologi Penelitian**

#### **Rancangan Penelitian**

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan (ekstrak daun rosela berdasarkan berat bahan uji yang digunakan), dan 2 kontrol yaitu kontrol blank (tanpa diberi perlakuan) dan kontrol anemia (pemberian NaNO<sub>2</sub>). Jumlah ulangan yang digunakan sebanyak 6 ekor.

#### **Prosedur Penelitian**

##### **Penyediaan Hewan Uji**

Penelitian ini menggunakan mencit jantan (*Mus musculus* L.) strain DDW yang diperoleh dari Balai Pengujian Penyidikan Veteriner (BPPV) Sumatera Utara, Medan, dengan berat badan 30 g. Mencit dimasukkan ke dalam kandang yang terbuat dari plastik masing-masing sebanyak 6 ekor yang diberi alas sekam. Untuk menjaga kebersihan kandang, pergantian sekam dilakukan minimal dua kali seminggu (Smith & Mangkoewidjojo, 1988). Pemberian pakan dilakukan secara *ad-libitum* dan diberi minum air ledeng (Hrapkiewicz & Medina, 2007).

##### **Pengambilan Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diambil secara acak dari perkebunan jalan Abdul Hakim, gang Kampung Susuk V, Medan.

##### **Pembuatan Ekstrak dan Pemberian Perlakuan**

Pembuatan ekstrak tersebut dilakukan dengan cara daun rosela ditimbang lalu dihaluskan dengan

menggunakan mortar. Kemudian dimasukkan ke dalam beaker gelas dan ditambahkan aquadest sebanyak 1 ml sebagai pelarutnya. Diaduk-aduk dan didiamkan sebentar. Kemudian disaring hingga didapatkan ekstrak daun yang dikehendaki (Ditjen POM, 1995). Ekstrak yang telah didapatkan diberikan kepada hewan uji *Mus musculus* jantan secara oral dengan menggunakan jarum *gavage*. Volume pemberian ekstrak sebanyak 0,3 ml/gBB/hari (Hrapkiewicz & Medina, 2007)

##### **Perlakuan Patologis Anemia**

Perlakuan patologis adalah melalui pemberian NaNO<sub>2</sub> dengan dosis yang digunakan pada setiap ekor yaitu 3,75 mg yang dilarutkan dalam 1 ml akuades. Dosis yang diberi sebanyak 0,3 ml/ekor/hari (Munawaroh, 2009).

##### **Pembagian Taraf Perlakuan**

Dalam penelitian ini terdapat lima taraf perlakuan dan perlakuan diberi selama 14 hari (Munawaroh, 2009). Pembagian taraf perlakuan sebagai berikut:

- Taraf I : Kontrol Anemia (pemberian NaNO<sub>2</sub>) selama 18 hari (Swenson, 1984 *dalam* Alamsyah, 2009)
- Taraf II : Kontrol Blank (pemberian NaNO<sub>2</sub> selama 18 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian pelarut (akuades) selama 14 hari)
- Taraf III : Perlakuan Anemia dan pemberian Ekstrak Daun Rosela sebanyak 14 mg/ml/ekor selama 14 hari
- Taraf IV : Perlakuan Anemia dan pemberian Ekstrak Daun Rosela sebanyak 28 mg/ml/ekor mencit selama 14 hari
- Taraf V : Perlakuan Anemia dan pemberian Ekstrak Daun Rosela sebanyak 42 mg/ml/ekor selama 14 hari

##### **Pengambilan Darah Mencit**

Setelah pemberian ekstrak daun rosela selama 14 hari, hewan uji *Mus musculus* jantan dibunuh yaitu dengan cara mendislokasi bagian leher. Lalu dibedah, dan kemudian diambil darahnya dibagian pembuluh darah diantara jantung dan hati dengan menggunakan split 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung Na-EDTA.

##### **Perhitungan Jumlah Eritrosit**

Darah mencit dihisap dengan pipet thoma sampai angka 0,5 kemudian larutan Hayem (pengencer) dihisap sampai angka 101. Selanjutnya dilakukan pengocokan selama 2 menit dengan cara kedua

ujung pipet thoma ditutup menggunakan ibu jari dan jari tengah. Cairan dalam pipet thoma dikeluarkan 1-2 tetes dan dibuang, kemudian pada tetesan selanjutnya ujung pipet mikro ditempelkan pada salah satu bilik hitung yang telah diberi gelas penutup dan kertas tissue pada sisi lainnya. Cairan dalam pipet thoma akan mengalir memenuhi bilik hitung dan selanjutnya bilik hitung diletakkan di bawah mikroskop. Jumlah eritrosit diketahui dari eritrosit yang berada di dalam 5 bilik hitung daerah R. Perhitungan dimulai dari sebelah kiri secara zigzag. Untuk menghindari perhitungan yang kurang tepat eritrosit yang ada di garis batas sebelah kiri dan atas suatu bilik kecil hitung dihitung sebagai eritrosit yang ada di dalam bilik kecil tersebut. Jumlah eritrosit diketahui dengan perhitungan sebagai berikut (Sastradipraja *et al.*, 1989).

$$\text{Jumlah Total Eritrosit} = a \times 10^4$$

Keterangan: a adalah jumlah eritrosit hasil perhitungan dalam hemositometer

### Perhitungan Kadar Hemoglobin

Metode yang digunakan untuk uji kadar hemoglobin adalah metode Sahli. Larutan HCl 0,1 N ditetaskan pada tabung Sahli sampai angka 10 atau garis bawah, kemudian sampel darah dihisap menggunakan pipet hingga mencapai batas garis 20 mm<sup>3</sup> (0,02 cc). Sampel darah segera dimasukkan ke dalam tabung dan ditunggu selama 3 menit atau hingga berubah warna menjadi coklat kehitaman akibat reaksi antara HCl dengan hemoglobin membentuk asam hematid. Larutan ditambah dengan akuades, teteskan sedikit demi sedikit sambil terus diaduk. Akuades ditambah hingga warna larutan sama dengan warna standar hemoglobinometer. Kadar hemoglobin dapat dilihat di tabung dengan satuan g/100 ml yang tertera pada tabung hemoglobin (Kosasih, 1984).

### Analisis Statistik

Data yang didapat dari setiap parameter (variabel) pengamatan dicatat dan disusun ke dalam bentuk tabel. Data kuantitatif (variabel dependen) yang didapatkan, diuji dengan bantuan program statistik komputer yakni program *SPSS release 13*. Urutan uji diawali dengan uji normalitas, uji homogenitas.

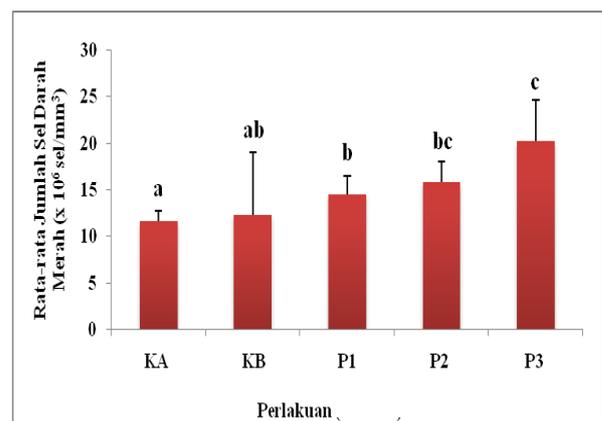
Apabila hasil uji menunjukkan tidak homogen dan normal, maka data tersebut ditransformasi dan dilanjutkan dengan uji non parametrik. Untuk

melihat perbedaan dari 2 perlakuan dilanjutkan uji Mann-Whitney Apabila hasil uji menunjukkan  $p > 0,05$  maka dilanjutkan uji sidik ragam (ANOVA). Jika berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan dengan uji analisis Post Hoc-Bonferroni taraf 5%. Untuk melihat perbedaan 2 perlakuan dilakukan dengan uji t (parametrik). Sebagai sumber keragaman dari uji sidik ragam (ANOVA) yaitu perbedaan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) berdasarkan perbedaan konsentrasi perlakuan yang diberikan.

### Hasil dan Pembahasan

#### Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit) Mencit

Hasil pengamatan terhadap jumlah sel darah merah dengan perlakuan ekstrak segar daun rosela dengan perbedaan konsentrasi telah dilakukan uji analisis statistik yang dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 1. Grafik jumlah sel darah merah mencit yang diberi ekstrak segar daun rosela pada konsentrasi yang berbeda.** KA= Kontrol Anemia (pemberian NaNO<sub>2</sub> selama 18 hari); KB= Kontrol Blank (pemberian NaNO<sub>2</sub> selama 18 hari kemudian akuades sebagai pelarut selama 14 hari); P1, P2 dan P3= Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 14, 28, 42 mg/ ml akuades; huruf yang berbeda pada perlakuan berbeda menunjukkan berbeda nyata; satuan dalam juta sel/mm<sup>3</sup>.

Dari grafik pada Gambar 1. dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah sel darah merah pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak segar daun terjadi peningkatan bila dibandingkan kelompok kontrol yaitu kontrol anemia (KA) dan kontrol blank (KB). Rata-rata jumlah eritrosit pada KA yaitu 11.575.000 sel/mm<sup>3</sup> dan KB yaitu 12.271.667 sel/mm<sup>3</sup>. Sedangkan rata-rata jumlah sel darah merah pada P1 yaitu 14.499.167 sel/mm<sup>3</sup>, pada P2 yaitu 15.865.000 sel/mm<sup>3</sup>, dan P3 yaitu 20.230.000 sel/mm<sup>3</sup>. Peningkatan eritrosit pada

KB bila dibandingkan dengan KA mungkin disebabkan karena pemberian akuades.

Hasil analisis statistik pada perlakuan dan kontrol yaitu kontrol anemia dan kontrol blank menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan jumlah eritrosit. Peningkatan jumlah sel darah merah seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak pada kelompok perlakuan. Hal ini diduga karena ada senyawa-senyawa yang terdapat pada daun rosela yang berhubungan dengan pembentukan dan pematangan eritrosit. Dari hasil uji ekstrak yang diketahui (Kristiana & Herti, 2008), daun rosela memiliki kandungan vitamin C dan zat besi yang cukup tinggi dan senyawa lainnya seperti, kalori, air, protein, betakaroten, fosfor, kalsium, tiamin, riboflavin, lemak, dan karbohidrat.

Zat besi (Fe) berperan dalam pembentukan dan pematangan sel darah merah yang dalam proses tersebut vitamin C berfungsi sebagai pemicu zat besi tersebut. Sehingga zat besi dan vitamin C saling berhubungan dalam pembentukan dan pematangan sel darah merah. Menurut Syaifuddin (2009), pada proses pembentukan sel darah merah diperlukan zat besi, vitamin B<sub>12</sub>, asam folat, dan rantai globin yang merupakan senyawa protein yang berasal dari hemositoblas.

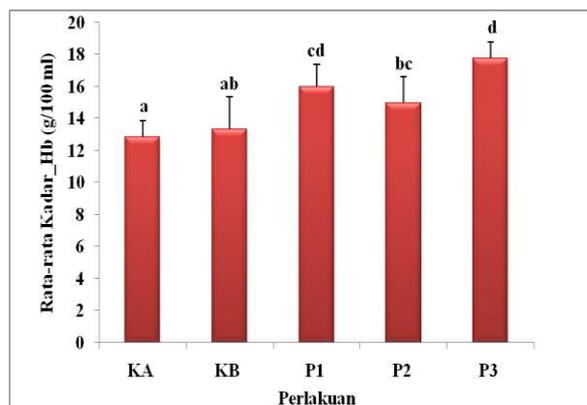
Pada proses pematangan sel eritrosit, sumsum tulang belakang memerlukan banyak prekursor lain untuk terjadinya eritropoiesis yang efektif. Prekursor tersebut meliputi zat besi (Fe), vitamin C, vitamin E, vitamin B<sub>12</sub>, tiamin, riboflavin dan oksigen (O<sub>2</sub>) yang dibutuhkan oleh hormon eritropoietin (Hoffbrand *et al.*, 2005). Dalam Ganong (1995), eritropoietin adalah hormon glikoprotein yang mengatur eritropoiesis (pembentukan sel darah merah) dan dibentuk oleh kerja dari faktor ginjal pada globulin plasma.

Menurut Almatsier (2001), di dalam sumsum tulang besi digunakan untuk membuat hemoglobin yang merupakan bagian dari sel darah merah. Sedangkan fungsi vitamin C dalam darah yaitu membantu penyerapan zat besi tersebut. Selain itu pada proses perombakan sel darah merah kembali, hati mengikat zat besi (Fe) ke transferin darah yang mengangkutnya kembali ke sumsum tulang untuk digunakan kembali membuat sel darah merah yang baru. Selain Fe, vitamin C, tiamin, riboflavin yang terdapat dalam

kandungan daun rosela yang berfungsi dalam pembentukan dan pematangan sel darah merah. Senyawa lain yang terkandung dalam daun rosela tersebut yaitu protein. Protein dalam tubuh berperan sebagai pembentuk eritrosit. Zat besi akan berasosiasi dengan molekul protein yang membentuk ferritin dan dalam keadaan transpor akan membentuk transferrin yang berfungsi mengangkut besi yang akan digunakan pada proses hematopoiesis atau pembentukan butir-butir darah (Andanna & Sri Sumarni, 2006).

### Kadar Hemoglobin (Hb) Darah Mencit

Hasil pengamatan terhadap kadar hemoglobin (Hb) dengan perlakuan ekstrak segar daun rosela dengan perbedaan konsentrasi telah dilakukan uji analisis statistik yang dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 2. Grafik kadar Hb darah mencit yang diberi ekstrak segar daun rosela pada konsentrasi yang berbeda.** KA= Kontrol Anemia (pemberian NaNO<sub>2</sub> selama 18 hari); KB= Kontrol Blank (pemberian NaNO<sub>2</sub> selama 18 hari kemudian akuades sebagai pelarut selama 14 hari); P1, P2 dan P3= Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 14, 28, 42 mg/ml akuades; huruf yang berbeda pada perlakuan berbeda menunjukkan berbeda nyata; satuan dalam g/100 ml.

Dari grafik pada Gambar 2. dapat dilihat bahwa rata-rata kadar hemoglobin (Hb) pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak segar daun rosela terjadi peningkatan bila dibandingkan kelompok kontrol yaitu kontrol anemia (KA) dan kontrol pelarut KB). Rata-rata kadar hemoglobin pada KA yaitu 12,83 g/100 ml dan KB yaitu 13,23 g/100 ml. Sedangkan kadar hemoglobin darah pada P1 yaitu 15,97 g/100 ml, pada P2 yaitu 14,97 g/100 ml, dan P3 yaitu 17,77 g/100 ml. Peningkatan hemoglobin pada KB bila dibandingkan dengan KA mungkin disebabkan karena pemberian akuades. Dalam

proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh, air mempunyai 2 fungsi utama yaitu sebagai pembawa zat-zat nutrisi seperti karbohidrat, vitamin dan mineral serta juga akan berfungsi sebagai pembawa oksigen ( $O_2$ ) ke dalam sel-sel tubuh. Selain itu, air di dalam tubuh juga akan berfungsi untuk mengeluarkan produk samping hasil metabolisme seperti karbon dioksida ( $CO_2$ ) dan juga senyawa nitrat (Irawan, 2007).

Hasil analisa statistik pada perlakuan dan kontrol menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap peningkatan kadar hemoglobin (Hb) darah mencit. Peningkatan kadar hemoglobin seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak pada kelompok perlakuan. Berdasarkan rata-rata dan uji analisis tersebut, ekstrak segar daun rosela dapat meningkatkan kadar hemoglobin mencit. Hal ini karena adanya kandungan senyawa-senyawa yang terdapat pada daun rosela mampu meningkatkan kadar hemoglobin darah mencit. Dari hasil uji ekstrak yang diketahui, daun rosela memiliki kandungan vitamin C dan zat besi yang cukup tinggi dan senyawa lainnya seperti, kalori, air, protein, betakaroten, fosfor, kalsium, tiamin, riboflavin, lemak, dan karbohidrat (Kristiana & Herti, 2008).

Hemoglobin (Hb) adalah protein kompleks yang terdiri atas protein, globin, dan pigmen hem yang mengandung zat besi. Hemoglobin berfungsi sebagai pembawa oksigen yang kaya akan zat besi dalam sel darah merah, dan oksigen dibawa dari paru-paru ke dalam jaringan (Tambayong, 2001). Hemoglobin merupakan salah satu bagian dari darah dan hemoglobin memiliki peranan penting dalam pembentukan sel darah merah (eritrosit).

Menurut Almatsier (2001), terdapat beberapa zat yang berperan dalam pembentukan hemoglobin, antara lain zat besi (Fe), protein, vitamin B6 yang berperan sebagai katalisator dalam sintesis heme di dalam molekul hemoglobin, vitamin C yang mempengaruhi absorpsi dan pelepasan besi dari transferrin ke dalam jaringan tubuh, dan vitamin E yang mempengaruhi stabilitas membran sel darah merah. Vitamin C dalam jumlah cukup dapat melawan sebagian pengaruh faktor-faktor yang menghambat penyerapan besi. Vitamin C mereduksi besi ferri ( $Fe^{3+}$ ) menjadi ferro ( $Fe^{2+}$ ) dalam usus halus sehingga mudah diabsorpsi. Vitamin C menghambat pembentukan hemosiderin yang sukar dimobilisasi untuk

membebaskan besi bila diperlukan. Absorpsi besi dalam bentuk non hem meningkat empat kali lipat bila ada vitamin C. Vitamin C berperan dalam memindahkan besi dari transferrin di dalam plasma ke feritin hati atau vitamin C berperan dalam mobilisasi simpanan zat besi (Fe). Selain itu, vitamin C mempunyai peran dalam pembentukan hemoglobin dalam darah, dimana vitamin C membantu penyerapan zat besi sehingga dapat digunakan pada proses pembantuan sel darah merah kembali (Siregar & Adelina, 2009).

Daun rosela memiliki kandungan senyawa selain vitamin C yang fungsinya berhubungan dengan pembentukan darah dan hemoglobin terdapat zat besi (Fe), protein serta beberapa kandungan senyawa lainnya yang mendukung poses pembentukan darah dan hemoglobin. Hemoglobin (Hb) merupakan pigmen eritrosit yang terdiri dari protein kompleks terkonjugasi yang mengandung besi. Protein Hb adalah globin sedangkan warna merah disebabkan oleh warna heme. Heme merupakan senyawa metabolik yang mengandung satu atom besi (Guyton & Hall, 1997). Zat besi dari heme digunakan untuk sintesis hemoglobin (Ganong, 2002).

Menurut Almatsier (2001), sebagian besar besi berada di dalam hemoglobin, yaitu molekul protein mengandung besi dari sel darah merah dan mioglobin di dalam otot. Hemoglobin didalam darah membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan karbondioksida dari sel ke paru-paru untuk dikeluarkan dari tubuh. Menurunnya kadar zat besi dalam darah akan mengakibatkan tidak tercukupinya kebutuhan akan zat besi untuk mempertahankan masa eritrosit dan akan mengakibatkan konsentrasi hemoglobin akan menjadi rendah (Jones & Wickramasinghe, 1994).

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak segar daun rosela dapat meningkatkan jumlah sel darah merah mencit jantan anemia seiring peningkatan konsentrasi ekstrak ( $P < 0,05$ ).
- b. Ekstrak segar daun rosela dapat meningkatkan kadar hemoglobin darah mencit jantan anemia ( $P < 0,05$ ).

## Daftar Pustaka

- Alamsyah, A. 2009. Gambaran Darah Mencit (*Mus musculus albinus*) Pada Proses Persembuhan Luka Yang Diberi Salep Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air rimpang Kunyit (*Curcuma longan* Linn.). [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Almatsier, S. 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. hlm. 185-253, 256.
- Andanna, D dan Sri, S. 2006. Hubungan Konsumsi Protein Hewani dan Zat Besi dengan Kadar Hemoglobin Pada Balita Usia 13-36 Bulan. *The Indonesian Journal Of Public Health* 3(1): 22.
- Chairul, Harapini., dan M., Daryati, Y. 1992. Pengaruh Ekstrak Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Terhadap Kehamilan Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Seminar Nasional Indonesia V. Pokjanas*. Bandung: Universitas Padjajaran, Bandung dan Lab Treub Puslitbang Biologi LIPI Bogor.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi Ke-4. Departemen Kesehatan Republik Indonseia. Jakarta. hlm. 223.
- Ganong, W.F. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 14. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta. hlm. 486-510.
- Ganong, W.F. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 20. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. hlm. 513.
- Guyton, A. C. dan Hall, J.E. 1997. *Fisiologi Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. hlm. 69-75.
- Hoffbrand, A. V., J. E. Pettit., dan P. A. H. Moss. 2005. *Kapita Selekta Haematologi*. Edisi 4. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. hlm. 1-3.
- Hrapkiewicz, K., dan Medina, L. 2007. *Laboratory Animal*. Blackwell Publishing. USA. hlm. 46, 51.
- Hutapea, A. 2006. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. amarum) Terhadap Gambaran Histologis Ovarium Mencit Betina (*Mus musculus*) Strain DDW. [Skripsi]. Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Irawan, M. 2007. Cairan Tubuh, Elektrolit dan Mineral. *Journal Of Sport Science Brief* 1(1): 1.
- Jones, N. C., dan S. N. Wicramasinghe. 1994. *Catatan Kuliah Hematologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. hlm. 69.
- Kosasih, E. 1984. *Hematologi Dalam Praktek*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan. hlm. 8, 69.
- Kristiana, L dan Herti M. 2008. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. PT. AgroMedia Pustaka. Jakarta. hlm. 3-7, 25-30.
- Magdalena, C. 2009. Analisis Kandungan Nitrit dan Pewarna Merah Pada Daging Burger Yang Dijual di Grosir Bahan Baku Burger Di Kota Medan Tahun 2009. [Skripsi]. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Munawaroh, S. 2009. Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Dalam Darah Tikus Putih Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Anemia. [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Muwakdiah, 2009. Efek Suplementasi Fe, Asam folat dan Vitamin B12 Terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Pekerja Wanita (Di Kabupaten Sukoharjo). [Tesis]. Semarang: Magister Epidemiologi Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.
- Sari, D. 2009. Profil Darah Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) Yang Diberi Pakan Berenergi Tinggi Pada Periode Obesitas Empat Bulan Kemudian. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Siregar, Y.I dan Adelina. 2009. Pengaruh Vitamin C Terhadap Peningkatan Hemoglobin Darah dan Kelulusanhidup Benih Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Natur Indonesia* 12(1): 78-79.
- Smith, J. B., dan Mangkowitz, S. 1988. Pemeliharaan, Pembiakan dan penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Universitas Indonesia Press. Jakarta. hlm. 38, 43.
- Syaifuddin. 2009. *Fisiologi Tubuh Manusia*. Edisi Kedua. Salemba Medika. Jakarta. hlm. 25-28.
- Tambayong, J. 2001. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Keperawatan*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. hlm. 367-39.

