



**KEMAMPUAN FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DALAM MENINGKATAN KADAR
HEMOGLOBIN TIKUS YANG DIINDUKSI NaNO_2**

Skripsi
Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi

Disusun Oleh:
Devy Efrita
1504015101




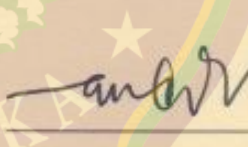





PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2019

Skripsi dengan Judul

**KEMAMPUAN FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL70% DAUN ROSELA
(*Hibiscus sabdariffa* L.) DALAM MENINGKATAN KADAR
HEMOGLOBIN TIKUS YANG DIINDUKSI NaNO_2**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Devy Efrita, NIM 1504015101

	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Ketua</u> Wakil Dekan I Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt.		<u>2/10/19</u>
<u>Penguji I</u> Elly Wardani, M.Farm., Apt.		<u>19/09/19</u>
<u>Penguji II</u> Rini Prastiwi, M.Si., Apt.		<u>31-08-19</u>
<u>Pembimbing I</u> Ema Dewanti, M.Si.		<u>20/09/19</u>
<u>Pembimbing II</u> Ani Pahriyani, M. Sc., Apt.		<u>20-09-19</u>
Mengetahui:		<u>20/09/19</u>
Ketua Program Studi Kori Yati, M.Farm., Apt.		<u>20/09/19</u>

Dinyatakan lulus pada tanggal 24 Agustus 2019

ABSTRAK

KEMAMPUAN FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL70% DAUN ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DALAM MENINGKATAN KADAR HEMOGLOBIN TIKUS YANG DIINDUKSI NaNO_2

Devy Efrita
1504015101

Daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat sehingga memiliki peluang besar untuk penggunaan terapi secara modern. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi NaNO_2 . Pengujian dilakukan dengan membagi 25 ekor tikus ke dalam 5 kelompok, untuk kontrol normal diberi pakan standar, kontrol negatif diinduksi NaNO_2 , kelompok fraksi n-heksan,etil asetat dan air yang diberi dosis fraksi 1,7412 mg/200 g BB. Pengambilan darah dilakukan melalui *vena lateralis*, kemudian diukur kadar hemoglobin menggunakan *hematology analyzer*. Data peningkatan kadar hemoglobin dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga kelompok fraksi daun rosela dengan dosis 1,7412 mg/200 g BB dapat meningkatkan kadar hemoglobin tikus yang diinduksi NaNO_2 hingga mencapai kadar normal hemoglobin. Fraksi etil asetat daun rosela dengan dosis 1,7412 mg/200 g BB dapat meningkatkan kadar hemoglobin lebih besar jika dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi air.

Kata Kunci: Daun rosela, hemoglobin, NaNO_2

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirabbil'alamiin, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW. sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“KEMAMPUAN FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DALAM MENINGKATKAN KADAR HEMOGLOBIN TIKUS YANG DIINDUKSI NaNO_2 ”**.

Penulisan skripsi ini ditujukan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt., selaku Dekan FFS UHAMKA.
2. Bapak Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt., selaku Wakil Dekan I FFS UHAMKA.
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si., selaku Wakil Dekan II FFS UHAMKA.
4. Ibu Ari Widayanti, M.Farm., Apt., selaku Wakil Dekan III FFS UHAMKA.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag., selaku Wakil Dekan IV FFS UHAMKA.
6. Ibu Kori Yati, M.Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi FFS UHAMKA.
7. Ibu Ema Dewanti, M.Si selaku pembimbing I dan Ibu Ani Pahriyani, M.Sc., Apt., selaku pembimbing II yang senantiasa membantu dalam memberikan bimbingan, waktu, arahan, serta berbagai dukungan yang sangat berarti selama pengerjaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
8. Ibu Maharadingga, M.Si selaku pembimbing akademik yang telah senantiasa memberikan motivasi dan dukungan agar dapat menyelesaikan studi dengan baik.
9. Ibu Lis Rosmanah, S.Si, M.Si. selaku penanggung jawab Laboratorium Patologi Klinik PSSP IPB-Bogor yang telah membantu penulis selama penelitian.
10. Seluruh dosen yang telah memberi ilmu dan mengarahkan selama masa perkuliahan.
11. Ayahanda Rahmat Batubara, Ibunda Soleha Nasution, dan ketiga adik (Erni Elida Batubara, Zainal Arifin Batubara, dan Nurul Khafifah Batubara) atas doa, kasih sayang, dukungan semangat dan motivasi kepada ananda, baik moril maupun materi.
12. Keluarga IMM, teman-teman DANDELION dan seluruh angkatan 2015 yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah bersama-sama dalam menimba ilmu di FFS UHAMKA yang secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan bantuan dan dorongan semangatnya kepada penulis.
13. Seluruh dosen penanggungjawab Laboratorium dan Kepala Laboratorium yang telah membantu dalam perizinan dan peminjaman tempat serta alat selama penelitian.

14. Pimpinan dan seluruh staf kesekretariatan yang telah membantu segala administrasi yang berkaitan dengan skripsi ini dan telah banyak membantu dalam penelitian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu pengetahuan dan kemampuan penulis. Untuk itu segala kritik dan saran dari pembaca sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

Jakarta, Juni 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Hemoglobin	4
2. Ekstraksi dan Fraksinasi	5
3. Tanaman Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	6
4. Natrium Nitrit (NaNO ₂)	7
5. Hewan Percobaan	7
6. Metode Pengukuran Hemoglobin	8
B. Kerangka Berfikir	8
C. Hipotesis	9
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	10
A. Tempat dan Jadwal Penelitian	10
1. Tempat Penelitian	10
2. Waktu Penelitian	10
B. Pola Penelitian	10
C. Cara Penelitian	10
1. Bahan Penelitian	10
2. Alat Penelitian	11
3. Posedur Penelitian	11
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
A. Hasil Determinasi Daun Rosela	19
B. Hasil Pengolahan Simplisia Daun Rosela	19
C. Hasil Ekstraksi Daun Rosela	20
D. Hasil Fraksinasi Daun Rosela	21
E. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Mutu Ekstrak dan Fraksi	22
F. Hasil Skrining Fitokimia	24
G. Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin	26
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	32
A. Simpulan	32
B. Saran	32

DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

33
35



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela	14
Tabel 2. Prosedur Kerja Uji Peningkatan Kadar Hemoglobin Masing-masing Kelompok Perlakuan	17
Tabel 3. Hasil Pengolahan Simplisia Daun Rosela	19
Tabel 4. Hasil Ekstraksi Daun Rosela	20
Tabel 5. Hasil Fraksinasi Daun Rosela	21
Tabel 6. Hasil Uji Organoleptik Daun Rosela	23
Tabel 7. Hasil Susut Pengeringan Daun Rosela	23
Tabel 8. Hasil Pengujian Kadar Abu Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	24
Tabel 9. Hasil Skrining Fitokimia Daun Rosela	24
Tabel 10. Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin	26
Tabel 11. Gambar Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela	50
Tabel 12. Hasil Susut Pengeringan Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela	61
Tabel 13. Perhitungan Kadar Abu Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	61
Tabel 14. Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin	62



DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Grafik Rata-rata Presentase Peningkatan Kadar Hemoglobin	26
Gambar 2.	Skema Penelitian	35
Gambar 3.	Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	36
Gambar 4.	Skema Pembuatan Fraksinasi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	37
Gambar 5.	Skema Uji Aktivitas Fraksi Daun Rosela Terhadap Kadar Hemoglobin	38
Gambar 6.	Tanaman Rosela	44
Gambar 7.	Daun Rosela	44
Gambar 8.	NaNO ₂	44
Gambar 9.	Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	44
Gambar 10.	Fraksinasi Fase <i>n</i> -Heksan dengan <i>Aquadest</i>	44
Gambar 11.	Fraksi Kental <i>n</i> -Heksan	44
Gambar 12.	Fraksinasi Fase Etil Asetat dengan <i>Aquadest</i>	45
Gambar 13.	Fraksi Kental Etil Asetat	45
Gambar 14.	Fraksi Kental Air	45
Gambar 15.	<i>Rotary Evaporator</i>	45
Gambar 16.	<i>Waterbath</i>	45
Gambar 17.	Tikus Putih Jantan	45
Gambar 18.	Timbangan Tikus	46
Gambar 19.	Sonde Tikus	46
Gambar 20.	Gunting Bedah	46
Gambar 21.	Holder Tikus	46
Gambar 22.	<i>Vaccute</i> Kosong	46
Gambar 23.	<i>Vaccute</i> +Darah	46
Gambar 24.	<i>Hematology Analyzer</i>	47
Gambar 25.	<i>Moisture Balance</i>	47
Gambar 26.	Tanur	47
Gambar 27.	Daun Rosela Basah	47
Gambar 28.	Daun Rosela Kering	47
Gambar 29.	Serbuk Daun Rosela	47
Gambar 30.	Toples Maserasi	48
Gambar 31.	Ayakan Serbuk	48
Gambar 32.	Blender Daun Rosela	48
Gambar 33.	Tikus Dimasukkan ke dalam Holder Tikus	49
Gambar 34.	Ekor Tikus Dimasukkan ke dalam Air Hangat	49
Gambar 35.	Pemotongan Ekor Tikus dengan Gunting Bedah	49
Gambar 36.	Darah Ditampung pada <i>Vaccute</i>	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Penelitian	35
Lampiran 2. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	36
Lampiran 3. Skema Pembuatan Fraksinasi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	37
Lampiran 4. Skema Uji Aktivitas Fraksi Daun Rosela Terhadap Kadar Hemoglobin	38
Lampiran 5. Konversi Dosis Antarspesies Berdasarkan Luas Permukaan Tubuh	39
Lampiran 6. Surat Kode Etik Penelitian	40
Lampiran 7. Hasil Determinasi Tanaman Rosela	41
Lampiran 8. Surat Keterangan Tikus Putih	42
Lampiran 9. <i>Certificate of Analysis</i> NaNO ₂	43
Lampiran 10. Alat dan Bahan Penelitian	44
Lampiran 11. Pengambilan Darah	49
Lampiran 12. Penapisan Fitokimia	50
Lampiran 13. Perhitungan Pembuatan Sediaan dan Volume Pemberian Sediaan	58
Lampiran 14. Perhitungan Persen Rendemen, Susut Pengeringan dan Kadar Abu Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela	60
Lampiran 15. Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin Menggunakan <i>Hematology Analyzer</i>	62
Lampiran 16. Hasil Uji Statistik Kadar Hemoglobin	63

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hemoglobin merupakan protein kompleks yang mengandung zat besi (Fe) dan terdapat di dalam eritrosit. Fungsi utama hemoglobin adalah mengikat oksigen (O₂) dan menukarkannya dengan karbondioksida (CO₂) di jaringan untuk dikeluarkan melalui paru-paru (Nugraha 2017). Hemoglobin mampu mengangkut dan membongkar oksigen ke jaringan di daerah yang memiliki afinitas oksigennya rendah. Selain itu struktur hemoglobin mampu menarik CO₂ dari jaringan, serta menjaga darah pada pH yang seimbang. Jumlah hemoglobin normal pada anak-anak umur 6 bulan s/d 14 tahun, wanita hamil dan wanita dewasa yaitu 11-12 g/dl, sedangkan laki-laki dewasa 13 g/dl. Apabila kadar hemoglobin telah turun di bawah 7 g/dl dikategorikan sebagai anemia (Kiswari 2014).

Anemia merupakan penurunan jumlah massa eritrosit dalam darah dibawah jumlah normal. Penurunan jumlah eritrosit disebabkan karena gangguan pembentukan eritrosit, peningkatan dekstruksi eritrosit, dan penurunan kadar hemoglobin. Akibat turunnya jumlah eritrosit dalam darah menyebabkan hemoglobin tidak dapat memenuhi fungsinya untuk membawa oksigen dalam jumlah cukup ke jaringan perifer. Anemia merupakan kelainan yang sangat sering dijumpai baik di klinik maupun di lapangan. Hal ini umumnya disebabkan oleh makanan yang dikonsumsi tidak cukup mengandung zat besi. Diperkirakan lebih dari 30% penduduk dunia atau 1500 juta orang menderita anemia dengan sebagian besar diantaranya negara berkembang dan tinggal di daerah tropik (Bakta 2015).

Asia Tenggara merupakan salah satu wilayah dengan kadar rata-rata hemoglobin terendah dan prevalensi anemia tertinggi daripada wilayah lain menurut laporan WHO pada tahun 2011. Sebanyak 96,7 juta wanita dan anak-anak serta 202,2 juta wanita usia produksi mengalami anemia di Asia Tenggara. Sedangkan di Indonesia sendiri menurut data Riskesdas (2013) prevalensi anemia pada balita cukup tinggi yaitu 28,1% dan mengalami penurunan pada anak sekolah, remaja sampai dewasa muda (34 tahun). Namun, terjadi peningkatan jumlah kembali pada umur yang lebih tinggi yaitu pada usia >75 tahun dengan prevalensi sebesar 46,0%. Tingginya prevalensi anemia dapat ditangani dengan

meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah hingga mencapai kadar hemoglobin normal. Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk meningkatkan kadar hemoglobin adalah rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman yang berasal dari keluarga *Malvaceae* dan dapat ditanam dengan baik di banyak negara. Tanaman rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) sering digunakan dalam pengobatan tradisional karena kaya akan senyawa fitokimia yang bermanfaat sehingga memiliki peluang yang sangat besar untuk penggunaan terapi secara modern. Hampir seluruh bagian tanaman rosela dapat digunakan sebagai pengobatan, salah satu bagian yang dapat digunakan adalah daun. Daun rosela merupakan sumber untuk berbagai nutrisi seperti protein, lemak, karbohidrat, fosfor, zat besi, β -karoten, dan riboflavin. Rosela juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, saponin, steroid, terpenoid dan fenol. Penelitian daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) banyak dilakukan karena penggunaannya yang memiliki berbagai manfaat, salah satunya adalah untuk meningkatkan kadar hemoglobin (Riaz 2018).

Penelitian yang dilakukan Sembiring dkk (2012) terhadap ekstrak daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dapat meningkatkan kadar eritrosit dan hemoglobin pada mencit. Pemberian ekstrak daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) 14 mg/20 g BB pada hewan coba dapat meningkatkan rata-rata jumlah sel darah merah sebesar 14.499.167 sel/mm³ yang diuji coba pada mencit. Penelitian tersebut juga menunjukkan rata-rata kadar hemoglobin darah sebesar 15,97 g/dl. Selain itu, Munawaroh (2009) melaporkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan dosis 0,18 g/ekor/hari pada tikus putih dapat meningkatkan rata-rata kadar hemoglobin sebesar 16,3 g/dl. Hasil penelitian Pratiwi (2016) didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada dosis 140 mg/200g BB dapat meningkatkan kadar trombosit pada tikus putih jantan sebesar 180.586 sel/mm³. Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela (*Hibiscus sabdariffa*L.) dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi NaNO₂. Fraksinasi yang dilakukan merupakan pemisahan secara ekstraksi cair-cair untuk memisahkan golongan

senyawa berdasarkan polaritasnya dari ekstrak yang diperoleh. Fraksinasi pada penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan variasi pelarut berupa n-heksan, etil asetat, dan air yang lebih baik dalam meningkatkan kadar hemoglobin tikus anemia.

B. Permasalahan Penelitian

Anemia merupakan penurunan jumlah massa eritrosit dalam darah dibawah jumlah normal, yang menyebabkan hemoglobin tidak dapat memenuhi fungsinya untuk membawa oksigen dalam jumlah yang cukup ke jaringan perifer. Prevalensi anemia yang terjadi di Asia Tenggara dan Indonesia cukup tinggi. Kasus ini umumnya disebabkan oleh makanan yang dikonsumsi tidak cukup mengandung zat besi sehingga tidak dapat memenuhi kebutuhan hemoglobin untuk mengikat dan mengirim oksigen ke jaringan perifer. Daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki manfaat yang diduga dapat meningkatkan kadar hemoglobin, karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah kemampuan fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi NaNO_2 ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi NaNO_2 .

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat tentang khasiat dan penggunaan daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang dapat dijadikan sebagai alternatif dalam meningkatkan kadar hemoglobin untuk pengobatan anemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullohahi M, Khasar MR. 2014. Sodium Nitrate. Dalam: *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier, Belanda. Hlm. 334-335
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI. 2011. *Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI; Hlm. 119-120
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI. 2012. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI; Hlm. 5
- Bakta IM. 2015. *Hematologi Klinik Ringkas*. EGC. Jakarta. Hlm. 26, 45, 98-99
- Bakta IM. 2015. Pendekatan Terhadap Pasien Anemia : Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI. Dalam: *Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI*. Internal Publishing, Jakarta. Hlm. 2577—2579
- Brahma J, Singh B, Rethy P. 2014. Bioactive and Nutraceutical Compound Manipulation in Hibiscus sabdariffa L. Leaves : a Common Undershrub Consumed by The Bodo Tribes of BTC, Assam, India. Dalam: *Internasional Research Journal of Pharmacy*, India. Hlm. 463
- Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. 2014. Hibiscus sabdariffa L. A Phytochemical and Pharmacological review. Dalam: *Journal of Food Chemistry*, Germand. Hlm. 428
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 1, 11, 13,17, 39
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi 1. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI; Hlm. xxv, 169, 174-175
- Gad SC. 2014. Aniline. Dalam: *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier, Belanda. Hlm. 240
- Hanani E. 2015. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta. Hlm. 18, 69-70, 83, 89, 112, 114, 156-157, 202, 232-233
- Jaiswal A, Ganeshpurkar A, Awasthi A, Bansal D, Dubey N. 2014. Protective Effects of Beetroot Extract against Phenyl Hydrazine Induced Anemia in Rats. Dalam: *Original Article*. Phcog J, India. Hlm. 2
- Kementrian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar: Riskesdas 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; Hlm. 257
- Kiswari R. 2014. *Hematologi & Transfusi*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Hlm. 19—21, 193
- Kumoro AC. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif Dari Tanaman Obat*. Plantaxia. Yogyakarta. Hlm. 16—18

- Kurniawan FB. 2016. *Hematologi : Praktikum Analisa Kesehatan*. EGC. Jakarta. Hlm. 9
- Kusumawati D. 2016. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Hlm. 9
- Mettler-Toledo. 2011. *Operating Instructions Moisture Analyzer HB43-S*. Switzerland: Mettler-ToledoAG Laboratory & Weighing Technologies; Hlm. 6, 30
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Makassar. Hlm.362
- Munawaroh S. 2009. Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit Dalam Kadar Hemoglobin (Hb) Dalam Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus Nurvegicus*) Anemia. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang. Hlm 10-11
- Nihon Kohden. 2002. *For Veteriner Use Celltac α Automated Hematology Analyzer MEK-6450*. Nihon Kohde. Eropa. Hlm 10.4
- Nugraha G. 2017. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar Edisi 2*. Trans Info Media. Jakarta. Hlm. 11-12, 64, 69
- Oktaviani T, Megantara S. 2018. Review: Aktivitas Farmakologi Ekstrak Rosella. *Farmaka*, Bandung. Hlm. 347
- Pratiwi L. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L. *Folium*) Terhadap Peningkatan Jumlah Trombosit Tikus Putih Jantan yang Dinduksi Heparin. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta. Hlm. 16, 21, 29
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 2016. *Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bandung: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian; Hlm. 1
- Sembiring A, Tanjung M, Sabri E. 2012. Pengaruh Ekstrak Segar Daun Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Mencit Jantan (*Mus Musculus* L.) *Strain DDW* Melalui Induksi Natrium Nitrit (NaNO₂). Dalam: *Saintia Biologi*. Neliti, Australia. Hlm. 61—64
- Riaz G, Chopra R. 2018. A Review on Phytochemistry and Therapeutic Uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Dalam: *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Elsevier, Belanda. Hlm.575, 577-578,581
- World Health Organization. 2011. *The Global Prevalence of Anemia in 2011*. Switzerland: World Health Organization; Hlm. 4