**Uji Aktivitas Antianemia Filtrat Limbah Kentos Kelapa ( *Cocos nucifera Haustorium* ) Terhadap Mencit Yang Diinduksi Natrium Nitrit**

*Anti-anemic Activity of Coconut (Cocos nucifera) Haustorium Waste Filtrate In Mice Induced by Sodium Nitrite*

Adzimahtinur Pradawahyuningtyas 1\*, Mukti Priastomo 1, Laode Rijai 1

1 Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Farmaka Tropis Fakultas Farmasi Universitas

Mulawarman Samarinda, Kalimantan Timur

Kontak : [elitearga@gmail.com](mailto:desiauliarahmah@gmail.com)

Nomor WA : 085348377495

|  |
| --- |
| **ABSTRAK**  Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas anti anemia dari limbah kentos kelapa (Cocos nucifera Haustorium) terhadap mencit yang diinduksi natrium nitrit secara per oral selama 43 hari. Kondisi anemia ditentukan dengan menghitung kadar hemoglobin menggunakan metode cyanmethemoglobin dan jumlah eritrosit menggunakan metode Hayem. Setelah kondisi anemia tercapai, diberi perlakuan uji selama 21 hari dengan membagi mencit ke dalam 5 kelompok perlakuan masing - masing terdiri atas 3 ekor mencit. Kelompok negatif diberi akuades, kelompok positif diberi suplemen Inbion® (Fe-glukonat 250 mg, mangan sulfat 200 mcg, tembaga sulfat 200 mcg, vitamin C 50 mg, asam folat 1 mg, vitamin B12 7,5 mcg, sorbitol 25 mg), kelompok I, II, dan III diberi filtrat kentos kelapa masing masing sebanyak 25%, 50%, dan 75%. Kemudian diukur kadar hemoglobin menggunakan alat easytouch® GCHb dan jumlah eritrosit dengan metode Hayem. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh rata - rata kadar hemoglobin kelompok negatif yaitu 13,9 g/dL, kelompok positif yaitu 15,4 g/dL, kelompok I yaitu 16,03 g/dL, kelompok II yaitu 14,37 g/dL, dan kelompok III yaitu 16,8 g/dL. Jumlah eritrosit saat anemia yaitu 1.750.000/mm3 dan setelah pemberian kentos kelapa yaitu 8.260.000/mm3. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktivitas anti anemia teritinggi yang dimiliki oleh filtrat limbah kentos kelapa terdapat pada konsentrasi 75% dan memiliki perbedaan kadar hemoglobin yang signifikan (p<0,05) dengan kelompok kontrol negatif. Kata Kunci : Anemia, Kentos Kelapa*,* Hemoglobin, Eritrosit |
| ***ABSTRACT***  *This study aims to determine the anti-anemia activity of coconut (Cocos nucifera Haustorium) waste against mice induced by sodium nitrite orally for 43 days. Anemia condition was determined by calculating the hemoglobin level using the cyanmethemoglobin method and the number of erythrocytes using the Hayem method. After the anemia condition was reached, the test was given for 21 days by dividing the mice into 5 treatment groups consisting of 3 mice each. The negative group was given distilled water, the positive group was given Inbion® supplements (Fe-gluconate 250 mg, manganese sulfate 200 mcg, copper sulfate 200 mcg, vitamin C 50 mg, folic acid 1 mg, vitamin B12 7.5 mcg, sorbitol 25 mg), groups I, II, and III were given coconut concentrate filtrate as much as 25%, 50%, and 75%, respectively. Then the hemoglobin level was measured using the Easytouch® GCHb tool and the number of erythrocytes using the Hayem method. Based on the results of the study, the average hemoglobin level in the negative group was 13.9 g/dL, the positive group was 15.4 g/dL, group I was 16.03 g/dL, group II was 14.37 g/dL, and group III, namely 16.8 g/dL. The number of erythrocytes during anemia was 1,750,000 /mm3 and after giving coconut haustorium was 8,260,000 /mm3. From this study it can be concluded that the highest anti-anemia activity possessed by coconut haustorium waste filtrate is at a concentration of 75% and has a significant difference in hemoglobin levels (p<0.05) with the negative control group.*  **Keywords:** *Anemia, Coconut Haustorium, Hemoglobin, Erythrocytes* |

**PENDAHULUAN**

Keadaan tubuh yang baik umumnya dapat dilihat dari kandungan darah pada tubuh seseorang yang berada dalam rentang normal. Kondisi tubuh yang menunjukkan kadar hemoglobin (Hb) dibawah nilai normal yang disertai jumlah eritrosit dibawah normal merupakan kondisi anemia (Fitriany, 2018). Salah satu penyebab kondisi anemia umumnya adalah defisiensi zat besi yang terjadi karena kebutuhan zat besi tubuh meningkat sedangkan zat besi tidak diproduksi didalam tubuh sehingga perlu asupan zat besi dari makanan atau minuman. Defisiensi zat besi menyebabkan tubuh kesulitan membentuk sel darah merah sehingga sel darah merah yang terbentuk memiliki ukuran yang lebih kecil dan berwarna lebih muda. Kadar hemoglobin yang berkurang ini menyebabkan asupan oksigen tidak maksimal untuk diedarkan ke seluruh jaringan tubuh (Aulia, 2017).

Di negara berkembang seperti Indonesia, anemia masih menjadi tantangan dalam kesehatan dan kecukupan gizi. Hasil Riskesdas 2018 menyatakan bahwa di Indonesia sebesar 48,9% ibu hamil mengalami anemia. Sebanyak 84,6% anemia pada ibu hamil terjadi pada kelompok umur 15-24 tahun. Kondisi anemia pada ibu hamil dapat meningkatkan resiko kematian saat melahirkan dan bayi terlahir dengan berat badan rendah (prematur) (RI, 2019). Gejala yang ditimbulkan dapat mengurangi produktivitas yaitu lemas, mudah letih, konsentrasi menurun, serta pusing (Fitriany, 2018). Menteri Kesehatan Republik Indonesia memberikan nilai rujukan kadar hemoglobin untuk masing–masing kelompok umur dan jenis kelamin diantaranya adalah 11 gram/dl untuk kelompok anak usia 6 bulan sampai dengan 6 tahun, 12 gram/dl untuk anak usia 6 sampai dengan 14 tahun, 13 gram/dl untuk kelompok pria dewasa, 12 gram/dl untuk kelompok wanita dewasa, 11 gram/dl untuk kelompok ibu hamil, dan 12 gram/dl untuk kelompok ibu menyusui lebih dari 3 bulan (Aulia, 2017).

Indonesia menawarkan keragaman hayati untuk memenuhi kebutuhan mineral zat besi yang dihasilkan secara alami oleh tumbuhan. Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat di setiap bagiannya seperti kentos kelapa. Kentos kelapa adalah bagian distal embrio pada biji yang membesar dalam buah kelapa hingga endosperma menghilang secara ekstensif (Sugimuma, 1990). Di Indonesia belum banyak yang mengetahui kandungan penting dalam kentos kelapa, sehingga umumnya bagian kentos kelapa ini terbuang begitu saja. Penelitian karakterisasi biokimia dan nutrisi kentos kelapa menyebutkan kentos kelapa memiliki kandungan seperti karbohidrat, protein, asam lemak, fenolik, serta mineral. Mineral yang terdapat pada kentos kelapa diantaranya yakni kalsium , kalium, magnesium, fosfor, mangan, besi, tembaga dan zink. Jumlah zat besi di tiap 100 g nya sebesar 43.4–56.6% dari total mineral yaitu 2,5 mg/100g kentos kelapa. Selain zat besi, kandungan magnesium yang mencapai 104 mg/100g kentos kelapa mendukung potensi kentos kelapa sebagai sumber zat besi dan magnesium yang dapat meningkatkan pembentukan hemoglobin tubuh (Manivannan, 2018).

**METODE PENELITIAN**

# Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan adalah easytouch® GCHb, haemocytometer, mikroskop optik, Spektrofotometer UV-Vis, Timbangan Analitik, tabung reaksi, pipet ukur, gunting bedah, mortar dan stamper. Bahan-bahan yang digunakan adalah kentos kelapa, akuades, natrium nitrit, suplemen Inbion® , Alkohol 70%, larutan drabkin standar, larutan hayem standar, tabung vacutainer EDTA, dan spuit.

# Prosedur Uji Etik

Sebelum melakukan penelitian, peneliti terlebih dahulu membuat surat permohonan etik secara online penelitian kesehatan kepada Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan di Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman Samarinda, setelah disetujui selanjutnya melakukan penelitian di Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda.

# Prosedur filtrasi kentos kelapa

Dilakukan pemilihan sampel dengan cara memilih kentos kelapa yang segar dengan ciri–ciri berwarna putih atau putih kekuningan dengan lapisan luar utuh atau tidak berlubang. Sampel dipotong dan diambil bagian yang dapat dikonsumsi. Selanjutnya sampel dicuci bersih dan segera diangin –anginkan hingga kering. Potongan sampel sebanyak 100 g dihaluskan dengan mortir dan stamper yang ditambahkan akuades sebanyak 100 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100%. Dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat yang selanjutnya dibuat pengenceran yang terbagi kedalam masing - masing kelompok uji sebanyak 25%, 50% dan 75%.

# Prosedur pembuatan larutan NaNO2

Pembuatan larutan NaNO2 untuk perlakuan dalam patologis anemia yaitu dengan ketentuan LD 50 rata - rata NaNO2 secara oral pada tikus adalah 250 mg/kg berat badan. Pada penelitian ini, berat badan mencit 20 g, sehingga konsentrasi NaNO2 yang efektif sebagai patologis anemia untuk setiap ekor yakni 2,5 mg/mL akuades. Kemudian dibuat larutan NaNO2 dalam 25 mL akuades dengan jumlah serbuk NaNO2 yang ditimbang adalah 62,5 mg. Dosis NaNO2 yang diberikan sebanyak 0,4 mL/20 g BB/hari (Hamidah, 2017).

# Prosedur pembuatan larutan Inbion®

Pembuatan larutan Inbion® untuk perlakuan pada kontrol positif yaitu digunakan dosis 0,65 mg / 20 g BB dalam 0,4 mL/ hari. Larutan Inbion® dibuat menggunakan 81,25 mg bubuk Inbion® yang dilarutkan dan ditambahkan dengan akuades hingga mencapai tanda batas labu ukur 50 mL.

# Prosedur Perlakuan patologis anemia

Perlakuan patologis yang diberikan yaitu melalui pemberian NaNO2 dengan dosis 0,4 mL/20 g BB/hari. Perlakuan ini diberikan selama 43 hari hingga kondisi anemia tercapai (kadar Hb < 8 g/dL ).

# Prosedur Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan dibagi menjadi lima kelompok dan perlakuan dilakukan selama 21 hari sejak tercapainya kondisi anemia. Kelompok perlakuan terbagi menjadi kelompok kontrol positif yaitu dilakukan Pemberian suplemen Inbion® dosis 0,65 mg / 20 g BB dalam 0,4 mL/ hari, kelompok kontrol negatif yaitu dilakukan pemberian akuades sebanyak 0,4 mL/ hari, kelompok uji 1 dilakukan pemberian filtrat kentos kelapa konsentrasi 25% sebanyak 0,4 mL/ hari, kelompok uji 2 dilakukan pemberian filtrat kentos kelapa konsentrasi 50% sebanyak 0,4 mL/hari, kelompok uji 3 dilakukan Pemberian filtrat kentos kelapa konsentrasi 75% sebanyak 0,4 mL/hari.

# Prosedur pengambilan sampel darah

Pengambilan sampel darah mencit dilakukan setelah mencit dipuasakan dari pakan selama 8 jam. Hal ini dilakukan karena eritrosit dan hemoglobin akan mengalami peningkatan apabila dipuasakan selama 17-20 jam (Fitria, 2014). Pengambilan darah dengan cara mencit dikeluarkan dari kandang dengan cara setengah bagian dari ekornya diangkat. Kemudian mencit dimasukkan ke sungkup rangkap. Bagian ekor mencit diolesi air hangat selama kuranng lebih 2 menit, kemudian diolesi alkohol 70 %. Kemudian dipotong bagian ujung ekor menggunakan gunting bedah yang telah diolesi alkohol 70%. Selanjutnya darah dari ekor mencit dikeluarkan secara perlahan–lahan dengan menekan ekor kearah ujung ekor. Darah ditampung dalam tabung vakutainer EDTA 0.5 mL sampai tanda batas.

# Prosedur penentuan kadar hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin*

Penentuan kadar hemoglobin metode *Cyanmethemoglobin* dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm dengan cara dimasukkan ke dalam tabung reaksi 5 mL larutan drabkin. Darah diambil sebanyak 20 µL dengan menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 5 mL larutan drabkin dan dihomogenkan, setelah itu didiamkan selama 5 menit. Kemudian sampel yang ada pada tabung reaksi dipindahkan pada cuvet. Panjang gelombang ditetapkan pada 540 nm. Larutan Drabkin dimasukkan pada spektrofotometer sebagai blanko, kemudian skala diatur hingga penuh (*full scale*) dan absorbansi 0. Sampel dimasukkan, dilihat absorbansinya pada layar spektrofotometer, kemudian dimasukkan dalam rumus kadar Hb = Absorbansi x 36, 8 g /dL (Norsiah, 2015).

# Prosedur penentuan kadar hemoglobin metode POCT

Penentuan kadar hemoglobin metode POCT dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat *Easytouch®* GCHb. Dicek kelayakan alat sebelum digunakan. Dipasang strip tes hemoglobin pada alat sampai muncul kode yang sesuai pada monitor alat. Kemudian Diambil sampel darah langsung dari ekor mencit yang telah dipotong bagian ujungnya. Darah pertama yang keluar diusap menggunakan kapas yang terbasahi alkohol 70%, kemudian darah kedua yang keluar dimasukkan kedalam strip tes hemoglobin hingga terdengar bunyi pada alat yang menandakan volume darah telah cukup untuk pemeriksaan. Hasil pemeriksaan akan muncul pada monitor sebagai kadar hemoglobin dalam satuan g/dL.

# Prosedur Penghitungan jumlah eritrosit metode Hayem

Penghitungan jumlah eritrosit dilakukan dengan pengambilan darah dari tabung vakutainer EDTA sebanyak 10µL kemudian diencerkan dengan larutan hayem sebanyak 1990 µL kedalam tabung reaksi untuk mendapatkan pengenceran 200 kali. Selanjutnya dipipet hasil pengenceran dan dialirkan kedalam kotak hitung hingga memenuhi kotak hitung. Selanjutnya kotak hitung diletakkan di bawah mikroskop. Eritrosit yang ada di dalam kotak hitung dihitung. Perhitungan dimulai dari sebelah kiri secara zig – zag. Untuk menghindari perhitungan yang kurang tepat, eritrosit yang ada digaris batas sebelah kiri dan atas suatu kotak kecil dihitung sebagai eritrosit yang ada dalam kotak kecil tersebut. Jumlah eritrosit sesungguhnya dapat diketahui dengan perhitngan, Jumlah eritrosit per mm3 = n x 10000 dimana n adalah jumlah eritrosit yang terhitung pada 5 kotak (Norsiah, 2015).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Natrium nitrit digunakan sebagai penginduksi anemia karena nitrit tidak dieksresikan oleh tubuh sehingga kadarnya terakumulasikan dalam tubuh dan menyebabkan masalah kesehatan (Ambarwati, 2012). Dalam penelitian ini, masalah kesehatan yang dicapai yaitu anemia. Nitrit akan berikatan dengan hemoglobin yang menyebabkan pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS). ROS ini bekerja dengan menyebabkan stress oksidatif pada membran eritrosit. Akibatnya, eritrosit tidak dapat mempertahankan bentuknya dan terjadi hemolisis lebih cepat (Ambarwati, 2012). Namun Departemen Kesehatan RI masih memperbolehkan nitrit untuk dikonsumsi pada manusia yaitu 0.4 mg/kg/hari. Kondisi anemia yang diperoleh pada penelitian ini dicapai setelah diinduksi natrium nitrit selama 43 hari dengan konsentrasi 2,5 mg/mL dari hari ke -1 hingga hari ke – 23 dan ditingkatkan konsentrasi menjadi 3,5 mg/mL dari hari ke – 24 hingga hari ke 43 dengan rata – rata kadar hemoglobin yaitu 8,92 g/dL.

Berdasarkan hasil penelitian pengukuran kadar hemoglobin setelah perlakuan uji dengan metode POCT didapatkan nilai kadar hemoglobin dari masing masing kelompok yakni pada kelompok uji 1 sebanyak 16,03 g/dL, pada kelompok uji 2 sebanyak 14,37 g/dL, pada kelompok uji 3 sebanyak 16,8 g/dL, pada kelompok negatif sebanyak 13,9 g/dL dan pada kelompok positif sebanyak 15,4 g/dL. Dari semua kelompok uji tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa filtrat kentos kelapa dari semua konsentrasi memiliki aktivitas yang sama dengan suplemen Inbion® sebagai antianemia. Kelompok uji 1 dan kelompok uji 3 berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa Kelompok uji 1 dan kelompok uji 3 memberikan aktivitas antianemia. Sedangkan kelompok uji 2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan oleh tidak meratanya kandungan zat besi pada kelompok uji 2 dan kemungkinan zat besi yang terdapat pada kelompok uji 2 lebih banyak Fe3+. Tidak meratanya kandungan zat besi ini karena kentos kelapa yang digunakan lebih dari satu dan berasal dari tanaman kelapa yang berbeda sehingga jumlah kandungan zat besi juga berbeda. Kentos kelapa merupakan bahan nabati sehingga zat besi yang terdapat di dalam kentos kelapa umumnya adalah zat besi dalam bentuk ikatan ferri (Fe3+) (Winarno, 2004). Didalam lambung, Fe3+ ini hanya bisa diserap apabila telah direduksi oleh asam lambung menjadi Fe2+. Sehingga, Fe3+ yang tidak ikut tereduksi asam lambung tidak akan diserap oleh tubuh (Adyani, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian jumlah eritrosit menunjukkan terdapat peningkatan jumlah eritrosit dari pemberian natrium nitrit selama 43 hari yakni sebanyak 1.750.000 sel/mm3 dan setelah perlakuan uji dengan pemberian filtrat kentos kelapa konsentrasi 75% yaitu sebanyak 8.260.000 sel/mm3. Hal ini menunjukkan bahwa natrium nitrit mampu membuat kondisi anemia dengan mempercepat hemolisis eritrosit sehingga jumlah eritrosit dibawah nilai normal (Ambarwati, 2012). Selain itu, hal ini juga menunjukkan bahwa pemberian filtrat kentos kelapa selama 21 hari mampu meningkatkan jumlah eritrosit karena memiliki kandungan zat besi yang tinggi yaitu mencapai 2.53 ± 0.2 mg disetiap 100g kentos kelapa (Manivannan, 2018). Kadar besi yang dibutuhkan pada dosis mencit yakni 0,975 mg sedangkan pada konsentrasi 75% kadar besi yang terkandung lebih besar dari dosis besi pada mencit yakni 1,8 mg. Angka ini didapatkan dari konversi dosis besi pada manusia ke mencit.

Gambaran mikroskopik pada gambar 6.3 menunjukkan kondisi anemia setelah diberi perlakuan induksi natrium nitrit selama 43 hari dimana jumlah sel lebih sedikit dan bentuk sel tidak normal (tidak bikonkaf). Pada gambaran eritrosit kondisi anemia, terlihat bentuk eritrosit berupa poikilositosis (bentuk bervariasi) (Pratiwi, 2017). Hal ini dipengaruhi oleh mekanisme natrium nitrit didalam tubuh. Terjadi reaksi antara NO pada natrium nitrit dengan hemoglobin pada eritrosit membentuk nitrosohemoglobin yang mengakibatkan kompetisi pengikatan O2 oleh hemoglobin dengan NO. Hemoglobin yang berikatan dengan NO membuat O2 yang terikat lebih rendah sehingga merangsang eritropoetin untuk melakukan eritropoesis sehingga terbentuk eritrosit, namun proses tersebut belum sempurna. Eritropoesis yang tidak sempurna menghasilkan eritrosit yang tidak sempurna. Selain itu, natrium nitrit juga membuat membran eritrosit tidak stabil sehingga menyebabkan hemolisis membran eritrosit (Cahaya, 2016).Natrium nitrit juga bekerja mengoksidasi ion Fe2+ dalam hemoglobin menjadi Fe3+ sehingga terbentuk methemoglobin yang tidak dapat mengikat O2 untuk disebarkan ke seluruh jaringan (Nursucihta, 2014).

Gambaran mikroskopik eritrosit pada gambar 6.4 menunjukkan setelah perlakuan pemberian filtrat kentos kelapa selama 21 hari maka jumlah eritrosit dan bentuk eritrosit menjadi normal. Pemberian filtrat kentos kelapa selama 21 hari didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Sitasiwi, 2017) tentang penentuan jumlah eritrosit mencit dengan perlakuan pemberian ekstrak etanol daun nimba (Azadirachta indica) selama 21 hari berturut-turut secara per oral. Hal ini dipengaruhi oleh dihentikannya induksi natrium nitrit dan kandungan yang terdapat pada filtrat kentos kelapa, khususnya zat besi. Zat besi sebagai prekursor dalam pembentukan hemoglobin sehingga kadar hemoglobin meningkat, jumlah eritrosit bertambah dan oksigen yang dapat diikat oleh eritrosit juga bertambah (Cahaya, 2016). Ketersediaan oksigen stabil sehingga eritropoesis sempurna menghasilkan eritrosit yang sempurna.

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas maka dapat disimpulkan bahwa limbah kentos kelapa memiliki aktivitas sebagai antianemia karena mampu meningkatkan kadar hemoglobin yakni mencapai 16,8 g/dL pada konsentrasi filtrat kentos kelapa 75%, 14,7 g/dL pada konsentrasi filtrat kentos kelapa 50%, dan 16 g/dL pada konsentrasi filtrat kentos kelapa 25%. Selain itu, filtrat kentos kelapa mampu meningkatkan jumlah eritrosit dari kondisi anemia yakni 1.750.000/mm3 menjadi kondisi normal yakni 8.260.000/mm3 serta mampu memperbaiki bentuk eritrosit dari poikilositosis (bentuk bervariasi) menjadi normal (bulat cakram bikonkaf)

**DAFTAR PUSTAKA**

Adyani, K. (2018). Peningkatan Kadar Hemoglobin dengan Pemberian Ekstrak Daun Salam (Syzygium polyanthum Walp) pada Tikus Model Anemia Defisiensi Besi. *Majalah Kedokteran Bandung, 50*(3), 167-172.

Ambarwati, R. (2012). EFFECT OF SODIUM NITRITE ( NaNO 2 ) TO ERITHROCYTE AND HEMOGLOBIN PROFILE IN WHITE RAT ( Rattus norvegicus ). *Folia Medica Indonesiana, 48*(1), 1-5.

Aulia, G. d. (2017). Gambaran Status Anemia Pada Remaja Putri Di Wilayah Pegunungan Dan Pesisir Pantai (Studi Di Smp Negeri Kecamatan Getasan Dan Semarang Barat). *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal), 5*(1), 193-200.

Cahaya, N. (2016). Cahaya, Noor., Aulia, Rahmina., Nurlely. 2016. Efek Daun Kelakai (Stenochlaena palustris) Terhadap Jumlah Eritrosit, Bentuk Eritrosit dan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Anemia. . Banjarbaru. *Seminar Nasional 2016 Lahan Basah ULM* (pp. 531-538). Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.

Fitria, L. (2014). Profil Hematologi Tikus (Rattus norvegicus Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi, 2*(2), 94-100.

Fitriany, J. (2018). Anemia Defisiensi Besi. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh, 4*(2), 140-145.

Hamidah, A. (2017). Effect of Carica papaya Leaf Juice on Hematology of Mice (Mus musculus) with Anemia. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education, 9*(3), 417-422.

Manivannan, A. (2018). Biochemical and nutritional characterization of coconut (Cocos nucifera L.) haustorium. *Food Chemistry, 238*, 153-159.

Norsiah, W. (2015). Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin dengan dan Tanpa Sentrifugasi pada Sampel Leukositosis. *Medical Laboratory Technology Journal, 1*(2), 72-83.

Nursucihta, S. (2014). Antianemia Activity of Parkia speciosa Hassk Seed Ethanolic Extract. *Traditional Medicine Journal, 19*(2), 49-54.

Pratiwi, Z. (2017). Gambaran Sitologi Sediaan Ulas Darah Kambing Kacang yang didapat dari Rumah Potong Kambing Tradisional di Denpasar Barat. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus, 6*(1), 40-46.

RI, K. (2019). *Profil Kesehatan Indonesia 2018.* jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Sitasiwi, A. J. (2017). Kadar Hemoglobin Dan Jumlah Eritrosit Mencit (Mus musculus) Jantan setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Nimba ( Azadirachta indica). *Buletin Anatomi dan Fisiologi, 2*(2), 161-167.

Sugimuma, Y. M. (1990). Structure and Function of the Haustorium in Germinating Coconut Palm Seed. *Japan Agricultural Research Quarterly, 24*, 1-14.

Winarno, F. (2004). *Kimia Pangan dan Gizi.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Penentuan dosis natrium nitrit

**Perhitungan konversi LD 50 natrium nitrit pada mencit**

Diketahui LD 50 mencit adalah 250 mg NaNO2 / kg BB.

Maka LD 50 untuk mencit dengan BB 20 g dinyatakan dalam x mg sebagai berikut:

x mg = 5 mg

Patologis anemia yaitu setengah dari LD 50 yaitu:

**Perhitungan pembuatan larutan natrium nitrit dalam 25 mL akuades**

Jumlah natrium nitrit yang ditimbang yaitu:

x mg = 62,5 mg

**Perhitungan dosis natrium nitrit yang diberikan secara per oral**

Diketahui volume yang diberikan untuk per oral pada mencit adalah 20 mL NaNO2/kg.

Maka jumlah volume yang diberikan untuk per oral pada mencit dengan berat 20 g yaitu:

x mL = 0,4 mL

**Lampiran 2.** Penentuan dosis suplemen Inbion®

**Perhitungan konversi dosis manusia ke mencit**

Diketahui terdapat 250 mg zat besi dalam bentuk Fe-glukonat pada suplemen Inbion® dan nilai konversi manusia 70 kg ke mencit 20g adalah 0,0026.

Maka dosis yang diberikan ke mencit adalah sebagai berikut:

250 mg x 0,0026 = 0,65 mg

Jika BB mencit 30 g maka dosis yang diberikan adalah sebagai berikut:

x mg = 0,975 mg ≈ 0,001 g

**Perhitungan jumlah Fe-glukonat yang ditimbang untuk membuat larutan stok 25 mL**

Diketahui jumlah dosis yang diberikan adalah 0,001 g dan jumlah larutan yang akan diberikan adalah 0,4 mL.

Maka jumlah yang ditimbang untuk larutan stok 25 mL adalah sebagai berikut:

x g = 0,0625 g

**Lampiran 3.** Perhitungan pengenceran filtrat kentos kelapa

**Perhitungan jumlah filtrat kentos kelapa yang digunakan untuk membuat masing – masing seri konsentrasi**

Diketahui kadar 100% filtrat kentos kelapa adalah 100 gram kentos kelapa dalam 100 mL akuades.

Maka jumlah filtrat kentos kelapa yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi 75% dibuat dalam 25 mL

M1 . V1 = M2 . V2

100% . V1 = 75% . 25 mL

V1 = 18,75 mL

1. Konsentrasi 50% dibuat dalam 25 mL

M1 . V1 = M2 . V2

100% . V1 = 50% . 25 mL

V1 = 12,5 mL

1. Konsentrasi 25% dibuat dalam 25 mL

M1 . V1 = M2 . V2

100% . V1 = 25% . 25 mL

V1 = 6,25 mL

**Lampiran 4.** Penentuan kadar hemoglobin pada kondisi anemia

**Tabel 1.1** Kadar Hemglobin Kondisi Anemia

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kuantitatif | | |
| **Sampel Darah** | **Nilai Absorbansi** | **Kadar Hemoglobin (g/dL)** |
| Darah 1 | 0,237 | 8,72 |
| Darah 2 | 0,202 | 7,43 |
| Darah 3 | 0,289 | 10,63 |
| Rata - Rata | 0,242 | 8,92 |

Perhitungan Kadar Hemoglobin

Kadar Hemoglobin (g/dL) : Nilai Absorbansi x Faktor 36,8

1. Sampel darah 1

0,237 x 36,8 = 8,72 g/dL

1. Sampel darah 2

0,202 x 36,8 = 7,43 g/dL

1. Sampel darah 3

0,289 x 36,8 = 10,63 g/dL

1. Rata – rata

**Lampiran 5.** Penentuan Kadar Hemoglobin Setelah Perlakuan Uji

**Tabel 1. 2** Kadar Hemoglobin Setelah Perlakuan Uji

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Perlakuan Uji | Kadar Hemoglobin | | | Rata – Rata Kadar Hemoglobin |
| Mencit 1 | Mencit 2 | Mencit 3 |
| Kelompok Positif | 15,6 | 14,8 | 16 | 15,4 |
| Kelompok Negatif | 13,9 | 12,8 | 15 | 13,9 |
| Kelompok Uji 1 | 16,8 | 15,9 | 15,4 | 16,03 |
| Kelompok Uji 2 | 14,2 | 14,5 | 14,4 | 14,37 |
| Kelompok Uji 3 | 16,2 | 17,6 | 16,6 | 16,8 |

**Lampiran 6.** Penghitungan Jumlah Eritrosit

**Tabel 1. 3** Jumlah Eritrosit

|  |  |
| --- | --- |
| **Perlakuan** | **Jumlah Eritrosit (mm3)** |
| Diberi natrium nitrit | 1.750.000 / mm3 |
| Diberi filtrat kentos kelapa | 8.260.000 / mm3 |

Perhitungan Jumlah Eritrosit

Rumus Jumlah eritrosit : n x 10000

n = jumlah sel eritrosit yang terhitung pada 5 kotak

1. Diberi natrium nitrit

175 x 10000 = 1.750.000 / mm3

1. Diberi filtrat kentos kelapa

826 x 10000 = 8.260.000 / mm3

**Lampiran 7**. Gambaran mikroskopik eritrosit

**Tabel 1. 4** Gambaran Mikroskopik Eritrosit

|  |
| --- |
| Kondisi setelah induksi natrium nitrit |
| mikroskopin kondisi anemia.png  Keterangan : Bentuk sel poikilositosis (bentuk bervariasi)  Jumlah sel lebih sedikit  Perbesaran mikroskop 4 x 10 |
| Kondisi setelah perlakuan pemberian filtrat kentos kelapa 75% |
| mikroskopik setelah filtrat kentos kelapa.png  Keterangan : Bentuk sel normal ( bentuk bulat cakram bikonkaf )  Jumlah sel lebih banyak  Perbesaran mikroskop 4 x 10 |