



**UJI AKTIVITAS FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP PENINGKATAN JUMLAH
ERITROSIT TIKUS PUTIH JANTAN ANEMIA**

Skripsi
Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi

Disusun Oleh:
Nafa Widya Anggraeni
1504015253

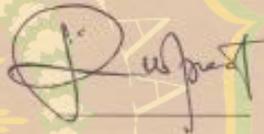
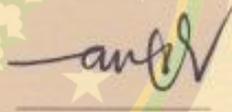


PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2019

Skripsi dengan Judul

**UJI AKTIVITAS FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP PENINGKATAN JUMLAH
ERITROSIT TIKUS PUTIH JANTAN ANEMIA**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh :
Nafa Widya Anggraeni, NIM 1504015253

	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Ketua</u> <u>Wakil Dekan I</u> Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt		<u>3/10/19</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>
<u>Mengetahui:</u> Ketua Program Studi Farmasi Kori Yati, M. Farm., Apt		<u>20/09/19</u>

Dinyatakan Lulus pada tanggal : 24 Agustus 2019

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP PENINGKATAN JUMLAH ERITROSIT TIKUS PUTIH JANTAN ANEMIA

Nafa Widya Anggraeni
1504015253

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

Kata Kunci: Eritrosit, anemia, variasi fraksi daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.), NaNO₂.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim

Alhamdulillah *rabbil'alam*, segala puji dan syukur penulis haturkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan inayah- Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“UJI AKTIVITAS FRAKSI DARI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP PENINGKATAN JUMLAH ERITROSIT TIKUS PUTIH JANTAN ANEMIA”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Sehingga pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ayahanda Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt selaku Dekan FFS UHAMKA.
2. Ayahanda Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt selaku Wakil Dekan I FFS UHAMKA.
3. Ibunda Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si selaku Wakil Dekan II FFS UHAMKA.
4. Ibunda Ari Widayanti, M.Farm., Apt., selaku Wakil Dekan III FFS UHAMKA.
5. Ayahanda Anang Rohwiyono, M.Ag., selaku Wakil Dekan IV FFS UHAMKA.
6. Ibunda Kori Yati, M.Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi FFS UHAMKA.
7. Ibunda Ema Dewanti, M.Si., selaku Pembimbing I dan ibunda Ani Pahriyani, M.Sc., Apt., selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan masukan kepada penulis selama penulisan proposal skripsi, penelitian dan penulisan skripsi ini.
8. Ibunda Anisa Amalia, M.Farm., selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan masukan kepada penulis selama menempuh pendidikan di FFS UHAMKA.
9. Ibunda Lis Rosmanah, S.Si., M.Si., selaku penanggung jawab lab patologi klinik PSSP IPB- Bogor yang telah membantu penulis selama penelitian.
10. Bapak dan ibu Dosen FFS UHAMKA yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah mendidik dan membina penulis dengan ilmu yang bermanfaat selama menempuh pendidikan di FFS UHAMKA.
11. Karyawan dan Staff Tata Usaha FFS UHAMKA serta seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam mencapai gelar ini.
12. Kedua orang tua tercinta Ayahanda Waluyo, S.Kep. dan Ibunda Yati Heryati, Amd., serta kedua adik tersayang Nadya Dwi Anggini dan Nazwa Amalia Nabilah yang tiada henti memberi semangat, doa dan dukungan kepada penulis serta bantuan baik secara moril dan materil.
13. Teman seperjuangan penelitian Devy Efrita, yang tiada henti memberikan bantuan baik secara tenaga maupun pemikiran sejak awal hingga saat ini.
14. Sahabat-sahabat di medan perjuangan IMM yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Keluarga Dandelion yang telah memberikan semangat serta

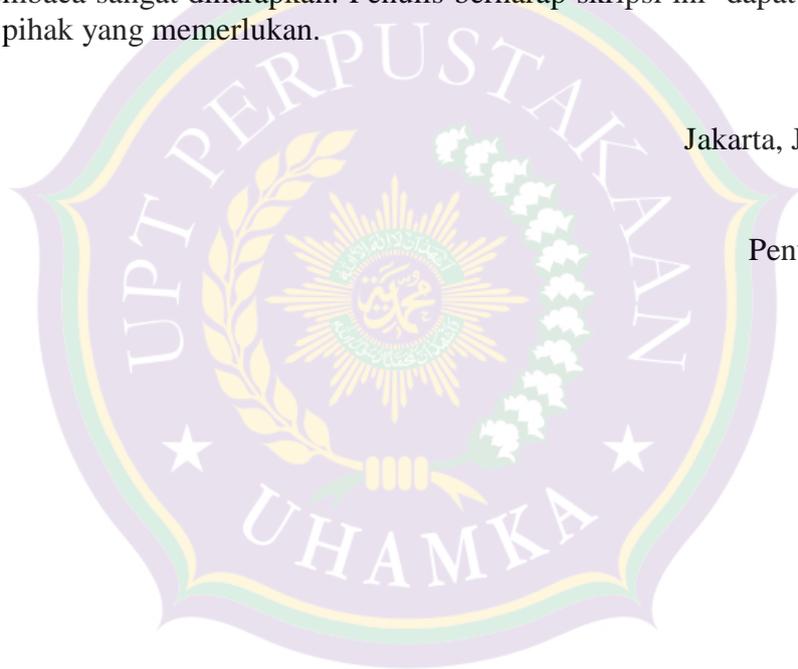
dukungan yang tiada henti kepada penulis. Kakanda IMMawan dan IMMawati yang setia membantu dan memotivasi penulis, dan Adinda IMMawan dan IMMawati yang telah memberikan bantuan dan doa sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.

15. Sahabat-sahabat tercinta *kostan 209* yang telah membantu dan mendukung selama kurang lebih 4 tahun ini, serta teman-teman di kelas IA angkatan 2015 yang telah berjuang bersama demi mencapai gelar sarjana.
16. Sahabat-sahabat tersayang Dilla, Ibek, Tiwi, Milla, Dhea, Ook, Asha dan Vio, yang selalu menjadi pendengar dan pemberi semangat atas segala keluhan penulis. Teman-teman El-‘Azzam yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu penulis dalam segala aspek.
17. Seluruh pihak pendukung lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu atas bantuan, dukungan, masukan serta motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan. Untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat diharapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan.

Jakarta, Juni 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
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. Tanaman Rosela	4
2. Simplisia	5
3. Ekstraksi	5
4. Fraksinasi	5
5. Eritrosit	6
6. Natrium Nitrit (NaNO_2)	6
7. Hewan Percobaan	7
8. Metode Pengukuran Jumlah Eritrosit.	7
B. Kerangka Berfikir	7
C. Hipotesis	8
BAB III METODELOGI PENELITIAN	9
A. Tempat dan Waktu Penelitian	9
B. Pola Penelitian	9
C. Cara Penelitian	9
1. Bahan Penelitian	9
2. Alat Penelitian	10
3. Prosedur Penelitian	10
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	18
A. Hasil Dan Pembahasan Penelitian	18
1. Hasil Determinasi Tanaman	18
2. Hasil Pengolahan Simplisia Daun Rosela	18
3. Hasil Perolehan Ekstrak Daun Rosela	19
4. Hasil Perolehan Fraksi dari Ekstrak Daun Rosela	20
5. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak dan Fraksi	21
6. Hasil Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi	23
7. Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit	24
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	29
A. Simpulan	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Uji Penapisan Fitokimia	13
Tabel 2. Prosedur Kerja Uji Peningkatan Jumlah Eritrosit Masing-masing Kelompok Perlakuan	16
Tabel 3. Hasil Pengolahan Simplisia Daun Rosela	18
Tabel 4. Hasil Perolehan Ekstrak Daun Rosela	19
Tabel 5. Hasil Perolehan Fraksi dari Ekstrak Daun Rosela	20
Tabel 6. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Daun Rosela	21
Tabel 7. Hasil Susut Pengeringan Ekstrak dan Fraksi	22
Tabel 8. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela	23
Tabel 9. Hasil Rata-rata Peningkatan Jumlah Eritrosit	27
Tabel 10. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi	39
Tabel 11. Perhitungan Kadar Abu Ekstrak	39
Tabel 12. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun Rosela	49
Tabel 13. Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit	57



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.	Grafik Rata-rata Peningkatan Jumlah Eritrosit 27
Gambar 2.	Skema Prosedur Penelitian 32
Gambar 3.	Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela 33
Gambar 4.	Skema Pembuatan Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela 34
Gambar 5.	Skema Uji Aktivitas Fraksi dari Ekstrak Daun Rosela Terhadap Jumlah Eritrosit 35
Gambar 6.	Tanaman Rosela 44
Gambar 7.	Daun Rosela Segar 44
Gambar 8.	Daun Rosela Kering 44
Gambar 9.	Serbuk Daun Rosela 44
Gambar 10.	Proses Pengayakan 44
Gambar 11.	Wadah Maserasi 44
Gambar 12.	Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela 45
Gambar 13.	Fraksinasi Air dan n-Heksan 45
Gambar 14.	Fraksinasi Air dan Etil Asetat 45
Gambar 15.	Fraksi Air 45
Gambar 16.	Fraksi Etil Asetat 45
Gambar 17.	Fraksi n-Heksan 45
Gambar 18.	<i>Vacuum Rotary Evaporator</i> 46
Gambar 19.	<i>Waterbath</i> 46
Gambar 20.	<i>Moisture Balance</i> 46
Gambar 21.	Tanur 46
Gambar 22.	Serbuk NaNO ₂ 46
Gambar 23.	Tikus Galur <i>Sprague Dawley</i> 46
Gambar 24.	Sonde Tikus 47
Gambar 25.	Timbangan Hewan 47
Gambar 26.	Pemberian Induksi dan Fraksi dengan Cara Sonde 47
Gambar 27.	Holder Tikus 47
Gambar 28.	Gunting Bedah 47
Gambar 29.	<i>Hematology Analyzer</i> 47
Gambar 30.	Tikus Dimasukkan ke dalam Holder Tikus 48
Gambar 31.	Ekor Tikus Dimasukkan ke Air Hangat 48
Gambar 32.	Pemotongan Ekor Tikus 48
Gambar 33.	Tampung Darah Tikus dalam Vacuette 48
Gambar 34.	Darah Tikus 48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Prosedur Penelitian	32
Lampiran 2. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	33
Lampiran 3. Skema Pembuatan Fraksi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela	34
Lampiran 4. Skema Uji Aktivitas Fraksi dari Ekstrak Daun Rosela Terhadap Jumlah Eritrosit	35
Lampiran 5. Konversi Dosis	36
Lampiran 6. Perhitungan Pembuatan Sediaan dan Volume Pemberian Sediaan	37
Lampiran 7. Perhitungan Rendemen dan Kadar Abu	39
Lampiran 8. Hasil Determinasi Tanamanan	40
Lampiran 9. Surat Keterangan Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	41
Lampiran 10. Sertifikat Analisa Natrium Nitrit (NaNO_2)	42
Lampiran 11. Surat Kode Etik Hewan	43
Lampiran 12. Dokumentasi Alat dan Bahan Penelitian	44
Lampiran 13. Pengambilan Darah dari Ekor Tikus	48
Lampiran 14. Hasil Penapisan Fitokimia	49
Lampiran 15. Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit Menggunakan <i>Hematology Analyzer</i>	57
Lampiran 16. Hasil Analisis Statistik Jumlah Eritrosit	58

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Eritrosit atau sering disebut dengan sel darah merah adalah sel yang memiliki bentuk cakram bikonkaf, tidak bergerak, elastis dan berwarna merah (Nugraha 2017). Fungsi utama eritrosit adalah untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbon dioksida (CO₂) dari jaringan tubuh ke paru. Eritrosit tidak memiliki inti sel, sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi (Fe) sehingga dapat mengikat oksigen (Kiswari 2014). Eritrosit memiliki diameter 7,5 µm, tebal 2,0 µm, dan jumlah eritrosit normal sekitar 4,5-5 juta/mm³. Penurunan jumlah eritrosit ≤ 4,5 juta/mm³ dikategorikan sebagai anemia (Nugraha 2017).

Anemia didefinisikan dengan penurunan jumlah eritrosit dibandingkan dengan jumlah normal (Kiswari 2014). Anemia dapat disebabkan oleh gangguan pembentukan sel darah merah atau destruksi sel darah merah yang berlebihan (Corwin 2009). Penurunan jumlah eritrosit terjadi akibat satu atau lebih kombinasi dari tiga mekanisme dasar, yaitu kehilangan darah, penurunan produksi eritrosit, dan peningkatan destruksi eritrosit (hemolisis). Sebagian besar anemia yang terjadi akibat perubahan ukuran dan bentuk eritrosit. Manifestasi klinik anemia terjadi akibat hipoksia jaringan (Kiswari 2014). Semua gejala pada akhirnya berhubungan dengan reduksi dalam pengangkutan oksigen ke sel dan organ penderita, yang dapat mengganggu fungsi dan status kesehatan (Corwin 2009).

Prevalensi anemia di dunia tahun 2011 sebanyak 273,2 juta terjadi pada anak-anak dan 528,7 juta terjadi pada wanita dengan usia produktif. Asia Tenggara, Timur Mediterranean dan Afrika merupakan wilayah dengan kasus anemia tertinggi di dunia. Sebanyak 96,7 juta anak-anak dan 202,2 juta wanita dengan usia produktif mengalami anemia di Asia Tenggara (*World Health Organization* 2015). Sedangkan prevalensi anemia di Indonesia menurut Hasil Riset Kesehatan Dasar (2013) menyatakan bahwa tingkat penderita anemia di Indonesia adalah 21.7%. Kriteria dibedakan berdasarkan pada umur, jenis kelamin, dan tempat tinggal. Berdasarkan umur paling banyak terjadi pada usia

≥75 tahun sebanyak 46.0%, pada jenis kelamin paling banyak terjadi pada wanita 23.9% dan berdasarkan tempat tinggal paling banyak terjadi di daerah pedesaan 22.8%.

Kondisi anemia yang tidak segera ditangani dengan cara pengobatan akan menimbulkan komplikasi. Keluhan gastrointestinal, splenomegali dan gagal jantung merupakan komplikasi yang mungkin terjadi (Kiswari 2014). Penggunaan obat tradisional saat ini sudah banyak digunakan oleh masyarakat dalam mengobati berbagai penyakit. Masyarakat memilih obat tradisional sebagai salah satu terapi, dikarenakan obat tradisional memiliki efek samping yang minimal dibandingkan dengan obat sintetik. Penanganan pada anemia adalah dengan menaikkan jumlah eritrosit atau kadar hemoglobin. Beberapa bahan alam yang mampu meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin seperti katuk (*Sauropus androgynus*), terong belanda (*Solanum betaceum* CAV), daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan lain-lain.

Rosela adalah tanaman yang berasal dari *family Malvaceae* yang dapat hidup di daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini banyak dimanfaatkan untuk pengobatan di dunia karena memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah untuk meningkatkan jumlah eritrosit. Bagian dari rosela yang banyak dimanfaatkan adalah batang, daun dan bunga. Rosela memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tannin, saponin, steroid, terpenoid dan fenol. Dan tanaman ini memiliki kandungan lain yaitu berupa protein, lemak, karbohidrat dan mineral (Brahma *et al* 2014). Flavonoid merupakan faktor yang berhubungan dengan pembentukan eritrosit.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat aktivitas rosela dalam meningkatkan jumlah eritrosit dan trombosit. Pratiwi (2016) melaporkan bahwa ekstrak daun rosela dapat meningkatkan jumlah trombosit pada tikus. Penelitian Munawaroh (2009) menghasilkan ekstrak kelopak bunga rosela dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan hemoglobin pada tikus. Hasil penelitian Sembiring dkk (2012), didapatkan bahwa ekstrak daun rosela dapat meningkatkan kadar eritrosit dan hemoglobin pada mencit. Pemberian ekstrak daun rosela 42 mg/ekor efektif meningkatkan rata-rata jumlah sel darah merah sebesar 20.230.000 sel/mm³. Berdasarkan latar belakang diatas dan khasiat rosela yang

bervariasi, maka dilakukan pengujian lebih lanjut terkait aktivitas daun rosela sebagai pengobatan anemia melalui uji aktivitas fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela dengan parameter meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus anemia. Variasi fraksi yang digunakan yaitu adalah fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air, dengan tujuan untuk mendapatkan golongan senyawa yang dapat meningkatkan jumlah eritrosit pada variasi fraksi dengan dosis yang sama.

B. Permasalahan Penelitian

Anemia adalah suatu keadaan di mana kadar hemoglobin menurun sehingga kemampuan untuk mengikat oksigen berkurang maka tubuh akan mengalami hipoksia. Ketika kadar hemoglobin berkurang, maka jumlah eritrosit dalam darah akan berkurang pula, karena hemoglobin merupakan komponen eritrosit. Jumlah eritrosit yang sangat rendah dapat menyebabkan keterlambatan proses pembentukan darah. Daun rosela memiliki manfaat yang diduga dapat meningkatkan jumlah eritrosit. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, untuk mengetahui apakah aktivitas fraksi dari ekstrak etanol 70 % daun rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dapat meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus putih jantan anemia?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi dari ekstrak etanol 70% daun rosela dalam meningkatkan jumlah eritrosit pada tikus anemia.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat 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 pengobatan anemia.

DAFTAR PUSTAKA

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

- Mettler T. 2011. *Operating Instructions Moisture Analyzer HB43-S*. Mettler toledo AG laboratory and weighing technologies, Switzerland. Hlm, 16, 30.
- Munawaroh, S. 2009. Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Dalam Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Anemia. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Murwani EKA, Iswarin SJ. 2017. *Botani Farmasi*. PT Kanisius, Yogyakarta. Hlm. 168 – 170.
- Nihon K. 2002. *For Veterinary Use Celltac a Automated Hematology Analyzer MEK-6450*. Nihon kohden, Eropa. Hlm, 18.
- Nugraha, G. 2017. *Panduan Nasional Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. CV. Trans Info Media, Jakarta. Hlm. 10-11.
- Oktaviani T, Megantara S. 2018. Review : Aktivitas Farmakologi Ekstrak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Dalam: *Jurnal Farmaka Suplemen Volume 16 Nomor 1*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung. Hlm. 345 – 351.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. 2016. *Penggunaan Dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bandung : Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian; Hlm. 1, 25.
- Pratiwi, L. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Terhadap Jumlah Trombosit Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Heparin. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA. Jakarta.
- Sembiring A, Tanjung M, Sabri E. 2012. Pengaruh Ekstrak Segar Daun Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin Mencit Jantan (*Mus musculus* S.) Anemia Strain DDW Melalui Induksi Natrium Nitrit (NaNO₂). Dalam: *Jurnal Universitas Sumatera Utara*. Fakultas Biologi Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Suparmi, Sampurna, Nur ACS, Ednisari AM, Urfani GD, Laila I, Saintika HR. 2016. *Anti-anemia Effect of Chlorophyll from Katuk (Sauropus androgynus) Leaves on Female Mice Induced Sodium Nitrite*. Faculty of Medicine Universitas Islam Sultan Agung. Semarang.
- World Health Organization. 2015. *The Global Prevalence of Anemia in 2011*. Geneva: World Health Organization; Hlm. 5-6.