

PENGARUH TABLET EKSTRAK KLOOROFIL KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN

Studi Eksperimental pada Tikus Diberi Pakan yang Mengandung Aflatoksin B1

Usulan Penelitian untuk Skripsi



Diajukan oleh:

Fahrul Arkam

30102100081

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025**

SKRIPSI

**PENGARUH TABLET EKSTRAK KLOOROFIL KATUK (*Sauropus androgynus* (L.)
Merr.) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN
Studi Eksperimental pada Tikus Diberi Pakan yang
Mengandung Aflatoksin B1**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Fahrul Arkam
30102100081

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal, 20 Januari 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dr. Suparmi, S.Si., M.Si.

Anggota Tim Penguji I



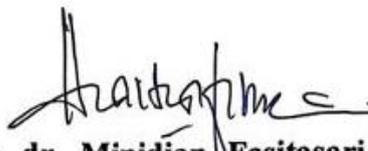
dr. Heny Yuniarti MKM.Sp.GK.

Pembimbing II



Rinawati SS, M.Hum.

Anggota Tim Penguji II



Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc.,
Sp.GK(K).

Semarang, 20 Januari 2025

Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Fahrul Arkam

NIM : 30102100034

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

“PENGARUH TABLET EKSTRAK KLOOROFIL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Studi Eksperimental pada Tikus yang Diberi Pakan Mengandung Aflatoksin B1)”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai aturan yang berlaku.

Semarang, 16 Januari 2025
Yang menyatakan,



Fahrul Arkam

PRAKATA

Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillahirrabbi lalamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua anugerah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH TABLET EKSTRAK KLOOROFIL KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT DAN KADAR HEMOGLOBIN (Studi Eksperimental pada Tikus yang Diberi Pakan Mengandung Aflatoksin B1)”**. Shalawat serta salam penulis haturkan pada junjungan Nabi Muhammad SAW yang senantiasa ikut membantu menegakkan sunnahnya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (FK UNISSULA) Semarang. Skripsi ini merupakan bagian dari penelitian dengan sumber pendanaan dari Dana Penelitian Internal FK UNISSULA dan LPPM UNISSULA yang diketuai oleh Dr. Suparmi, S.Si., M.Si., ERT. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. Suparmi, S.Si., M.Si., ERT dan Rinawati SS, M.Hum selaku dosen pembimbing I dan II yang telah berbesar hati membimbing dengan sabar, memberikan dukungan, serta meluangkan waktunya hingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT senantiasa selalu melimpahkan rahmat-Nya dan kesehatan atas segala ketulusan yang diberikan.

3. dr. Heny Yuniarti., MKM, Sp.GK dan Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc., Sp.GK(K) selaku dosen penguji I dan II yang telah berkenan memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Ayahanda Ftr. Muhammad Asri, M.Fis., Ibunda Yarti, S.ST., dan Kakak Dina Auliya serta keluarga yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan dengan penuh kasih sayang dalam proses pengerjaan skripsi ini.
5. Semua pihak yang telah banyak membantu dan mendukung selama penelitian serta penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat berterimakasih atas kritik dan saran yang bersifat membangun. Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di masa depan serta bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, 16 Januari 2025



Fahrul Arkam

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1. Manfaat Teoritis	6
1.4.2. Manfaat Praktis	6
BAB II TINJAUAN PUSATAKA	7
2.1. Jumlah Eritrosit	7
2.1.1. Definisi Eritrosit	7
2.1.2. Pembentukan Eritrosit	8
2.1.3. Fungsi eritrosit	9
2.1.4. Jumlah Eritrosit di dalam darah	10
2.2. Hemoglobin	10
2.2.1. Definisi Hemoglobin	10
2.2.2. Pembentukan Hemoglobin	11
2.2.3. Fungsi Hemoglobin	12
2.2.4. Kadar Hemoglobin Normal	13
2.2.5. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin	15
2.3. Tablet Ekstra Klorofil Daun Katuk	16
2.3.1. Tablet	16

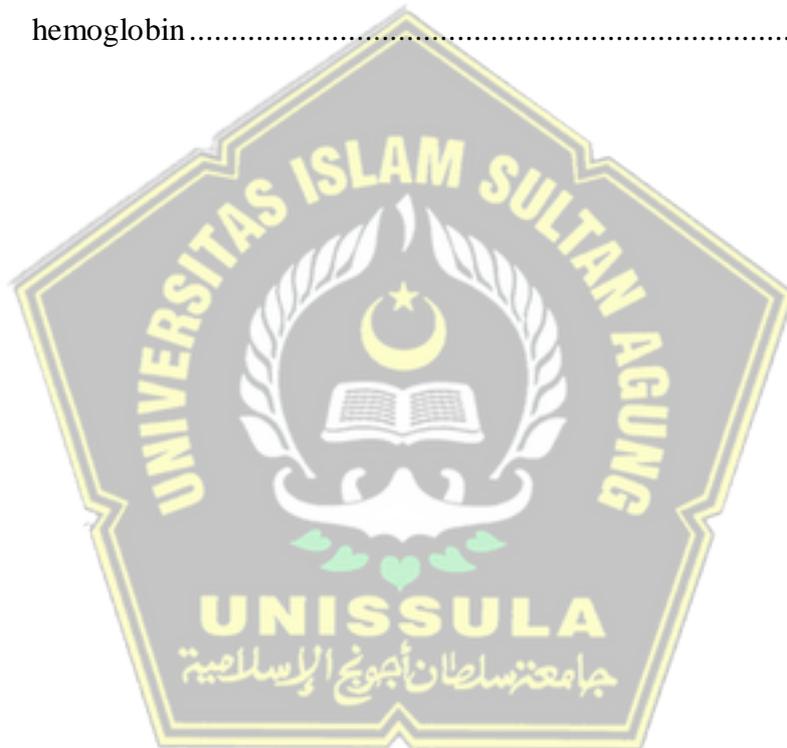
2.3.2. Daun katuk (<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr.).....	17
2.3.3. Klorofil	19
2.3.3.1. Definisi Klorofil	19
2.3.3.2. Struktur Klorofil.....	19
2.3.2.3. Fungsi klorofil.....	19
2.3. Aflatoksin B1	20
2.4. Silimarin	20
2.5. Hubungan Antara Tablet Klorofil dengan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin	21
2.6. Kerangka Teori.....	23
2.7. Kerangka Konsep.....	23
2.7. Hipotesis	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	25
3.2 Variabel dan Definisi Operasional	25
3.2.1 Variabel Penelitian	25
3.2.2 Definisi Operasional.....	25
3.3 Subjek Uji.....	27
3.3.1 Kriteria Inklusi	28
3.3.2 Kriteria Eksklusi	28
3.3.3 Kriteria Drop Out	28
3.4 Instrumen Penelitian dan Bahan Penelitian.....	28
3.4.1 Instrumen	28
3.4.2 Bahan Penelitian	29
3.5 Cara Penelitian.....	29
3.5.1 Persiapan Penelitian	29
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian	31
3.6 Tempat dan waktu Penelitian	33
3.6.1 Tempat Penelitian.....	33
3.6.2 Waktu Penelitian	33
3.7. Analisis Data	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	36
4.1. Hasil Penelitian	36
4.2. Pembahasan	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	43

5.1 Kesimpulan:.....	43
5.2 Saran:.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	50



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kadar Hemoglobin (g/l).....	14
Tabel 4.2 Uji analisis data jumlah eritrosit.....	37
Tabel 4.3 Uji analisis data kadar hemoglobin	38
Tabel 4.4 Analisis Post Hoc LSD terhadap kelompok penelitian jumlah eritrosit	39
Tabel 4.5 Analisis Post Hoc Tamhane terhadap kelompok penelitian kadar hemoglobin.....	39



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman katuk (<i>Sauropus androgynus</i>).....	17
Gambar 2.2 Kerangka Teori	23
Gambar 2.3 Kerangka Konsep	23
Gambar 4.4. Rerata jumlah eritrosit (a) dan kadar hemoglobin	
(b) pada tiap kelompok perlakuan	37



DAFTAR SINGKATAN

AfB1	= Aflatoksin B1
CO	= karbon monoksida
CO ₂	= karbon dnoksida
Fe	= ferum
H ⁺	= ion hidrogen asam
Hb	= hemoglobin
HbCO	= karbonsihemoglobin
HCO ₃ ⁻	= ion bikarbonat
H ₂ CO ₃	= asam karbonat
NO	= Nitrit Oksida
O ₂	= oksigen
ROS	= <i>reactive oxgen species</i>
TEKDK	= Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk



INTISARI

Kontaminasi aflatoksin B1 (AfB1) memicu penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin melalui peningkatan stress oksidatif. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tablet ekstrak klorofil katuk (TEKDK) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tikus yang diberi pakan mengandung AfB1.

Penelitian ini menggunakan *post-test only control group design*. Tikus jantan galur *Sprague Dawley* sebanyak 48 ekor dibagi menjadi 8 kelompok yaitu KS (diberi pakan standar), K- (AfB1 tanpa intervensi), P1 (AfB1 + TEKDK dosis 0,016 mg /200 g), P2 (AfB1 + TEKDK dosis 0,16 mg /200 g), P3 (AfB1 + TEKDK dosis 1,6 mg /200 g), P4 (AfB1 + TEKDK dosis 16 mg /200 g), P5 (AfB1 + diberi TEKDK dosis 160 mg /200 g), dan K+ (AfB1 + silimarín 46,9 mg /200 g). Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin menggunakan alat *hematology analyzer*.

Jumlah eritrosit ($10^6/\text{mm}^3$) KS $982,8 \pm 5,41$, K- $638,3 \pm 8,73$, P1 $765,3 \pm 17,4$, P2 $780,6 \pm 27,5$, P3 $807,5 \pm 16,4$, P4 $890,0 \pm 17,3$, P5 $923,8 \pm 19,8$, K+ $899,6 \pm 8,35$. Kadar hemoglobin (g/dl) KS $1602 \pm 13,9$, K- $908,3 \pm 9,72$, P1 $1010 \pm 11,9$, P2 $1137 \pm 10,2$, P3 $1396 \pm 31,5$, P4 $1469 \pm 22,1$, P5 $1520 \pm 23,7$, K+ $1489 \pm 56,9$. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan minimal terdapat 1 pasang kelompok yang memiliki jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin secara signifikan ($p < 0,05$). Uji *Post Hoc LSD* dan *Post Hoc Tamhane* menunjukkan pemberian TEKDK pada P1, P2, P3, P4 dan P5 berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin dibandingkan dengan K-.

Pemberian tablet ekstrak klorofil katuk (TEKDK) berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tikus yang diberi pakan mengandung AfB1.

Kata Kunci: Tablet Ekstrak Klorofil Katuk (TEKDK), Aflatoksin B1, jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Aflatoksin merupakan mikotoksin yang diproduksi oleh jamur, khususnya *Aspergillus flavus*. Jenis aflatoksin yang paling berbahaya yaitu aflatoksin B1 (AfB1) (Salsabila *et al.*, 2021). Aflatoksin B1 dapat ditemukan pada sereal, sayur-sayuran, dan kacang-kacangan yang disimpan dalam kondisi lembab sehingga jamur *Aspergillus flavus* tumbuh dengan baik (Marchese *et al.*, 2018). Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis dengan memiliki kondisi lembab sehingga menyebabkan pertumbuhan jamur khususnya dari *Aspergillus flavus* yang memungkinkan terkena paparan AfB1. Beberapa toksin Aflatoksikosis karena paparan aflatoksin di Indonesia terjadi pada tahun 1972, 1974, 1977. Paparan AfB1 dapat menimbulkan penyakit karena bersifat toksigenik yang menyebabkan tosigenik, hepatotoksik, karsinogenik, dan mutagenik (Broto, 2018; Salsabila *et al.*, 2021).

Toksisitas dari AfB1 diawali dengan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) melalui hasil metabolisme AfB1 oleh sitokrom p450 di hati. Peningkatan ROS menyebabkan terjadinya kehilangan darah pada tubuh. Produksi ROS yang berlebihan akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan sehingga timbul stress oksidatif sel yang menyebabkan kerusakan oksidatif sel. Stres oksidatif pada sel darah

dapat mengganggu fungsi ataupun dapat menimbulkan kematian sel darah melalui proses nekrosis atau apoptosis (Rosyunita *et al.*, 2023). Toksisitas AFB1 menyebabkan stres oksidatif dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh. Aktivitas ROS di dalam tubuh dikontrol oleh sistem antioksidan tubuh. Beberapa penelitian pada manusia maupun hewan menunjukkan bahwa toksin dapat meningkatkan jumlah radikal bebas darah (Nakai & Tsuruta, 2021). Jenis ROS yang paling reaktif adalah radikal superoksida dan radikal hidroksil. Komponen sel yang berfungsi mempertahankan integritas sel mengalami kerusakan. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS tersebut atau sistem oksidannya (Prasetyaningsih *et al.*, 2022).

Salah satu mekanisme utama produksi oksidan endogen melibatkan *oxyhemoglobin* (HbO₂). Auto oksidasi HbO₂ secara spontan dengan laju yang rendah menghasilkan superoksida dan *methehemoglobin*. Sel darah merah juga dapat terpapar oksidan yang berasal dari sel endotel dan sistem imun yang menghasilkan oksida nitrat, superoksida, peroksinitrit dan asam hipoklorit. Enzim endotel menginduksi sel sistem imun yang akan menghasilkan pembentukan spesies pengoksidasi yang lebih kuat untuk melawan patogen. Secara normal sel darah merah tidak mengandung produk peroksidasi lipid, tetapi peningkatan peroksida lipid membran terbukti bisa menimbulkan gangguan pada sel darah merah. Dalam banyak kasus oksidasi lipid dikaitkan dengan oksidasi protein dan ikatan silang dengan sitoskeleton

dan protein membran. Sebagian besar oksidasi lipid dikatalis oleh HbO_2 dan menghambat timbulnya methemoglobin. Ketidakstabilan hemoglobin dipengaruhi oleh membran lipid yang mengkatalis pembentukan radikal pengoksidasi menyebabkan oksidasi lipid dan ikatan silang menimbulkan kerusakan pada sel darah merah (Orrico *F.et.al*, 2023). Oleh karena itu diperlukan upaya menanggulangi efek paparan AfB1, salah satunya dengan mengkonsumsi sayuran yang mengandung antioksidan

Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) adalah salah satu tanaman yang memiliki potensi metabolit sekunder di dalamnya salah satunya mengandung antioksidan. Daun katuk secara tradisional telah banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai untuk mengobati luka, meningkatkan produksi asi, meredakan gangguan kesehatan seperti infeksi saluran kemih, diabetes, dan demam. Daun katuk memiliki beberapa aktivitas farmakologi termasuk sitotoksik terhadap sel kanker, sifat anti inflamasi, dan penyembuhan luka (Azzahra, 2022). Daun katuk memiliki kandungan yang alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid (Azzahra, 2022). Kandungan tersebut salah satunya flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya kanker (Cikita *et al.*, 2016). Akan tetapi, penelitian mengenai pengaruh tablet ekstrak klorofil daun katuk pada tikus yang diberi pakan AfB1 belum pernah dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tablet ekstrak klorofil daun katuk terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan AfB1. AfB1 diberikan melalui pakan yang dibuat

mengandung AfB1 yang diberikan secara kronis selama 28 hari. Klorofil daun katuk dibuat dalam bentuk tablet dari penelitian (Suparmi *et al.*, 2023) untuk meningkatkan stabilitas dari klorofil sebagai *active pharmaceutical ingredients* (APIs) karena klorofil bersifat tidak stabil terhadap cahaya, oksigen, suhu, pH dan oksidasi reduksi.

1.2. Perumusan Masalah

Apakah tablet ekstrak klorofil daun katuk berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan mengandung AfB1?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui apakah tablet ekstrak klorofil daun katuk berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus diberi pakan yang mengandung AfB1.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan standar.
2. Untuk mengetahui jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1

3. Untuk mengetahui jumlah eritorit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan tablet klorofil daun katuk dosis 0,016 mg/200 g BB.
4. Untuk mengetahui jumlah eritorit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan tablet klorofil daun katuk dosis 0,16 mgs/200 g BB.
5. Untuk mengetahui jumlah eritorit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan tablet klorofil daun katuk dosis 1,6 mg/200 g BB.
6. Untuk mengetahui jumlah eritorit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan tablet klorofil daun katuk dosis 16 mg/200 g BB.
7. Untuk mengetahui jumlah eritorit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan tablet klorofil daun katuk dosis 160 mg/200 g BB.
8. Untuk mengetahui jumlah eritorit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan silimarin dosis 46,9 mg/200 g BB.
9. Untuk membandingkan kadar eritrosit dan kadar hemoglobin pada berbagai kelompok perlakuan.
10. Untuk mengetahui dosis TEKDK yang menyebabkan peningkatan paling tinggi jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin
11. Untuk mengetahui hubungan antara jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian tablet ekstrak klorofil daun katuk terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan mengandung AfB1.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini nanti diharapkan dapat mengembangkan tablet ekstrak klorofil daun katuk yang efektif untuk mencegah terjadinya penyakit yang disebabkan AfB1.



BAB II

TINJAUAN PUSATAKA

2.1. Jumlah Eritrosit

2.1.1. Definisi Eritrosit

Eritrosit merupakan sel datar yang memiliki bentuk cakram mencekung ke dua sisi dan berbentuk seperti donat dengan bagian datar tidak berlubang, eritrosit berbentuk cakram bikonkaf memiliki ketebalan berdiameter 8 mikrometer bagian dalam, 2 mikroliter bagian tepi luar, dan 1 mikroliter bagian tengah. Bentuk bikonkaf pada eritrosit terdapat permukaan lebih luas bagi oksigen untuk berdifusi melintasi membran dari plasma ke sel darah merah dibandingkan dengan sel melingkar dengan volume yang sama. Selain itu ketipisan sel memungkinkan oksigen berdifusi dengan cepat antara bagian luar dan dalam sel. Eritrosit mengalami perubahan bentuk ketika mengalir melewati kapiler sehingga dapat menyalurkan oksigen tanpa mengalami ruptur. Eritrosit memiliki volume rata-rata 90-95 mikroliter (Sherwood, 2015)

Eritrosit di dalam tubuh diproduksi pertama kali di *yolk-sac* dalam masa embrio. Kemudian eritrosit diproduksi oleh hati dalam pertengahan trimester, kemudian diproduksi di limpa dan kelenjar limfe. Setelah bayi lahir, eritrosit akan diproduksi di sumsum tulang. Saat usia lebih dari 20 tahun, eritrosit dibentuk di sumsum

tulang membranosa, vertebra, sternum, rusuk, dan ileum (Guyton *et al.*, 2019).

2.1.2. Pembentukan Eritrosit

Ketika sel darah merah (eritrosit) sudah menua dan pecah, maka digantikan dengan produksi eritrosit yang baru di sumsum tulang. Sumsum tulang merupakan jaringan lunak yang berfungsi sebagai produksi eritrosit yang baru, proses ini disebut eritropoeiesis. Awalnya eritrosit dibentuk *yolk-sac* selanjutnya dibentuk oleh hati dan limpa. Kemudian dialihkan ke sumsum tulang belakang dalam pembentukan eritrosit sempurna. Pada sebagian besar tulang terdapat sumsum tulang merah yang membentuk eritrosit pada masa anak-anak, tetapi seiring bertambah usia sumsum tulang kuning menggantikan sumsum tulang merah secara perlahan dalam pembentukan eritrosit (Sherwood, 2015).

Didapatkan adanya sel hematopoietik pluripotent merupakan sel darah merah dari asal semua sel dalam darah yang berada didalam sumsum tulang. Sel punca hematopoietik pluripoten akan membelah membentuk eritroblas. Kemudian eritroblas akan menyediakan ruangan untuk tempat hemoglobin dan akan membuang nucleus ketika hemoglobin sudah terisi penuh. Eritroblas berdiferensiasi menjadi retikulosit yang mengandung terdiri dari aparatus golgi, mitokondria, dan sitoplasma yang tersisa. Dan retikulosit ini bisa disebut eritrosit imatur. Kemudian eritrosit akan diproduksi oleh ginjal. Penurunan

kadar oksigen (O_2) di ginjal menyebabkan rangsangan untuk mengeluarkan hormon eritropoietin ke dalam darah. Hormon eritropoietin kemudian merangsang sumsum tulang untuk pembuatan sel darah merah disebut eritropoiesis. Peningkatan aktivitas hormon eritropoietin meningkatkan jumlah eritrosit sehingga kapasitas darah dalam membawa O^2 ke seluruh tubuh meningkat. (Sherwood, 2015)

2.1.3. Fungsi eritrosit

Eritrosit di dalam tubuh berfungsi sebagai:

1. Sebagai media pengangkut hemoglobin dalam mengangkut O_2 yang akan diedarkan seluruh tubuh
2. Sebagai pengangkut karbon dioksida (CO_2) dari tubuh kembali ke jantung untuk pertukaran gas
3. Eritrosit memiliki enzim anhidrase karbonat yang dapat mengkatalisis reaksi reversibel CO_2 dan air yang akan membentuk asam karbonat (H_2CO_3). Dari reaksi tersebut dapat membuat air dan darah mengangkut CO_2 dalam bentuk ion bikarbonat (HCO_3^-) didalam paru. Didalam paru, HCO_3^- akan diubah menjadi CO_2 sebagai produk pembuangan (Guyton *et al.*, 2019).

2.1.4. Jumlah Eritrosit di dalam darah

Pada laki-laki umumnya jumlah eritrosit didalam tubuh sekitar 5,4 juta/mL sedangkan untuk wanita jumlah eritrosit didalam tubuh sekitar 4,8 juta/mL (Rosita *et al.*, 2019). Pada hewan uji yang digunakan yaitu tikus galur *Sprague Dawley* rerata jumlah eritrosit normal pada tikus jantan lebih tinggi dibandingkan tikus betina. Rerata jumlah eritrosit untuk tikus jantan sebesar $5,26 \times 10^6/\mu\text{L}$, sedangkan tikus betina sebesar $5,16 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Delwatta *et al.*, 2018).

2.2. Hemoglobin

2.2.1. Definisi Hemoglobin

Hemoglobin merupakan tetramer yang memiliki 2 subunit polipeptida yang berlainan. Hemoglobin mempunyai komposisi sub unit utamanya yaitu $\alpha_2\beta_2$ (HbA; hemoglobin dewasa normal), $\alpha_2\gamma_2$ (Hbf; hemoglobin fetus), $\alpha_2\beta^s_2$ (Hbs; hemoglobin sel sabit); dan $\alpha_2\delta$ (HbA₂; hemoglobin minor). Sub unit tersebut berikatan dengan pigmen non protein dengan sebutan heme. Heme mengandung atom pusat ion besi (Fe^{2+}) yang nanti berikatan dengan oksigen. Proses ini dinamakan deoksigenasi. Hemoglobin memiliki struktur yang terdiri dari heme dan globin yang mempunyai empat gugus heme dan empat rantai polipeptida. Globin mempunyai Empat rantai polipeptida adalah gabungan antara dua rantai alfa dan dua rantai beta globin. Heme mempunyai empat molekul pirol yang dihubung oleh jembatan metana

hal ini disebut tetrapirrol siklik (Rodwell *et al.*, 2015; Rosita *et al.*, 2019).

2.2.2. Pembentukan Hemoglobin

Awal pembentukan hemoglobin terjadi di mitokondria lebih tepatnya *pro-erthroblast* dan kemudian lanjut sampai di retikulum sumsum tulang merah pada proses *eritropoiesis*. Saat retikulum meninggalkan sumsum tulang merah dan masuk ke aliran darah, retikulum akan terus membentuk hemoglobin dari jumlah kecil hingga membentuk hemoglobin dewasa. Tahap pembentukan hemoglobin diawali dengan pembentukan eritrosit. *Succinyl-CoA* merupakan senyawa intermediet yang berada di siklus Krebs berikatan dengan glisin yang nantinya membentuk pirol. Kemudian empat molekul pirol akan membentuk Protoporfirin IX, selanjutnya akan bergabung menjadi Fe^{2+} untuk membentuk molekul heme. Pada tahap akhir heme akan berikatan dengan polipeptida yang telah disintesis oleh ribosom merupakan globin yang membentuk rantai hemoglobin. Empat rantai hemoglobin akan berikatan dan membentuk molekul hemoglobin (Guyton *et al.*, 2019).

2.2.3. Fungsi Hemoglobin

Hemoglobin memiliki peranan didalam tubuh yaitu:

1. Transpor oksigen (O_2) dan karbon dioksida (CO_2)

Karena O_2 kurang larut dalam plasma, sehingga akan berikatan dengan hemoglobin di paru paru kemudian menyebar ke seluruh tubuh. Dari masing masing ke empat Fe^{2+} dari gugus heme bergabung dengan satu molekul O_2 . Hemoglobin juga berperan dalam membawa gas CO_2 kembali dari tubuh ke jantung.

2. Sebagai Pigmen yang alami

Hemoglobin memiliki warna kemerahan, karena memiliki kandungan besi dan berikatan dengan O_2 dan akan bewarna kebiruan ketika ter *deoksigenasi*.

3. Membantu menyangga ion-hidrogen asam (H^+) dan asam karbonat ter-ionisasi yang dihasilkan CO_2

Hemoglobin Sebagian besar berikatan dengan H^+ , karena hemoglobin yang tereduksi mempunyai afinitas yang lebih besar terhadap H^+ . Pada pelepasan O_2 terjadi peningkatan tersediaan hemoglobin dapat mengikat CO_2 dan H^+ yang dihasilkan CO_2 , proses ini dinamakan *efek haldene*. H^+ yang terbebas dapat menentukan keasaman dari suatu larutan. Pada darah vena tingkat keasaman lebih tinggi dibandingkan dengan darah arteri karena darah vena mengandung banyak karbon dioksida.

4. Bergabung dengan karbon monoksida (CO)

Pada CO dan O₂, akan terus memperebutkan tempat pengikatan di hemoglobin. Hemoglobin memiliki afinitas lebih tinggi terhadap CO dibandingkan dengan O₂. Ikatan CO dan HB dinamakan sebagai karboksihemoglobin (HbCO). Karena hemoglobin lebih cenderung mengikat ke karbon monoksida, bahkan presentase dari karbon monoksida sedikit dibandingkan dengan O₂. Pada keadaan normal karbon monoksida tidak didapatkan didalam tubuh, tetapi ketika terjadi kondisi tertentu gas karbon monoksida akan berikatan dengan hemoglobin.

5. Bergabung dengan nitrat oksida (NO)

Nitrat oksida memiliki sifat vasodilator yang berikatan dengan hemoglobin di paru-paru. Kemudian saat nitrat oksida (NO) dilepaskan menyebabkan melemas dan melebarkan arteriol local, sehingga terjadi vasodilatasi. Vasodilatasi membantu mengedarkan darah kaya oksigen (O₂) tanpa hambatan dan menjaga tekanan darah (Sherwood, 2015).

2.2.4. Kadar Hemoglobin Normal

Hemoglobin mempunyai kadar dalam eritrosit sekitar 34 gram per 100 ml sel. Pada kondisi normal persentase hemoglobin hampir mendekati nilai maksimum di setiap sel. Apabila ditemukan hematokrit normal (jumlah sel dalam darah 40% sampai 45%) akan memperoleh 15 g hemoglobin per 100 ml sel. Sedangkan wanita akan memperoleh 14 g per 100 ml sel (Guyton *et al.*, 2019). *International committee for*

standardization in Hematology (ICSH) menganjurkan menggunakan metode *cyanmethemoglobin* untuk pemeriksaan kadar hemoglobin dengan menghitung secara otomatis kadar hemoglobin dalam eritrosit (Lailla *et al.*, 2021). Tabel 2.1 menunjukkan nilai kadar Hb kategori normal dan anemia menurut jenis kelamin dan usia.

Tabel 2.1 Kadar Hemoglobin (g/l) (Ningrum *et al.*, 2022; Who & Chan, 2011)

Populasi	Kadar Hb (g/dL)				
	Normal kadar hemoglobin	Non-anemia	Ringan	Sedang	Berat
Anak usia 6-59 bulan	11 g/dl	>11.0	10.0-10.9	7.0-9.9	<7.0
Anak usia 5-11 tahun	11.5 g/dl	>11.5	11.0-11.4	8.0-10.9	<8.0
Anak usia 12-14 tahun	12 g/dl	>12.0	11.0-11.9	8.0-10.9	<8.0
Wanita tidak hamil > 15 tahun		>12.0	11.0-11.9	8.0-10.9	<8.0
Wanita hamil	11	>11.0	10.0-10.9	7.0-9.9	<7.0
Pria (> 15 tahun)	13 g.dl	>13.0	11.0-12.9	8.0-10.9	<8.0

Rerata kadar hemoglobin normal pada hewan uji yang digunakan adalah tikus galur *Sprague dawley* sebesar 13,63 g/dL untuk tikus jantan dan 12,86 g/dL untuk tikus betina. Kadar hemoglobin tikus jantan lebih tinggi daripada tikus betina meskipun terdapat kesamaan dari usia tikus, kondisi lingkungan, dan makanan yang dimakan oleh tikus

2.2.5. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin

1. Usia

Semakin bertambahnya usia maka jumlah eritrosit yang berada didalam darah semakin rendah dikarenakan penurunan fungsi ginjal dalam sekresi hormon eritropoietin untuk memproduksi sel darah merah (Al-Sharefi et al., 2019). Dan bertambahnya usia terjadi penurunan terhadap produksi kadar hemoglobin. Penurunan produksi kadar hemoglobin terlihat pada rentang umur 41 sampai 60 tahun (Suryaningsih *et al.*, 2014).

2. Jenis kelamin

Laki-laki memiliki jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin lebih tinggi di bandingkan dengan wanita. Karena Wanita setiap bulannya mengalami menstruasi. Ketika terjadi menstruasi wanita mengalami banyak kehilangan darah dan menyebabkan kadar hemoglobin menurun (Al-Sharefi et al., 2019; Fadlilah, 2018)

3. Aktivitas fisik

Aktivitas fisik maksimal dapat mempengaruhi ketidakseimbangan produksi radikal bebas dan antioksidan tubuh yang memicu stress oksidatif. Kondisi ini menyebabkan radikal bebas meruksal organel membran sel dan peroksida lipid yang mengakibatkan sel eritrosit mengalami hemolisis sehingga terjadi lisis pada membran eritrosit dan pada Hemoglobin ketika ion hidrogen dan asam laktat akan

semakin banyak diproduksi dan menurunkan pH. PH yang rendah akan melepaskan oksigen dari hemoglobin yang akan dikirim ke otot. (Fadlilah, 2018; Saputro & Junaidi, 2015).

4. Pola makan

Pola makan merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kadar hemoglobin. Makanan yang mengandung zat besi (Fe) membantu meningkatkan eritrosit untuk membentuk hemoglobin. Makanan yang mengandung zat besi (Fe) salah satunya daging merah. Setelah zat besi (Fe) diabsorpsi didalam usus halus, kemudian bergabung menjadi apoferritin agar membentuk feritin sebagai tempat cadangan zat besi (Fe)(Guyton *et al.*, 2019).

2.3. Tablet Ekstra Klorofil Daun Katuk

2.3.1. Tablet

Tablet merupakan bentuk sediaan obat padat yang berbentuk tabung pipih dengan cara kempa atau cetak. Beberapa metode dengan cara dikempa yaitu langsung, granulasi basah, granulasi kering, *fast melt granulation*, *foam granulation*. Metode kempa paling sering digunakan dalam pembuatan tablet salah satunya metode kempa langsung. Metode ini dilakukan dengan menggabungkan zat aktif eksipien sebelum terjadi proses tablet dikompresi. Metode ini mempunyai keuntungan yaitu: kesederhaan formula, pengurangan biaya, tenaga kerja, biaya energi dalam pembuatan, dan menghindari obat yang peka terhadap air (Sulaiman & Sulaiman, 2020). Tablet ini

mengandung zat aktif dengan atau tidak menggunakan bahan tambahan tersebut. Beberapa zat tambahan berupa zat pengisi, zat pengemban, zat pembasah, zat pengikat, dan zat yang lain. Jenis tablet yang paling sering diproduksi yaitu tablet yang dikonsumsi dengan cara menelan langsung, dengan tujuan langsung ke saluran pencernaan. Tetapi tablet ini memiliki syarat dengan seluruh komponen bahanya harus mudah terlarut atau terdispersi dalam bentuk suspensi halus (Parfati & Rani, 2018).

2.3.2. Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Daun katuk atau nama botani (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) adalah tanaman jenis Semak yang tumbuh di daerah tropis yang hangat dan lembab dan digunakan sebagai sayuran (Azzahra, 2022). Dan daun katuk dapat ditemukan di dataran tinggi. Gambar 2.1 menunjukkan katuk mempunyai bentuk daun tunggal dengan laset di permukaan atas daun berwarna hijau gelap dan dibawah berwarna hijau terang (Santoso, 2016).



Gambar 2.1 Tanaman katuk (*Sauropus androgynus*)

Taksonomi dari daun katuk (Santoso, 2016). yaitu:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Graniales
Suku : Euphorbiaceae
Anak suku : Phyllanthoideae
: Phyllanth
Marga : Sauropus
Jenis: *Sauropus androgynus* (L.) Merr.

Daun katuk dapat dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat luka, memperlancar air susu ibu, meredakan gangguan saluran kencing, diabetes dan demam. Daun katuk memiliki aktivitas farmakologi yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, anti inflamasi, dan penyembuhan luka (Azzahra, 2022).

Daun katuk memiliki kandungan yang bermanfaat untuk tubuh yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid (Santoso *et al.*, 2022). Kandungan tersebut salah satunya flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya kanker (Cikita *et al.*, 2016). Daun katuk memiliki efek samping ketika dikonsumsi berlebihan yaitu rasa ngantuk, susah buang air besar, hingga sesak napas. Oleh karena itu, perlu diperhatikan dalam mengkonsumsinya (Bunawan *et al.*, 2015)

2.3.3. Klorofil

2.3.3.1. Definisi Klorofil

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang dapat ditemukan pada tumbuhan, alga, dan *cynobacteria*. Klorofil dapat membantu proses fotosintesis dengan menggunakan cahaya menjadi energi kimia. Peningkatan tanaman dalam menangkap cahaya matahari dan proses fotosintesis menjadi cepat apabila jumlah klorofil meningkat (Zakiyah *et al.*, 2018).

2.3.3.2. Struktur Klorofil

Klorofil mempunyai struktur yang mirip dengan hemoglobin, dikarenakan terdapat empat molekul pirol yang dihubungkan oleh metina dan dibagian sentral tetrapirel didapatkan mengandung logam. Pada hemoglobin mengandung zat besi (Fe) sedangkan klorofil mengandung Mg (Rodwell, 2015).

2.3.2.3. Fungsi klorofil

Klorofil memiliki peran dalam menangkap energi dari cahaya matahari kemudian dimasukkan ke protein dalam sistem fotosintesis. Energi yang di tangkap akan digunakan mereduksi air (H_2O) menjadi oksigen (O_2), kemudian menghasilkan elektron. Elektron akan memproses pembentukan senyawa *adenosin trifosfat* (ATP) dan

nicotinamide adenine dinucleotide phosphite (NADPH) yang nantinya menjadi fasilitas dalam mengikat CO₂ menjadi karbohidrat (Lawendatu *et al.*, 2020).

2.3. Aflatoksin B1

Aflatoksin B1 merupakan mitoksin yang dihasilkan jamur *Aspergillus flavus* yang dapat menyebabkan penyakit dan kematian pada manusia dan hewan. AfB1 merupakan zat karsinogenik yang dapat menghasilkan toksisitas terutama organ hepar, jantung, ginjal, dan fisiologi tubuh lainnya. AfB1 memiliki aktivitas metabolik didalam tubuh yang dapat membentuk ROS dan sel kanker. (Rosyunita *et al.*, 2023; Nasrianto *et al.*, 2012)

Paparan AfB1 ke dalam tubuh dapat memproduksi oksidasi HbO₂ menyebabkan sel darah merah ikut terpapar oksidan yang dapat menimbulkan kerusakan pada sel darah merah (Orrico *et al.*, 2023).

2.4. Silimarin

Silimarin merupakan flavonolignan yang memiliki sifat antioksidan yang didapatkan dari ekstrak tanaman *Silybum marianum* (*milk thistle*) dan termasuk keluarga Asteraceae, *Silybum marianum* sudah dimanfaatkan selama berabad-abad dalam mengobati gangguan hati dan kandung empedu, dan dapat mengobati keracunan kimia dan lingkungan, seperti gigitan ular dan serangga, keracunan alkohol dan jamur karena memiliki efek antioksidan (Jaffar *et al.*, 2024).

Tanaman *Silybum marianum* memiliki daun berukuran besar dan bercak putih di sekitarnya dan bentuk daun memiliki bagian menyirip,

memiliki bunga yang panjangnya 12 cm dan lebar, dengan warna ungu tua dan bijinya akan dijadikan obat (Junaidi *et al.*, 2018).

Silybum marianum memiliki efek antioksidan salah satu zat yang memiliki sifat antioksidan adalah Silimarin memiliki kandungan flavonolignan yang mempunyai komponen zat aktif dari silibin A, Silibin B, isosilibin A, isosilibin B, silicristin dan silidianin yang diambil dari ekstrak tanaman *Silybum marianum* dengan etanol (Surai, 2015).

2.5. Hubungan Antara Tablet Klorofil dengan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin

Daun katuk memiliki kandungan klorofil yang dapat berperan sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa stabil berperan mendonorkan elektron atau hidrogen (H) terhadap molekul atau radikal bebas, sehingga dapat mengurangi reaksi berantai radikal bebas yang akan memicu stress oksidatif. Radikal bebas memicu stres oksidatif protein yang ada di eritrosit akibatnya terjadi hemolisis membran eritrosit. Hemolisis ini akan memicu dari proses *eritropoiesis* di sumsum tulang untuk pembentukan eritrosit baru. Pembentukan eritrosit baru yang dipercepat ditandai dengan bertambahnya jumlah eritrosit immatur yaitu eritroblas dan retikulosit (Ambarwati, 2012).

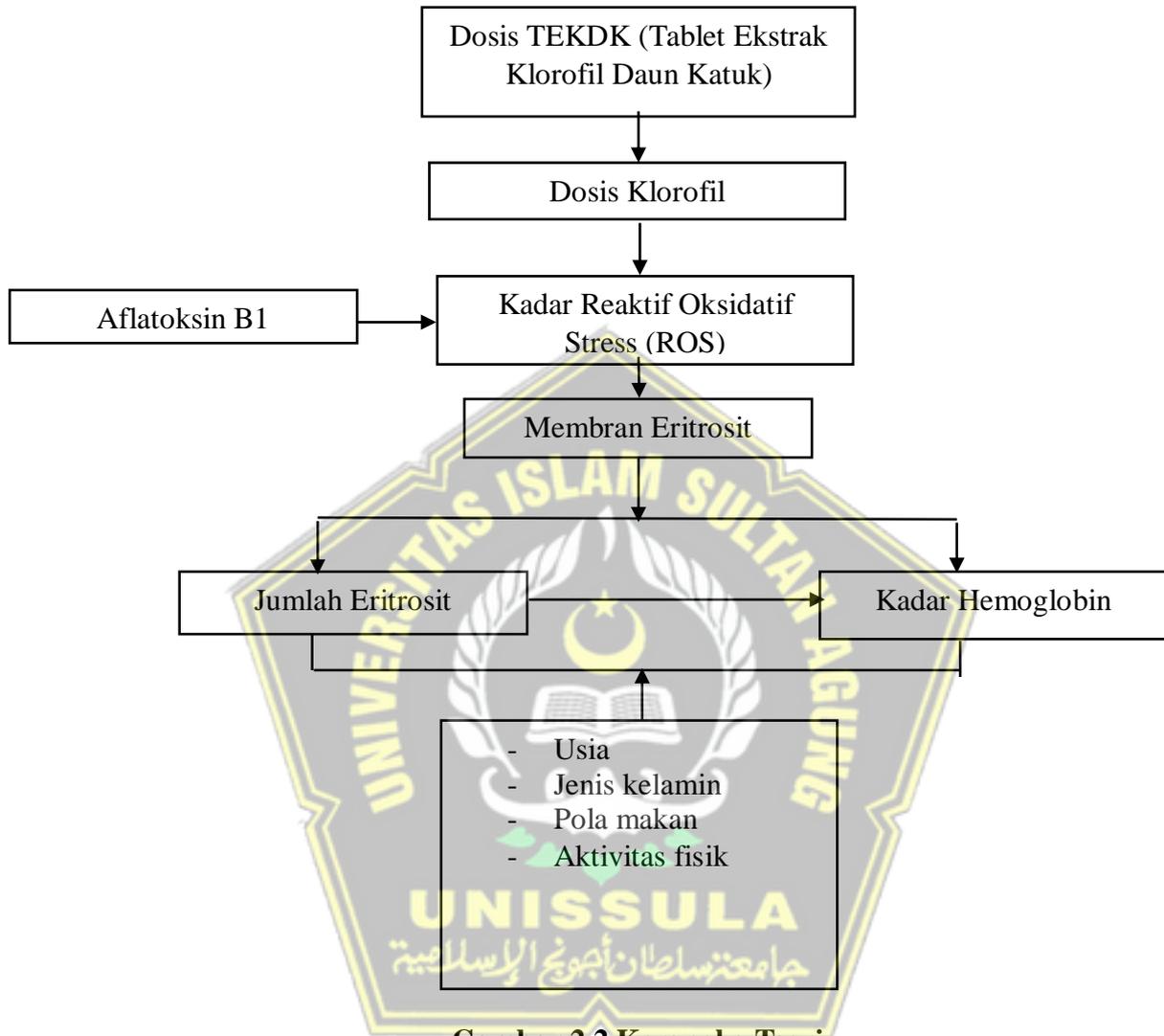
Tablet klorofil berfungsi untuk mengurangi paparan toxid dengan mengurangi paparan oksidan. Tablet klorofil memiliki kandungan yang bermanfaat untuk tubuh yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid (Azzahra, 2022). Kandungan tersebut salah satunya flavonoid memiliki peran

sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya penurunan kadar hemoglobin dan eritrosit (Cikita *et al.*, 2016)

Pemberian tablet klorofil dapat berpengaruh terhadap peningkatan kadar hemoglobin dan eritrosit setelah terpapar toxid yang mengandung radikal bebas. Klorofil memiliki efek antioksidan terbukti dapat mencegah terjadinya penurunan atau dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Suparmi *et al.*, 2016).

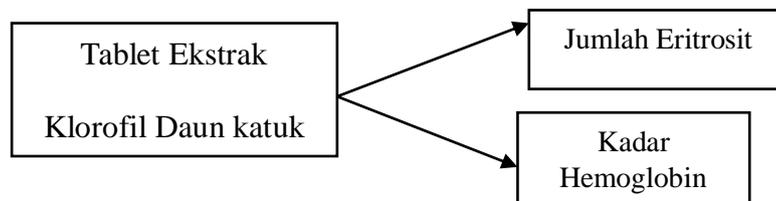


2.6. Kerangka Teori



Gambar 2.2 Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Tablet ekstrak klorofil daun katuk berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus diberi pakan yang mengandung AfB1.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel Penelitian

3.2.1.1 Variabel bebas

Dosis tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK)

3.2.1.2 Variabel Tergantung

Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Dosis tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK)

Dosis tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) diformulasi menggunakan metode kempa langsung dari penelitian terdahulu suparmi *et al.*, (2023). Daun katuk diambil dari taman toga Perumahan Sembungharjo Kecamatan Genuk, Semarang, Jawa Tengah. Ekstrak Klorofil Daun Katuk diambil dengan metode maserasi menggunakan aquades. Dosis TEKDK yang digunakan dalam penelitian ini adalah

0,016 mg /200 g BB, 0,16 mg /200 g BB, 1,6 mg /200 g BB, 16 mg/200 g BB, dan 160 mg/200 g BB. Pemberian tablet dalam bentuk suspensi dengan CMC-Na sebanyak 5 ml/hari. Tablet diberikan secara oral per hari dengan metode sonde lambung.

Skala = Nominal

3.2.2.2 Jumlah eritrosit

Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin diperiksa pada hari ke-29 setelah dilakukannya perlakuan. Pengukuran jumlah eritrosit dilakukan dengan *hematology Analyzer*. Sampel darah yang digunakan diambil melalui *sinus retro orbitalis*. Satuan dari jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin adalah juta/ μ L dan g/dl.

Skala = Rasio.

3.2.2.3 Kadar Hemoglobin

Jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin diperiksa pada hari ke-29 setelah dilakukannya perlakuan. Pengukuran jumlah eritrosit dilakukan dengan *hematology Analyzer*. Sampel darah yang digunakan diambil melalui sinus retro orbitalis. Satuan dari jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin adalah juta/ μ L dan g/dl.

Skala = Rasio.

3.3 Subjek Uji

Subjek uji pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley* yang didapatkan dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sampel yang digunakan pada penelitian ini dibagi menjadi 8 kelompok dan besarnya didapat dari rumus Federer sebagai berikut

(Dewi & Probosari, 2012)

$$(n-1)(k-1) \geq 15$$

$$(8-1)(k-1) \geq 15$$

$$(7) - (n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 15 + 7$$

$$n \geq 22/7$$

$$n \geq 3,14 = 4$$

Keterangan:

n: jumlah sampel

k: perlakuan sampel

Untuk menghindari *loss to sample* maka dilakukan koreksi dengan cadangan.

$$\text{Cadangan} = 10\% \times n$$

$$= 10\% \times 8$$

$$= 0,8 = 1$$

Dengan menggunakan rumus Federer, maka diperoleh minimal 4 ekor dan minimal 1 ekor cadangan untuk menghindari kemungkinan *loss of sample*. Maka dari itu, jumlah hewan uji tiap kelompok adalah 6 ekor tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley*.

Penentuan sampel berdasarkan metode *simple random sampling* yaitu dengan memilih secara acak subjek uji yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam kelompok kontrol atau kelompok perlakuan. Kriteria inklusi dan eksklusi yang digunakan sebagian berikut :

3.3.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus Jantan galur *Sprague-Dawley* sehat dan aktif
2. Berat badan tikus 180-200 g
3. Umur Tikus 2 bulan
4. Tikus tidak ada luka atau cacat

3.3.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang mengalami kelainan anatomis atau kecacatan
2. Tikus yang sakit

3.3.3 Kriteria Drop Out

Tikus mati selama penelitian berlangsung

3.4 Instrumen Penelitian dan Bahan Penelitian

3.4.1 Instrumen

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah set kandang tikus, alat sonde tikus, neraca ohaus 3 lengan, set *hematology analyzer*, spektrofotometer, *sentrifuge*, timbangan analitik, *freeze*

dryer, blender, aluminium foil, *rotary tablet press*, *hardness tester*, *friability tester*, *hematology analyzer*, masker, dan handscone, berbagai alat gelas, dan pipet.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian meliputi tikus putih, tablet klorofil daun katuk, aflatoksin B1, tablet silimarin, pakan tikus, akuades, dan serbuk natrium karboksimetil selulosa (CMC-Na).

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

Subjek uji tikus jantan galur Wistar disiapkan sebanyak 48 ekor, kandang, makanan dan minumannya serta alat dan bahan untuk menilai jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.

3.5.1.1 Uji Efektivitas Tablet pada tikus

Tablet Ekstrak Klorofil Daun Katuk diperoleh dari tim penelitian Suparmi *et al.* (2023). Klorofil diekstrak menggunakan air dengan metode maserasi. Proses pembuatan tablet menggunakan metode kempa langsung. Tablet yang diperoleh kemudian dilarutkan dengan aquades sesuai dengan dosis masing-masing kelompok perlakuan. Dosis efektif ekstrak klorofil daun katuk untuk tikus sebesar 0,016 mg /200 g BB tikus selama 14 hari. (Suparmi *et al.*, 2016). Tablet optimal disuspensi dengan CMC-Na konsentrasi 0,5%. Diberikan pada tiap kelompok sehat (KS), kelompok negatif

(K-) tanpa dosis, perlakuan 1 (P1) dengan dosis 0,026 mg/200 g BB, perlakuan 2 (P2) dengan dosis 0,16 mg/200 g BB, perlakuan 3 (P3) dengan dosis 1,6 mg/200 g BB, perlakuan 4 (P4) dengan dosis 1,6 mg/200 g BB, perlakuan 5 (P5) dengan dosis 160/200 g BB. Sebanyak 1 ml /200 g BB disondekan ke tikus. Penyondean dilakukan selama 28 hari dan dilakukan penimbangan berat badan tikus setiap 3 hari sekali.

3.5.1.2 Ethical clearence

Ethical clearence diperoleh dari Komisi Bioetika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula), Semarang, Jawa Tengah pada tanggal 20 Januari 2024 dengan nomor 37/I/2024/Bioetik

3.5.1.3 Proses Repelleting

1. Pakan standart dihaluskan dan letakkan dalam wadah.
2. Tambahkan AFB1 sebanyak 10 mg/kg pakan dan campur menggunakan mixer.
3. Kemudian tambahkan air secukupnya sedikit demi sedikit
4. Selanjutnya, cetak menggunakan extruder.
5. Setelah itu, pakan dikeringkan dengan kabinet dryer pada suhu 40°C selama 8 jam.
6. Tikus diberi pakan sebanyak 20 g per hari pada pagi dan malam hari selama 28 hari.

3.5.1.4 Analisis Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin

Dilakukan pengambilan sampel darah sebanyak 1 mL melalui *sinus retro orbitalis* kemudian ditampung pada tabung yang berisi antikoagulan EDTA kemudian dihomogenkan. Perhitungan jumlah eritrosit menggunakan metode otomatis yaitu menggunakan alat *hematology analyzer*. Prinsip kerja alat ini dengan mengukur impedansi listrik yang dialirkan ke sel darah. Sampel darah yang digunakan akan dilakukan delusi sebanyak 200 kali kemudian data tersebut akan diolah oleh mikroprosesor yang selanjutnya akan ditampilkan di *display* alat untuk hasilnya (Zaini Miftach, 2018).

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

3.5.2.3 Aklimatisasi

Penelitian dilakukan pada 48 ekor tikus putih jantan galur *sparague-Dawley* yang telah disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus akan diberikan pakan dan minum standar selama 7 hari pertama pada pagi dan sore hari.

3.5.2.4 Pembagian Kelompok

Tikus yang sudah termasuk kriteria inklusi kemudian dirandomisasi atau diacak menjadi 8 kelompok, 2 kelompok kontrol yang berisi 6 tikus dan 6 kelompok perlakuan yang berisi 6 tikus.

1. Kontrol Sehat (S) : kelompok tikus yang hanya diberi pakan dan minum standar.
2. Kontrol Negatif (N): kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dosis 0,018 mg/g BB.
3. Perlakuan I (P1) : kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan TKDK dengan dosis 0,016 mg/200g BB.
4. Perlakuan II (P2) : kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan TKDK dengan dosis 0,16 mg/200g BB.
5. Perlakuan III (P3): kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan TKDK dengan dosis 1,6 mg/200g BB.
6. Perlakuan IV (P4): kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan TKDK dengan dosis 16 mg/200g BB.
7. Perlakuan V (P5) : kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan TKDK dengan dosis 160 mg/200g BB.
8. Perlakuan VI (P6) : kelompok tikus yang diberi pakan yang mengandung AfB1 dan silymarin dengan dosis 469 mg/200g BB.

4.5.2.3. Pengukuran Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin

Dilakukan pengambilan sampel darah sebanyak 1 mL melalui *ophthalmic venous plexus* kemudian ditampung pada tabung yang berisi antikoagulan EDTA kemudian dihomogenkan. Perhitungan jumlah eritrosit menggunakan metode otomatis yaitu menggunakan alat *hematology analyzer*. Prinsip kerja alat ini dengan mengukur impedansi listrik yang dialirkan ke sel darah. Sampel darah yang digunakan akan dilakukan delusi sebanyak 200 kali kemudian data tersebut akan diolah oleh mikroprosesor yang selanjutnya akan ditampilkan di *display* alat untuk hasilnya.

3.6 Tempat dan waktu Penelitian

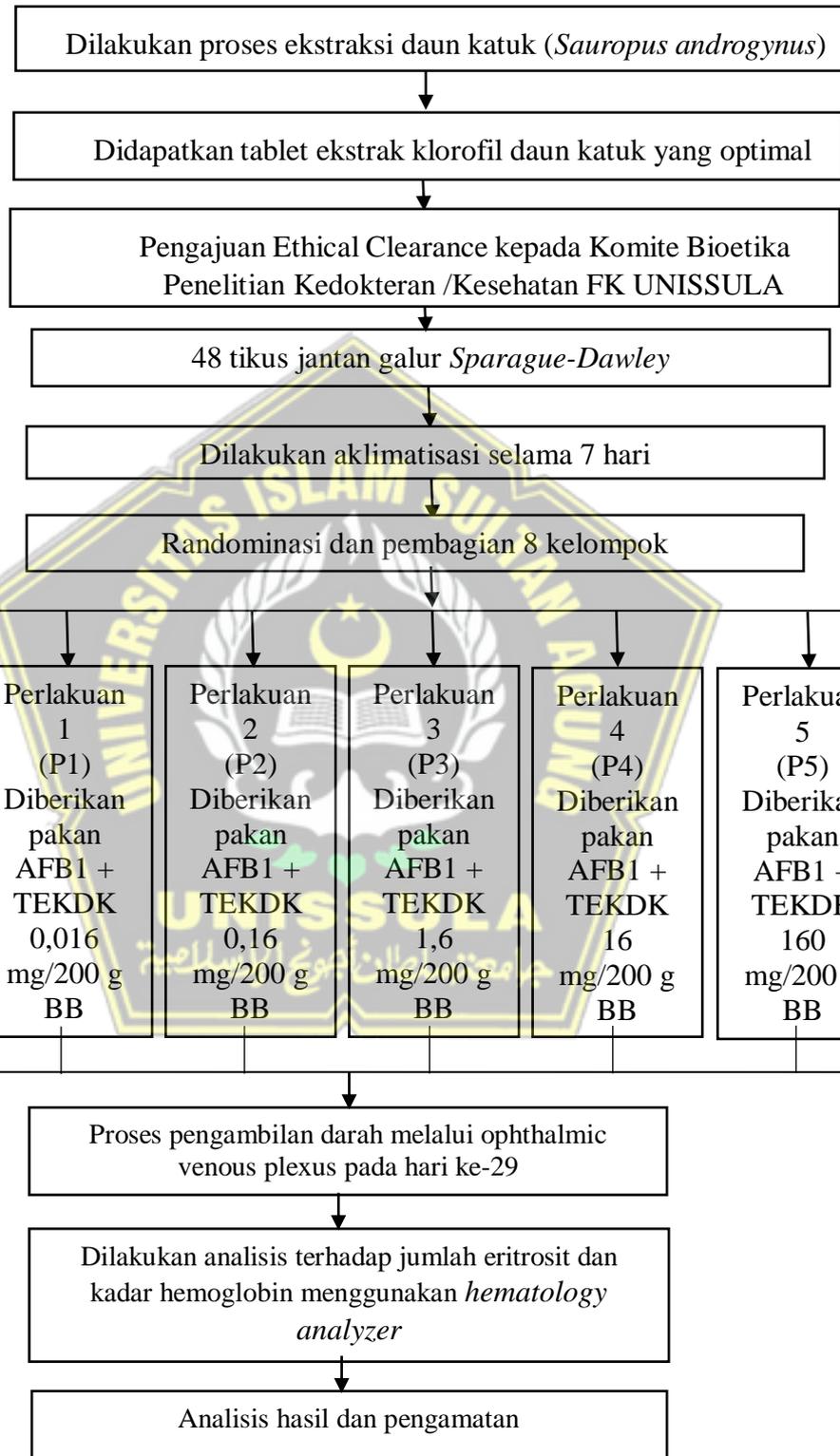
3.6.1 Tempat Penelitian

Perlakuan terhadap subjek uji dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

3.6.2 Waktu Penelitian

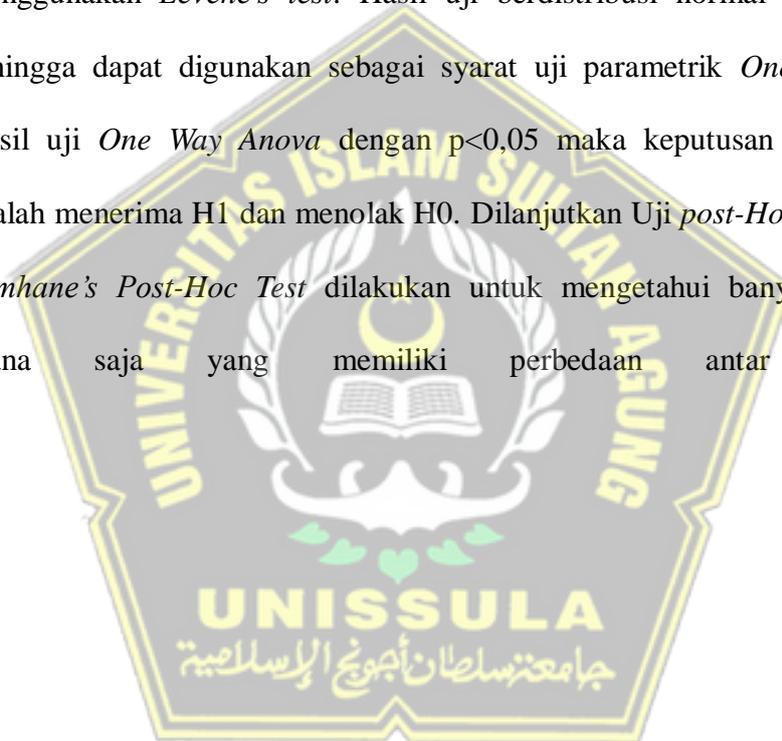
Penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai Agustus 2024.

Alur Penelitian



3.7 Analisis Data

Analisis hasil penelitian diolah menggunakan analisis statistik dengan program *IBM SPSS 26.0 for Windows*. Data rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin adalah skala rasio. Dilakukan Uji data normalitas dengan menggunakan Uji *Kolmogorov Smirnov* dan dilanjutkan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Hasil uji berdistribusi normal dan homogen sehingga dapat digunakan sebagai syarat uji parametrik *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* dengan $p < 0,05$ maka keputusan yang diambil adalah menerima H_1 dan menolak H_0 . Dilanjutkan Uji *post-Hoc LSD* dan Uji *Tamhane's Post-Hoc Test* dilakukan untuk mengetahui banyak kelompok mana saja yang memiliki perbedaan antar kelompok.

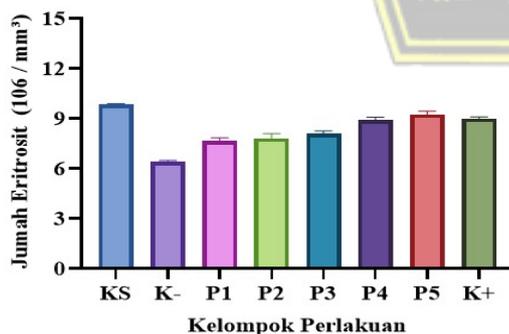


BAB IV

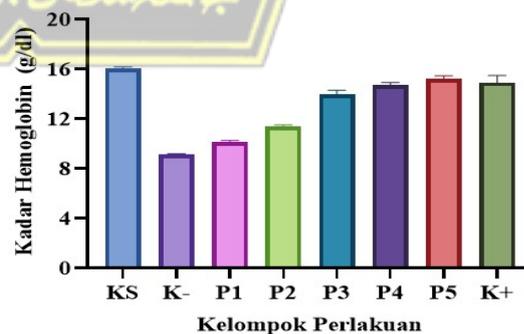
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tablet ekstrak klorofil daun katuk terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan aflatoksin B1 (AfB1) dengan dibuktikan dengan rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada kelompok yang diberi pakan mengandung AfB1 (K-) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus normal (K+). Pemberian tablet klorofil daun katuk (TEKDK) dosis 0,016 mg /200 g (P1); 0,16 mg /200 g (P2); 1,6 mg /200 g (P3), ; 16 mg /200 g (P4), 160 mg /200 g (P5) berpengaruh lebih tinggi rerata jumlah eritrosit (Gambar 4.1a) dan kadar hemoglobin (Gambar 4.1b) pada tikus yang diberi pakan mengandung AfB1 (K2). Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada kelompok tikus yang diberikan TEKDK dosis 160 mg /200 g (P5) lebih tinggi daripada uji kelompok yang diberi kapsul Silimarini 46,9 mg / 200 g (K+).



(a)



(b)

Gambar 4.1. Rerata jumlah eritrosit (a) dan kadar hemoglobin (b) pada tiap kelompok perlakuan

Tabel 4.2. menunjukkan hasil analisis statistik rerata jumlah eritrosit pada tiap kelompok perlakuan. Hasil uji normalitas distribusi data dengan *Kolmogorov Smirmov test* menunjukkan bahwa distribusi data kelima kelompok menyebar secara normal dengan $p > 0,05$. Hasil uji homogenitas dengan *Levene test* didapatkan $p = 0,063$ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa varian data tidak homogen. Hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai $p = < 0,001$ ($p < 0,05$) menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang mempunyai rerata jumlah eritrosit yang berbeda secara bermakna.

Tabel 4.2 Data jumlah eritrosit pada tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Jumlah eritrosit (Rerata \pm SD)	<i>p-value</i>		
		<i>Kolmogorov Smirmov</i>	<i>Levene</i>	<i>One Way Anova</i>
KS	982,8 \pm 5,41	0,099		
K -	638,3 \pm 8,73	0,191		
P1	765,3 \pm 17,4	0,200		
P2	780,6 \pm 27,5	0,200	0,063	<0,001
P3	807,5 \pm 16,4	0,200		
P4	890,0 \pm 17,3	0,200		
P5	923,8 \pm 19,8	0,200		
K+	899,6 \pm 8,35	0,200		

Tabel 4.3. menunjukkan hasil analisis statistik rerata kadar hemoglobin pada tiap kelompok perlakuan. Hasil uji normalitas distribusi data dengan *Kolmogorov Smirmov test* menunjukkan bahwa distribusi data kelima kelompok menyebar secara normal dengan $p > 0,05$. Hasil uji homogenitas dengan *Levene test*

didapatkan $p=0,003$ ($p<0,05$) menunjukkan bahwa varian data homogen. Hasil uji *One Way Anova* diperoleh nilai $p=<0,001$ ($p<0,05$) menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang mempunyai rerata kadar hemoglobin yang berbeda secara bermakna.

Tabel 4.3 Data kadar hemoglobin tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar Hemoglobin (Rerata \pm SD)	<i>p-value</i>		
		<i>Kolmogorov Smirmov</i>	<i>Levene</i>	<i>One Way Anova</i>
KS	1602 \pm 13,9	0,099		
K -	908,3 \pm 9,72	0,191		
P1	1010 \pm 11,9	0,200		
P2	1137 \pm 10,2	0,200	0,003	<0,001
P3	1396 \pm 31,5	0,200		
P4	1469 \pm 22,1	0,200		
P5	1520 \pm 23,7	0,200		
K+	1489 \pm 56,9	0,200		

Hasil uji *post hoc LSD* (Tabel 4.4) dan uji *post hoc Tamhane* (Tabel 4.5) menunjukkan bahwa perbedaan rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang bermakna ($p<0,05$) antara KS dengan K-, P1, P2, P3, P4, P5, dan K+. Rerata jumlah eritrosit P1 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan P2 dan rerata kadar hemoglobin P3 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan P4. Hal ini juga berlaku pada perbandingan rerata jumlah eritrosit pada P4 dengan K+ dan rerata kadar hemoglobin pada P5 dan K+. Sedangkan pada perbandingan antar kelompok lain pada rerata jumlah eritrosit yaitu P3 dan P5 dan rerata kadar hemoglobin P1 dan P2 menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Tabel 4.4 Analisis Post Hoc LSD terhadap kelompok penelitian jumlah eritrosit

	KS	K-	P1	P2	P3	P4	P5	K+
KS		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
K-	<0,001*		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
P1	<0,001*	<0,001*		0,117	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
P2	<0,001*	<0,001*	0,117		0,008*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
P3	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,008*		<0,001*	<0,001*	<0,001*
P4	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*		<0,001*	<0,001*
P5	0,319	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,001*		0,016
K+	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,319	0,016	

Keterangan: *= ada perbedaan bermakna

Tabel 4.5 Analisis Post Hoc Tamhane terhadap kelompok penelitian kadar hemoglobin

	KS	K-	P1	P2	P3	P4	P5	K+
KS		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,002*	0,105
K-	<0,001*		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
P1	<0,001*	<0,001*		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
P2	<0,001*	<0,001*	<0,001*		<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
P3	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*		0,036	0,001*	0,215
P4	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,36		0,087	1,000
P5	0,002*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,001*	0,087		1,000
K+	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,215	1,000	1,000	

Keterangan: *= ada perbedaan bermakna

4.2. Pembahasan

Paparan AfB1 ke dalam tubuh dapat memproduksi oksidasi HbO₂ menyebabkan sel darah merah ikut terpapar oksidan yang dapat menimbulkan kerusakan pada sel darah merah (Orrico *et al.*, 2023). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa (K-) yang merupakan hasil pengukuran jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tikus yang telah di induksi AfB1 lebih rendah dari hasil pengukuran kadar eritrosit dan hemoglobin sebelum dilakukan diberi pakan AfB1 (KS). Data tersebut menunjukkan bahwa tikus yang telah diberi pakan AfB1 mengalami lebih rendah jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin. Tabel 4.1 rerata kadar eritrosit (K+) mengalami peningkatan kadar eritrosit P1, P2, P3, P4, P5 maupun (K+). Pada tabel 4.2 menunjukkan rerata kadar hemoglobin (KS) terjadi lebih tinggi pada P1, P2, P3, P4, P5 dan (K+). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata terendah dari jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada (K-) yang diberikan pakan mengandung AfB1. Nilai normal rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yaitu jumlah eritrosit sebesar $5,26 \times 10^6 / \mu\text{L}$ dan kadar hemoglobin sebesar 12,86 g/dL (Delwatta *et al.*, 2018). Hal ini dapat disebabkan AfB1 menurunkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin. Penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin disebabkan oleh reaksi AfB1 yang meningkatkan ROS mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan sehingga menimbulkan stress oksidatif sel yang mengganggu fungsi atau dapat menimbulkan

kematian sel darah dan akibat reaksi dari AfB1 dengan protein dan lipid mengikat radikal bebas sehingga memicu peroksida lipid yang dapat membuat ketidakstabilan hemoglobin (Orrico *et al.*, 2023; Rosyunita *et al.*, 2023). Hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Phillips & Henderson, (2018) yang menunjukkan bahwa hemolisis oksidatif menyebabkan kerusakan eritrosit melalui fagositosis. Kerusakan eritrosit dikarenakan hemolisis menyebabkan anemia hemolitik oksidatif.

Pemberian tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) dosis 0,016 mg /200 g (P1); 0,16 mg /200 g (P2); 1,6 mg /200 g (P3); 16 mg /200 g (P4), 160 mg /200 g (P5) berpengaruh terhadap rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan mengandung AfB1 (K-). Tabel ini menunjukkan hasil analisis Post Hoc LSD yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara P1 sampai P5 signifikan mengalami peningkatan jumlah eritrosit dengan nilai $P < 0,001$. Tabel 4.8 analisis Post Hoc Tamhane yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar hemoglobin P1 sampai P5 $P < 0,00$. Pemberian tablet klorofil dapat berpengaruh lebih tinggi terhadap kadar hemoglobin dan eritrosit setelah terpapar toxid yang mengandung radikal bebas. Klorofil memiliki efek antioksidan terbukti dapat mencegah terjadinya penurunan atau dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Suparmi *et.al*,2016). Efek antioksidan tersebut dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya kepada

senyawa radikal bebas yang sangat reaktif (Martins et al., 2023).

Kelompok kontrol positif (K+) menggunakan silimarin sebagai salah satu tablet dengan kandungan antioksidan yang banyak dijual dipasaran. Kelompok P5 merupakan dosis paling tinggi 160 mg/200 g menunjukkan hasil pengukuran kadar eritrosit dan hemoglobin paling tinggi. Hasil tersebut sama dengan hasil pengukuran kadar eritrosit dan hemoglobin tikus yang diberikan silimarin (K+) dengan dosis 46,9 mg/ 200g . Hal ni menunjukkan kandungan klorofil silimarin lebih tinggi daripada tablet ekstrak daun katuk, dimana kandungan klorofil silimarin tiga kali lipat dari ekstrak daun katuk. Silimarin mengandung senyawa flavonoligan yang berfungsi sebagai zat antioksidan yang dapat mencegah pembentuk radikal bebas dan mencegah oksidasi lipid dan protein (Jaffar *et al.*, 2024). Hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian dari Junaidi *et al.*, (2018) menunjukkan konsumsi 120 mg silimarin dua kali seminggu selama 2 bulan dapat menurunkan kadar aspartat transaminase (AST dan alanin transaminase (ALT) di dalam serum darah pasien penyakit hati

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak tersedianya data mengenai kadar ROS yang merusak membran eritrosit dapat mempengaruhi pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin, sehingga mekanisme pertahanan antioksidan pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin akibat pemberian makanan mengandung AfB1 masih belum diketahui.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan:

1. Pemberian tablet klorofil ekstrak daun katuk berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diberi pakan mengandung AfB1
2. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin normal adalah $982,8 \pm 5,41$ dan $1602 \pm 13,9$
3. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus yang diberi pakan mengandung AfB1 adalah $638,3 \pm 8,73$ dan $908,3 \pm 9,72$
4. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diberi pakan mengandung AfB1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) dosis $0,016 \text{ mg}/200 \text{ g}$ adalah $765,3 \pm 17,4$ dan $1010 \pm 11,9$
5. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diberi pakan mengandung AfB1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) dosis $0,16 \text{ mg}/200 \text{ g}$ adalah $780,6 \pm 27,5$ dan $1137 \pm 10,2$
6. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diberi pakan mengandung AfB1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) dosis $1,6 \text{ mg}/200 \text{ g}$ adalah $807,5 \pm 16,4$ dan $1396 \pm 31,5$
7. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diberi pakan mengandung AfB1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) dosis $16 \text{ mg}/200 \text{ g}$ adalah $890,0 \pm 17,3$ dan $1469 \pm 22,1$

8. Rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang diberi pakan mengandung AfB1 dan tablet ekstrak klorofil daun katuk (TEKDK) dosis 160 mg/200 g adalah $923,8 \pm 19,8$ dan $1520 \pm 23,7$
9. Terdapat perbedaan rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang mendapat TEKDK dengan dosis 0.016 mg/200 g; 0,16 mg/200 g; 1,6 mg/200 g; 16 mg/200 g; 160 mg/200 g serta terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara P1 dan P5 dengan dosis 0,016 mg /200 g dan 160 mg /200 g.
10. Terdapat perbedaan rerata jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang mendapat TEKDK dengan dosis 0.016 mg/200 g; 0,16 mg/200 g; 1,6 mg/200 g; 16 mg/200 g; 160 mg/200 g serta terdapat perbedaan rerata persentase yang signifikan antara P1 dan P5 dengan dosis 0,016 mg /200 g dan 160 mg /200 g.
11. Dosis TEKDK 160 mg/ 200 g meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin paling tinggi.
12. Jumlah eritrosit berhubungan dengan kadar hemoglobin. Peningkatan jumlah eritrosit juga selalu diikuti peningkatan kadar hemoglobin.

5.2 Saran:

Dilakukan pengukuran kadar ROS dan antioksidan setelah dilakukan pemberian AfB1 untuk memastikan bahwa pemberian AfB1 berhasil membuat penurunan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin pada tikus galur *Sprague Dawley*.



DAFTAR PUSTAKA

- Al-Sharefi, A., Mohammed, A., Abdalaziz, A., & Jayasena, C. N. (2019). Androgens and Anemia: Current Trends and Future Prospects. *Frontiers in Endocrinology*, 10(November), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00754>
- Ambarwati, R. (2012). Effect of Sodium Nitrite (NaNO₂) to Erythrocyte and Hemoglobin Profile in White Rats (*Rattus norvegicus*). *Folia Medica Indonesiana*, 48(1), 1–5.
- Azzahra, F. (2022). Penetapan rendemen dan kandungan kimia ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) berdasarkan perbedaan metode pengeringan. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(2), 83–90. <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i2.177>
- Broto, W. (2018). Status Cemaran Dan Upaya Pengendalian Aflatoksin Pada Komoditas Serealia Dan Aneka Kacang. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 37(2), 81. <https://doi.org/10.21082/jp3.v37n2.2018.p81-90>
- Bunawan, H., Bunawan, S. N., Baharum, S. N., & Noor, N. M. (2015). *Sauropus androgynus* (L.) Merr. Induced Bronchiolitis Obliterans: From Botanical Studies to Toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/714158>
- Cikita, I., Hasibuan, I. H., & Hasibuan, R. (2016). Pemanfaatan Flavonoid Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) merr) Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 5(1), 46.
- Delwatta, S. L., Gunatilake, M., Baumans, V., Seneviratne, M. D., Dissanayaka, M. L. B., Batagoda, S. S., Udagedara, A. H., & Walpola, P. B. (2018). Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(4), 250–254. <https://doi.org/10.1002/ame2.12041>
- Dewi, C. K., & Probosari, E. (2012). Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (*Carica Papaya* L) Terhadap Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Sprague Dawley Dengan Hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College*, 1(1), 93–98. <https://doi.org/10.14710/jnc.v1i1.427>
- Fadlilah, S. (2018). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Mahasiswa Keperawatan Angkatan 2013 Universitas Respati Yogyakarta. *Indonesian Journal On Medical Science*, 5(2), 168.
- Guyton, A. C., Hall, J. E., Hall, M. E., & Oliver, J. (2019). Physiology Medical - Dr Guyton. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, 1, 993–997.
- Jaffar, H. M., Al-Asmari, F., Khan, F. A., Rahim, M. A., & Zongo, E. (2024). Silymarin: Unveiling its pharmacological spectrum and therapeutic potential

- in liver diseases—A comprehensive narrative review. *Food Science and Nutrition*, 12(5), 3097–3111. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4010>
- Junaidi, A., Zelika, D., & Ramadhania, M. (2018). Potensi Silymarin (Hepamax) Sebagai Suplemen dan Terapi Penunjang Pada Gangguan Liver. *Farmaka*, 16(1), 119–126.
- Lailla, M., Zainar, Z., & Fitri, A. (2021). Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Secara Digital Terhadap Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Secara Cyanmethemoglobin. *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Pendidikan*, 3(2), 63–68. <https://doi.org/10.14710/jplp.3.2.63-68>
- Lawendatu, O. P. G., Pontoh, J., & Kamu, V. (2020). ANALISIS KANDUNGAN KLOROFIL PADA BERBAGAI POSISI DAUN DAN ANAK DAUN AREN (*Arrenga pinnata*). *Chemistry Progress*, 12(2), 67–72. <https://doi.org/10.35799/cp.12.2.2019.27925>
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., & Severino, L. (2018). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins*, 10(6), 1–19. <https://doi.org/10.3390/toxins10060214>
- Martins, T., Barros, A. N., Rosa, E., & Antunes, L. (2023). Enhancing Health Benefits through Chlorophylls and Chlorophyll-Rich Agro-Food: A Comprehensive Review. *Molecules*, 28(14). <https://doi.org/10.3390/molecules28145344>
- Nakai, K., & Tsuruta, D. (2021). What are reactive oxygen species, free radicals, and oxidative stress in skin diseases? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19). <https://doi.org/10.3390/ijms221910799>
- Nasrianto, H., Mulyati, A. H., & Rachmawati, E. (2012). KANDUNGAN AFLATOKSIN (B1, B2, G1 DAN G2) PADA KACANG TANAH (*Arachis Hypogaea* L) YANG BEREDAR DI PASAR TRADISIONAL DAERAH JABOTABEK. *Universitas Pakuan Bogor*, 5(2), 40–51.
- Ningrum, N., Setiadi, D., & Sari, M. (2022). Diagnosis Dan Tatalaksana Anemia Defisiensi Besi Pada Anak Usia 0 – 18. *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti*, 8(1), 99–111. <https://doi.org/10.25105/pdk.v8i1.15079>
- Orrico, F., Laurance, S., Lopez, A. C., Lefevre, S. D., Thomson, L., Möller, M. N., & Ostuni, M. A. (2023). Oxidative Stress in Healthy and Pathological Red Blood Cells. *Biomolecules*, 13(8), 1–20. <https://doi.org/10.3390/biom13081262>
- Parfati, N., & Rani, K. C. (2018). Buku Ajar Sediaan Tablet Orodispersibel. In *Fakultas Farmasi Universitas Surabaya*.
- Phillips, J., & Henderson, A. C. (2018). Hemolytic Anemia, Evaluation. *American Family Physician*, 98(6), 354–361.

- Prasetyaningsih, N., Hartanti, M. D., & Bella, I. (2022). Radikal Bebas Sebagai Faktor Risiko Penyakit Katarak Terkait Umur. *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.25105/pdk.v8i1.15160>
- Rodwell, V. W. (2015). *Illustrated Biochemistry Thirtieth Edition*.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, A. P. (2015). *HARPER'S Illustrated Biochemistry*.
- Rosita, L., Cahya, A. A., & Arfira, F. athiya R. (2019). Hematologi Dasar. In *Universitas Islam Indonesia*.
- Rosyunita, R., Pawestri, S., Hasbi, N., & Rahim, A. R. (2023). Aflatoksin: Aspek kesehatan, metode reduksi dan deteksinya. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 4(2), 98–106. <https://doi.org/10.29303/sjp.v4i2.250>
- Salsabila, A. T., Wardhani, R. M., Chodijayanti, A., Puryani, P., Damat, D., & Anggriani, R. (2021). Penetapan Kadar Aflatoksin B1, B2, G1, dan G2 pada Olahan Kacang Tanah dengan Metode HPLC. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, 16(2), 1. <https://doi.org/10.26623/jtphp.v16i2.4544>
- Santoso. (2016). *KATUK , TUMBUHAN MULTI KHASIAT* Badan Penerbit Fakultas Pertanian (BFPF) Unib (Issue June).
- Santoso, R., Mardhiani, Y. D., & Wulandari, T. F. (2022). Pemanfaatan Ekstrak Daun Katuk *Sauropus Androgynus* (L) Merr Dalam Formulasi Sediaan Mikropartikel Dengan Metode Ekstrusi Sferonisasi. *IKRAITH-Teknologi*, 6(3), 95–102. <https://doi.org/10.37817/ikraith-teknologi.v6i3.2310>
- Saputro, D. A., & Junaidi, S. (2015). Pemberian Vitamin C Pada Latihan Fisik Maksimal dan Perubahan Kadar Hemoglobin dan Jumlah Eritrosit. *Journal of Sport Sciences and Fitness*, 4(3), 32–40.
- Sherwood, L. (2015). Sherwood Introduction to Human Physiology 8th edition. In *Sherwood Introduction to Human Physiology 8th edition* (pp. 5–24).
- Sulaiman, T. N. S., & Sulaiman, S. (2020). Review: Eksipien Untuk Pembuatan Tablet Dengan Metode Kempa Langsung. *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 3(2), 64–76. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v3i2.44>
- Suparmi, S., Fasitasari, M., Martosupono, M., & Mangimbulude, J. C. (2016). Comparisons of Curative Effects of Chlorophyll from *Sauropus androgynus* (L) Merr Leaf Extract and Cu-Chlorophyllin on Sodium Nitrate-Induced Oxidative Stress in Rats. *Journal of Toxicology*, 2016(L). <https://doi.org/10.1155/2016/8515089>
- Surai, P. F. (2015). Silymarin as a natural antioxidant: An overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants*, 4(1), 204–247. <https://doi.org/10.3390/antiox4010204>
- Suryaningsih, R., Muharini, A., & Darmawati. (2014). Analisis Pengaruh Usia

Terhadap Penurunan Kadar Hemoglobin Akibat Dosis Radiasi 2000 cGy pada Kasus Terapi Ca Nasopharynx dan Ca Cervix Menggunakan Radiasi Eksternal di RSUP dr. Sardjito. *Teknofisika*, 3(2), 59–62.

Who, & Chan, M. (2011). Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. *Geneva, Switzerland: World Health Organization*, 1–6. <https://doi.org/2011>

Zaini Miftach. (2018). *Hematologi dan Transfusi*. 53–54.

Zakiah, M., Manurung, T. F., & Wulandari, R. S. (2018). Kandungan Klorofil Daun Pada Empat Jenis Pohon Di Arboretum Sylva Indonesia Pc. Universitas Tanjungpura. *Jurnal Hutan Lestari*, 6(1), 48–55.

