

**Profil Hematologi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diberi Salep
Simplisia Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis L.*)
setelah Dipapar Sinar Ultraviolet**

***Hematological Profile of Albino Rats (*Rattus Norvegicus*) Given Simplisia
Salep of Hibiscus Leaves (*Hibiscus Rosa-Sinensis L.*)
after Exposure to Ultraviolet Light***

Wayan Gede Ananta Brahmananda¹, I Gusti Ngurah Sudisma^{2*}, Anak Agung Sagung Kendran³, I Wayan Sudira⁴

¹ Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar

²Laboratorium Ilmu Bedah dan Radiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar

³Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Denpasar

⁴Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Udayana, Denpasar

*Corresponding author; Email: sudisma@unud.ac.id

Naskah diterima: 28 Februari 2023, direvisi: 22 Juni 2023, disetujui: 23 Juni 2023

Abstract

Ultraviolet light (UV) can damage the skin and affect the blood so that antioxidants contained in hibiscus leaves are needed. The purpose of this study was to determine the effect of antioxidants in hibiscus leaf simplisia ointment (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) on the hematological profile of white rats (*Rattus norvegicus*) after UV exposure. The study design used a complete randomized design (CRD) method with a sample of 30 female Wistar strain white rats (100-150 grams) divided into 6 treatments, each group consisting of 5 rats, i.e. (P0) negative control sample without ointment and UV exposure, (P1) positive control sample without ointment and UV exposure only, and (P2, P3, P4, and P5) samples with hibiscus leaf simplisia ointment concentrations of 10%, 20%, 30%, and 40% respectively topically on a shaved back of 16 cm², then exposed to UV. Blood specimens were taken one day after treatment through the orbital vein, then a complete hematology test was performed to determine the number of erythrocytes (RBC), hematocrit value (HCT), hemoglobin (Hb) level, and leukocyte count (WBC). The results showed that the administration of hibiscus leaf simplisia ointment can maintain the number of RBC, HCT value, Hb level, and the number of WBC in the treatment group rats (P2, P3, P4, and P5) with hibiscus leaf simplisia concentrations (10%, 20%, 30%, and 40%) showed results that were not significantly different ($P > 0.05$) from the negative control treatment rats (P0). From the results of this study it can be concluded, the administration of hibiscus leaf simplisia ointment to white rats after UV exposure can maintain the number of red blood cells, hematocrit value, hemoglobin level, and leukocyte count.

Keywords: hematology; hibiscus leaf; simplisia ointment; ultraviolet light

Abstrak

Sinar ultraviolet (UV) dapat merusak kulit dan mempengaruhi darah sehingga dibutuhkan antioksidan yang terkandung dalam daun kembang sepatu. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh antioksidan pada salep simplisia daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) terhadap profil hematologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah paparan UV. Rancangan penelitian menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan sampel 30 ekor tikus putih galur wistar berjenis kelamin betina (100-150 gram) dibagi menjadi 6 perlakuan yang setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, yaitu (P0) sampel kontrol negatif tanpa diberi salep dan paparan UV, (P1) sampel kontrol positif tanpa diberi salep dan hanya dipapar UV, dan (P2, P3, P4,

dan P5) sampel dengan pemberian salep simplisia daun kembang sepatu masing-masing dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% secara topikal pada punggung yang sudah dicukur terlebih dahulu seluas 16 cm², kemudian dipapar UV. Spesimen darah diambil satu hari setelah perlakuan melalui vena orbitalis, selanjutnya dilakukan uji hematologi lengkap untuk mengetahui jumlah eritrosit (RBC), nilai hematokrit (HCT), kadar hemoglobin (Hb), dan jumlah leukosit (WBC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian salep simplisia daun kembang sepatu dapat mempertahankan jumlah RBC, nilai HCT, kadar Hb, dan jumlah WBC pada tikus kelompok perlakuan (P2, P3, P4, dan P5) dengan konsentrasi simplisia daun kembang sepatu (10%, 20%, 30%, dan 40%) menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$) terhadap tikus perlakuan kontrol negatif (P0). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan, pemberian salep simplisia daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah dipapar sinar ultraviolet dapat mempertahankan jumlah leukosit sedangkan jumlah eritrosit, nilai hematokrit, dan kadar hemoglobin terdapat pengaruh eksternal dari penelitian ini.

Kata kunci: daun kembang sepatu; hematologi; salep simplisia; sinar ultraviolet.

Pendahuluan

Indonesia termasuk ke dalam daerah hutan hujan tropis dan berada disekitar garis khatulistiwa (Umiati, 2008). Indonesia juga penuh dengan limpahan sinar matahari sepanjang tahunnya (Isfardiyana dan Safitri, 2014). Radiasi sinar ultraviolet (UV) adalah bagian dari spektrum radiasi elektromagnetik yang dipancarkan oleh matahari (Dewi et al., 2016). Sinar matahari memiliki sisi positif dan sisi negatif. Salah satu sisi positif sinar matahari adalah untuk mensintesis vitamin D (Isfardiyana dan Safitri, 2014). Namun, menurut Hart dan Norval (2021) terpapar sinar UV yang berlebihan dapat mengakibatkan perubahan jumlah, sel dan fenotipe, serta fungsi sel darah yang bersirkulasi. Menurut Savitri (2011) pada hasil penelitian pengaruh paparan sinar UV terhadap hitung jenis leukosit pada mencit (*Mus musculus*) dimana hasilnya paparan radiasi sinar UV terhadap mencit dapat meningkatkan jumlah sel eosinofil dan basofil. Menurut Hart dan Norval (2021) terdapat perubahan yang dialami darah akibat dari radiasi ultraviolet, yaitu perubahan pada beberapa jenis sel dalam darah, radiasi UV memiliki efek imunologis seperti perubahan pada neutrofil, sel T, sel B dan sel natural killer (NK). Menurut Hamblin (2017) sinar UV mempengaruhi sel darah merah dan berbagai leukosit dari perlakuan Ultraviolet Blood Irradiation (UBI) seperti pada limfosit dimana UBI dapat menurunkan viabilitas limfosit. Menurut penelitian Al-Khateeb et al (2021) menunjukkan terjadinya penurunan jumlah sel darah merah yang signifikan dalam

kelompok yang diberi H₂O₂ serta kelompok yang diberi sinar UV (18 watt), dibandingkan dengan kelompok kontrol. Variabel ini dianggap sebagai faktor yang membantu dalam mendiagnosis anemia. Selain itu terdapat peningkatan yang signifikan pada jumlah sel darah putih untuk masing-masing leukosit dalam grup UV (18 watt) dan grup hidrogen peroksida dibandingkan dengan kelompok kontrol. Peningkatan jumlah total sel darah putih dalam darah tikus disebabkan oleh radiasi, yang menyebabkan kondisi inflamasi, yang menyebabkan sel darah putih ditemukan pada darah dengan frekuensi yang lebih besar daripada kasus biasa seperti halnya pada infeksi. Menurut Pertiwi et al, (2021) radiasi ultraviolet merupakan salah satu radikal bebas. Untuk mengantisipasi sifat radikal bebas dari UV, efeknya tersebut dapat dicegah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh yang memiliki banyak manfaat seperti melindungi kulit dan sebagai perlindungan UV (Haerani et al., 2018). Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh (Purwati dan Balapadang, 2017). Senyawa antioksidan banyak ditemukan pada tumbuhan, baik pada bunga, daun maupun buah (Purwanto et al., 2017). Salah satu senyawa antioksidan adalah senyawa polifenol yang berasal dari tumbuh-tumbuhan (Dhianawaty dan Ruslin, 2015). Semakin tinggi kadar polifenol dalam tanaman semakin baik sebagai antioksidan (Hermawan

et al., 2018). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan yang mengandung antioksidan adalah tanaman kembang sepatu khususnya pada bagian daunnya yang banyak dijumpai di Indonesia. Daun kembang sepatu memiliki efek anti-inflamasi yang kuat. Selain itu, ekstrak kasar metanol 90% dari daun *Hibiscus rosa-sinensis* L. memiliki aktivitas antioksidan yang kuat pula (Al-Snafi, 2018), sehingga hal ini berdampak baik terhadap inflamasi atau peradangan pada kulit yang diakibatkan oleh UV yang tentunya akan berdampak pada darah. Untuk membuktikan kandungan antioksidan pada daun kembang sepatu dapat mencegah radikal bebas dan pengaruh UV terhadap darah, maka dari itu peneliti memerlukan sediaan setengah padat yang ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit yaitu dengan pembuatan salep dari potensi antioksidan dan antiinflamasi berbahan simplisia *Hibiscus rosa-sinensis* L. sebagai potensi pelindung darah dari sinar UV. Jenis salep yang digunakan adalah salep dengan dasar salep senyawa hidrokarbon yang merupakan salep epidermis dan berfungsi sebagai pelindung kulit dan tidak menembus ke dalam tubuh. Untuk mendapatkan hasil yang akan dicapai maka diperlukan hewan laboratorium atau hewan percobaan yaitu dengan menggunakan tikus putih (Malole dan Pramono, 1989). Sebagai salah satu parameter yang dapat digunakan dari hewan percobaan yang dapat diteliti adalah darah. Darah menjadi salah satu parameter pokok dalam penelitian praklinik/biomedik (Fitria dan Sarto, 2014). Sinar UV merupakan penyebab utama kulit kemerahan akibat terbakar sinar matahari atau sunburnt. Hal tersebut dapat merusak sel kulit dan menyebabkan terhambatnya regenerasi sel-sel kulit. Togsverd-Bo, Philipsen, Hædersdal, & Wulf (2018) mengatakan bahwa radiasi sinar UV merupakan penyebab mayor pasien kanker kulit. Oleh karena itu, dalam beraktivitas kita harus sadar akan pentingnya menjaga kesehatan kulit dan melindungi kulit utamanya juga dengan darah karena darah memiliki peranan penting dalam tubuh. Berdasarkan uraian yang telah disampaikan, maka perlu dilakukan penelitian tentang profil hematologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi salep simplisia daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*

L.) setelah dipapar sinar ultraviolet. Hasil penelitian diharapkan akan memberi informasi ilmiah untuk menjadikan daun kembang sepatu sebagai salah satu alternatif sumber antioksidan.

Materi dan Metode

Seluruh prosedur penggunaan hewan coba sudah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, dengan Sertifikat Persetujuan Etik Hewan nomor: B/1/UN14.2.9/PT.01.04/2023.

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini diantaranya daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) yang didapat dari daerah Kecamatan Susut, Kabupaten Bangli, Bali, vaselin putih, aquades, xyla holland 50 ml, ketamile injection 50 ml, dan alkohol 70%. Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini diantaranya kandang tikus, timbangan digital, lampu simulasi UV (lampu TL UVA, Black Light, Unfiltered Lamp, Sankyo) untuk radiasi dengan panjang gelombang 365 nm dengan nilai 115-116 lux, pencukur rambut, tisu, notebook, spidol permanen, pulpen, kapas, kertas label, kertas perkamen, sendok tanduk, toples kecil, kamera, *hand glove*, spuit 1 ml, masker, blender, tabung vacutainer EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*), mikrohematokrit, *cool box*, *cool pack*, dan Hematology Analyzer Rayto RT-7600 for Vet.

Bahan berupa daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dikumpulkan dari daerah Kecamatan Susut, Kabupaten Bangli, Bali. Pembuatan simplisia daun kembang sepatu diawali dengan pembersihan daunnya dengan dicuci bersih kemudian diiris halus. Setelah itu, daun akan dikeringanginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Bahan yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Selanjutnya bahan disaring menggunakan saringan B40 (No. 100). Bahan yang sudah dalam bentuk serbuk (tepung) herbal ditambahkan kedalam vaselin putih sebagai basis salep. Sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dibuat dalam konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40%. Bahan-bahan dicampur sampai homogen.

Tikus putih sebanyak 30 ekor ditempatkan secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan

yang berbeda (P0, P1, P2, P3, P4, dan P5) dengan 5 ekor per perlakuan. Sebelum diberikan perlakuan, tikus terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari. Aklimatisasi adalah pemeliharaan hewan coba dengan tujuan adaptasi terhadap lingkungan baru (Hasanah, 2017). Selama proses pemeliharaan tikus diberikan pakan komersial pelet standar laboratorium sebanyak 15 gram per ekor per hari serta pemberian minum secara ad libitum. Semua tikus dicukur rambut pada bagian punggung membentuk persegi dengan luas 16 cm² pada hari ke-7 aklimatisasi. Sebelum proses pencukuran rambut, tikus diberikan anestesi ketamine-xylazine dengan dosis 40-60 mg/kgbb ketamine dan 3-5 mg/kgbb xylazine (Wang-Fischer, 2009) dimana tujuan dari penggunaan anestesi adalah untuk membuat hewan tidak merasakan terhadap rasa sakit dan atau tidak sanggup untuk bergerak (Sudisma, 2016). Setelah dicukur dilakukan perlakuan secara acak. P0 tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV, P1 tanpa diberikan salep langsung dipapar sinar UV, sedangkan P2, P3, P4, dan P5 masing-masing diberikan perlakuan salep dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% secara topikal dan dipapar UV. Perlakuan pemberian salep (P2, P3, P4, dan P5) pada daerah uji dilakukan setiap hari. Penyinaran dengan sinar UV dilakukan 20 menit setelah pemberian salep. Lama waktu penyinaran 20 menit dilakukan setiap 3 hari sekali, terhitung mulai hari ke-nol, ketiga, keenam, kesembilan, kedua belas, kelima belas, dan kedelapan belas.

Darah diambil pada sinus retro orbital. Metode ini merupakan metode pengambilan darah dengan hewan coba yang dapat bertahan hidup (Handajani, 2021). Pengambilan darah dari bagian sinus orbital mata dimana perlu memerlukan keterampilan, sehingga hanya bagian sinus orbital yang akan ditusuk dengan mikrohematokrit dengan cara goreskan mikrohematokrit tersebut ke bagian sinus orbitalis atau medial canthus mata di bawah bola mata ke arah foramen opticus, sementara ujung yang lain di siapkan tabung vacutainer EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) sebagai tempat penampung darah. Putar mikrohematokrit hingga melukai plexus tersebut, jika mikrohematokrit diputar sebanyak 4x maka harus dikembalikan juga sebanyak

4x, Darah yang keluar dapat segera ditampung di tabung vacutainer EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) yang telah berisi larutan antikoagulan. Tabung selanjutnya diberi label berdasarkan kelompok perlakuan dan dimasukkan ke dalam cool box. Nilai hematologi darah dianalisis menggunakan Hematology Analyzer Rayto RT-7600 for Vet di Balai Besar Veteriner Denpasar. Analisis meliputi parameter jumlah eritrosit (RBC), nilai hematokrit (HCT), kadar hemoglobin (Hb), dan jumlah leukosit (WBC). Pemeriksaan darah diawali dari pengambilan sampel darah tikus pada vena orbitalis menggunakan mikrohematokrit (pipa kapiler) dan dimasukkan ke dalam tabung berisi antikoagulan EDTA lalu dihomogenkan. Darah yang sudah dikumpulkan kemudian diuji di Balai Besar Veteriner Denpasar.

Hematology analyzer biasa digunakan untuk pemeriksaan hematologi rutin yang meliputi hitung sel leukosit, hitung jumlah sel trombosit, dan pemeriksaan hemoglobin. Penggunaan mesin elektronik dengan alat penghitung sel darah lebih menguntungkan karena mampu menghitung sel darah dalam jumlah yang jauh lebih besar, menghemat waktu dan tenaga serta hasil cepat diterima oleh klinisi untuk kepentingan terapi pada pasien. Namun harga tersebut mahal, prosedur pemakaian dan pemeliharaannya harus dilakukan dengan sangat cermat. Disamping itu upaya penjaminan mutu juga harus selalu dilakukan (Riswanto, 2013). Prinsip kerja atau cara kerja hematology analyzer adalah sampel darah yang sudah dicampur dengan reagen dilusi sebanyak 200x proses hemolyzing untuk mengukur jumlah leukosit. Selanjutnya sampel dilakukan dilusi lanjutan sebanyak 200x (jadi 40.000x) untuk mengukur eritrosit dan trombosit. Sampel diproses pada blok data processing dan hasilnya akan ditampilkan pada monitor dan dicetak dengan mesin print (Infolabmed, 2017).

Data yang diperoleh dalam penelitian ini akan diuji menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji Duncan, untuk mengetahui pengaruh pemberian salep simplisia daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*). Data yang diperoleh disajikan dalam dua bentuk penyajian, yaitu tabel dan diagram

Hasil dan Pembahasan

Nilai hematologi tikus putih meliputi parameter jumlah eritrosit (RBC), nilai hematokrit (HCT), kadar hemoglobin (Hb), dan jumlah leukosit (WBC) disajikan pada Tabel 1.

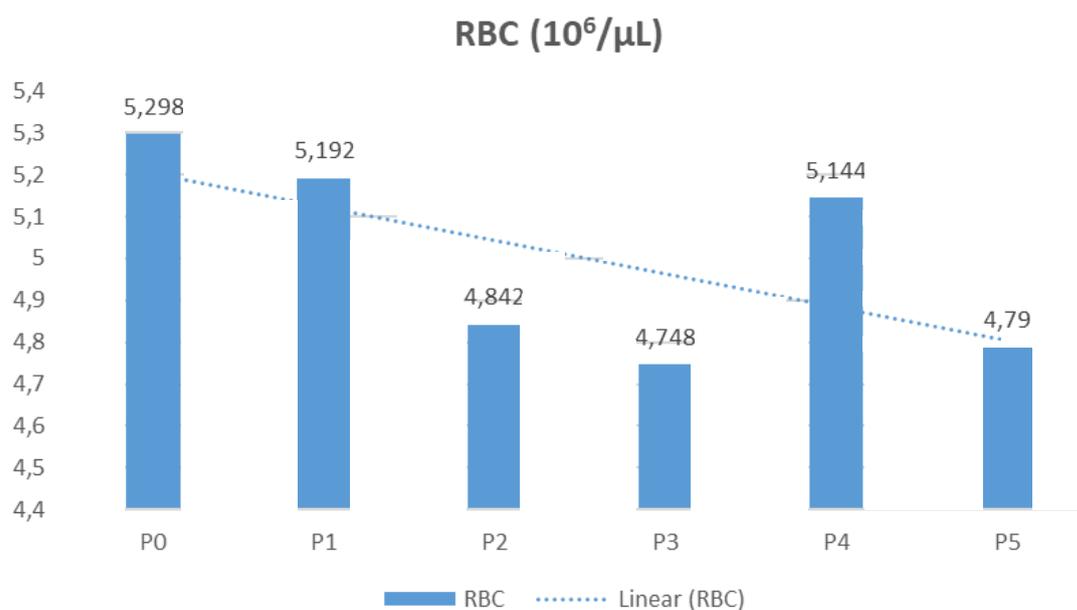
Jumlah eritrosit (RBC) pada tikus kelompok P1 sebagai kontrol positif tanpa diberi salep dan hanya dipapar sinar UV ($5,1 \pm 0,50 \times 10^6/\mu\text{L}$), P2 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 10% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($4,8 \pm 0,28 \times 10^6/\mu\text{L}$), P3 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu

dengan konsentrasi 20% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($4,7 \pm 0,29 \times 10^6/\mu\text{L}$), P4 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 30% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($5,1 \pm 0,23 \times 10^6/\mu\text{L}$), dan P5 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 40% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($4,8 \pm 0,68 \times 10^6/\mu\text{L}$) menunjukkan penurunan jumlah eritrosit yang tidak berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($5,3 \pm 0,87 \times 10^6/\mu\text{L}$) dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Rata-rata \pm SD nilai hematologi tikus putih

Kelompok Perlakuan	Variabel			
	RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	HCT (%)	Hb (g/dL)	WBC ($10^3/\mu\text{L}$)
P0	$5,3 \pm 0,87^a$	$26,5 \pm 3,84^a$	$15,6 \pm 1,62^a$	$10,8 \pm 4,78^a$
P1	$5,1 \pm 0,50^a$	$25,3 \pm 1,97^a$	$15,1 \pm 0,64^a$	$16,4 \pm 4,75^b$
P2	$4,8 \pm 0,28^a$	$23,7 \pm 1,70^a$	$15,5 \pm 1,08^a$	$12,1 \pm 2,13^{ab}$
P3	$4,7 \pm 0,29^a$	$23,1 \pm 0,86^a$	$15,3 \pm 0,77^a$	$10,4 \pm 2,33^a$
P4	$5,1 \pm 0,23^a$	$24,6 \pm 1,46^a$	$15,9 \pm 0,99^a$	$10,5 \pm 2,91^a$
P5	$4,8 \pm 0,68^a$	$23,4 \pm 3,19^a$	$15,0 \pm 2,19^a$	$9,9 \pm 1,48^a$

Keterangan: P0 (Tikus kontrol negatif), P1 (Tikus kontrol positif), P2 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 10% kemudian dipapar sinar UV), P3 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 20% kemudian dipapar sinar UV), P4 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 30% kemudian dipapar sinar UV), dan P5 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 40% kemudian dipapar sinar UV). Huruf superskrip sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan ($P > 0,05$).

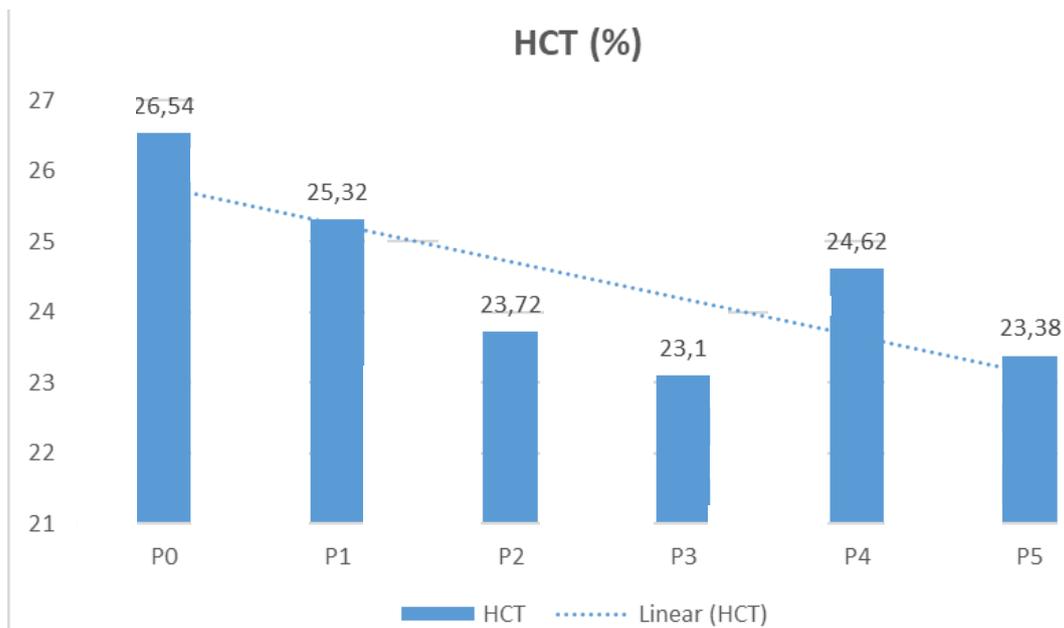


Gambar 1 Diagram rata-rata jumlah eritrosit dari setiap perlakuan

Keterangan: P0 (Tikus kontrol negatif), P1 (Tikus kontrol positif), P2 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 10% kemudian dipapar sinar UV), P3 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 20% kemudian dipapar sinar UV), P4 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 30% kemudian dipapar sinar UV), dan P5 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 40% kemudian dipapar sinar UV).

Perlakuan kontrol positif (P1) mengalami penurunan jumlah eritrosit tidak signifikan jika dibandingkan dengan tikus kelompok perlakuan negatif (P0), hal ini diduga diakibatkan oleh jenis UV yang dipaparkan kepada tikus putih. Jenis UV yang diberikan perlakuan kepada tikus adalah jenis UV A yang diduga belum mampu membuat penurunan jumlah eritrosit secara signifikan. Hal ini didukung oleh penelitian yang menyatakan bahwa sinar ultraviolet, terutama sinar UV B dapat menimbulkan gejala kemerahan pada kulit. Hal ini merupakan suatu bentuk iritasi kulit yang terpapar sinar ultraviolet. Berbeda halnya dengan UV A yang hanya membuat elastisitas kulit menjadi berkurang, namun juga dapat merusak sel-sel yang berada di dermis (Isfardiyana dan Safitri, 2014). Penurunan yang tidak signifikan terhadap jumlah eritrosit juga disebabkan oleh radikal bebas (sinar ultraviolet) yang juga dapat mengikat protein, DNA, dan lipid penyusun membran sel (Heryani et al., 2011). Radikal bebas juga berpengaruh terhadap hormon eritropoietin yang merupakan suatu hormon glikoprotein yang penting pada proses eritropoiesis terutama dalam merangsang proliferasi sel eritrosit, yang menyebabkan menurunnya jumlah eritrosit dalam darah (Suryanty et al., 2005).

Menurut Gambar 1 pada perlakuan pemberian salep terdapat indikasi jumlah eritrosit mengalami penurunan khususnya pada P2, P3, dan P5 yang tidak signifikan hal ini diduga diakibatkan oleh beberapa faktor. Faktor pertama yang membuat indikasi menurun adalah umur dari tikus putih yang berada pada interval 8-12 minggu yang saat dilakukan perlakuan, hal ini didukung oleh penelitian yang menyatakan bahwa jumlah eritrosit dipengaruhi oleh umur. Jumlah eritrosit antara tikus umur 1 bulan nyata lebih sedikit jumlah eritrositnya jika dibandingkan dengan jumlah eritrosit tikus umur 2 dan 3 bulan (Sihombing, 2011). Faktor kedua yaitu pakan yang diberikan, pakan yang diberikan seharusnya sebanyak 15 gram per ekor per hari, namun secara realitasnya penulis tidak bisa memastikan jumlah yang diberikan sesuai dengan takaran makanan tersebut karena dalam satu kandang tikus terdapat 2-3 ekor per kandangnya yang tentunya menyebabkan terjadinya kompetisi untuk memperebutkan makanan individu tikus lainnya. Namun, menurut National Research Council (2011) tikus yang ada dalam kandang adalah seminimal mungkin sehingga mengurangi kompetisi makanan yang sudah ditakarkan. Faktor lainnya adalah pada saat pengambilan darah dimana



Gambar 2. Diagram rata-rata nilai hematokrit dari setiap perlakuan

Keterangan: P0 (Tikus kontrol negatif), P1 (Tikus kontrol positif), P2 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 10% kemudian dipapar sinar UV), P3 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 20% kemudian dipapar sinar UV), P4 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 30% kemudian dipapar sinar UV), dan P5 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 40% kemudian dipapar sinar UV).

penggunaan mikrohematokrit yang kemudian terkena lingkungan luar sebelum masuk ke dalam tabung EDTA dapat mengakibatkan hemolisis seperti pada penelitian serupa yang menyatakan pengambilan darah dapat mengurangi jumlah eritrosit (Sundayani *et al.*, 2016).

Nilai hematokrit (HCT) pada tikus kelompok P1 sebagai kontrol positif tanpa diberi salep dan hanya dipapar sinar UV ($25,3 \pm 1,97\%$), P2 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 10% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($23,7 \pm 1,70\%$), P3 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 20% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($23,1 \pm 0,86\%$), P4 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 30% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($24,6 \pm 1,46\%$), dan P5 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 40% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($23,4 \pm 3,19\%$) menunjukkan penurunan nilai hematokrit yang tidak berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($26,5 \pm 3,84\%$) dapat dilihat pada Gambar 3.

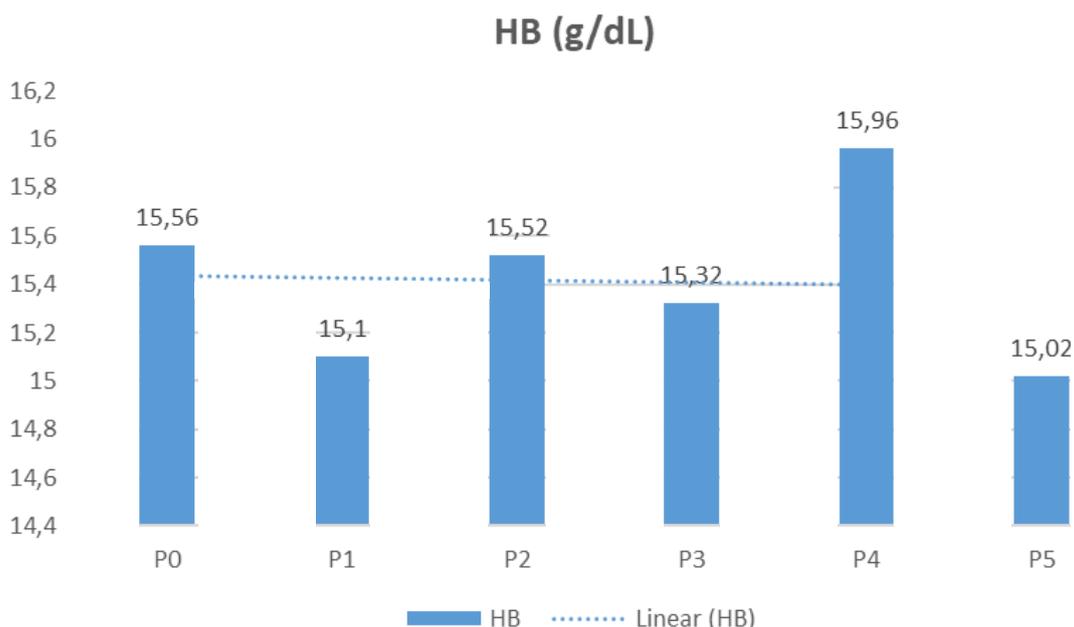
Perlakuan kontrol positif (P1) mengalami penurunan nilai hematokrit tidak signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok perlakuan negatif (P0). Hal ini diduga disebabkan oleh radikal bebas yang dapat mengganggu dari proses eritropoiesis dalam merangsang proliferasi sel eritrosit yang menyebabkan menurunnya jumlah eritrosit dalam darah, yang dimana akan berpengaruh pula dengan nilai hematokrit. Penurunan jumlah eritrosit dan hematokrit yang memiliki dampak juga pada penurunan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah dapat menyebabkan keadaan patologis seperti anemia (Zulkifli *et al.*, 2014).

Menurut Gambar 2 pada perlakuan pemberian salep terdapat indikasi mengalami penurunan khususnya pada P2, P3, dan P5 yang diduga menurut penelitian Maulidia dan Jatmiko (2021) diakibatkan oleh faktor penurunan eritrosit (berkorelasi pula dengan hematokrit) karena nilai hematokrit merupakan persentase sel darah merah dalam volume darah. Selain itu faktor lainnya penyebab menurunnya

hematokrit adalah karena kerusakan sel darah merah (Nurrahman dan Mariyam, 2019). Hal ini diduga karena pada saat pengambilan darah dimana penggunaan mikrohematokrit yang kemudian terkena lingkungan luar sebelum masuk ke dalam tabung EDTA dapat mengakibatkan hemolisis seperti pada penelitian serupa yang menyatakan pengambilan darah dapat berpengaruh mengurangi jumlah eritrosit sehingga berpengaruh pula terhadap nilai hematokrit (Sundayani *et al.*, 2016). Selain itu, penurunan persentase hematokrit juga dapat disebabkan adanya proses destruksi eritrosit yang sudah tua. Eritrosit bertahan dalam sirkulasi selama ± 120 hari. Eritrosit yang sudah tua akan dikeluarkan dari sirkulasi terutama oleh makrofag limpa dan sumsum tulang (Widyastuti, 2013).

Kadar hemoglobin (Hb) pada tikus kelompok P1 sebagai kontrol positif tanpa diberi salep dan hanya dipapar sinar UV ($15,1 \pm 0,64$ g/dL), P2 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 10% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($15,5 \pm 1,08$ g/dL), P3 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 20% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($15,3 \pm 0,77$ g/dL), P5 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 40% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($15,0 \pm 2,19$ g/dL) menunjukkan penurunan kadar hemoglobin yang tidak berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($15,6 \pm 1,62$ g/dL), sedangkan P4 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 30% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($15,9 \pm 0,99$ g/dL) menunjukkan peningkatan kadar hemoglobin yang tidak berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($15,6 \pm 1,62$ g/dL) dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil penelitian menunjukkan tikus kelompok perlakuan kontrol positif (P1) mengalami penurunan kadar hemoglobin tidak signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok perlakuan negatif (P0) dimana penurunan tersebut diduga diakibatkan pula oleh paparan



Gambar 3. Diagram rata-rata kadar hemoglobin dari setiap perlakuan

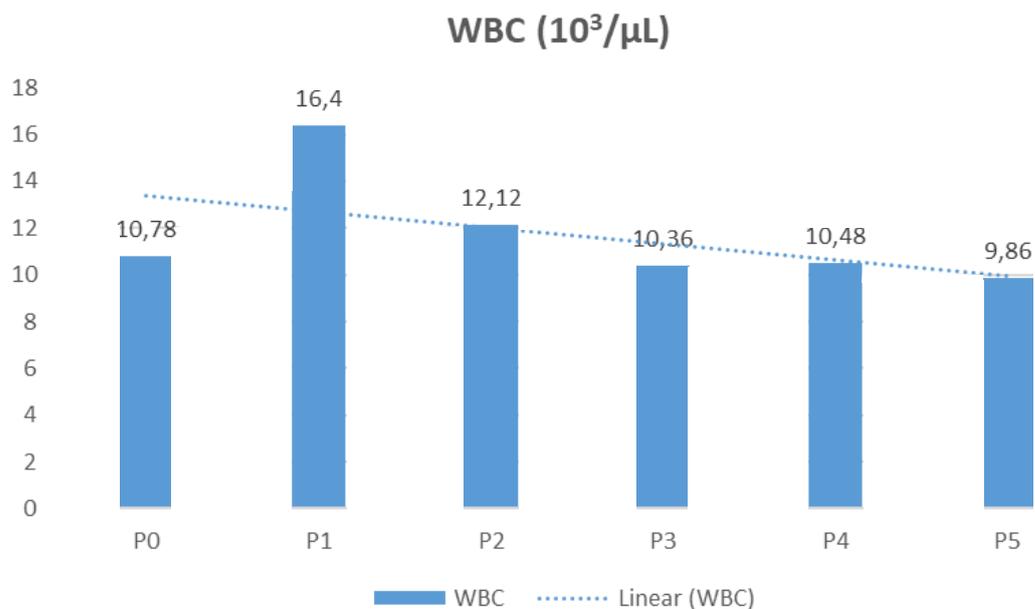
Keterangan: P0 (Tikus kontrol negatif), P1 (Tikus kontrol positif), P2 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 10% kemudian dipapar sinar UV), P3 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 20% kemudian dipapar sinar UV), P4 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 30% kemudian dipapar sinar UV), dan P5 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 40% kemudian dipapar sinar UV).

sinar ultraviolet sebagai radikal bebas. Menurut Rusmini *et al.*, (2019) yang menyatakan stres oksidatif menyebabkan hilangnya fuliditas dan meningkatkan fragilitas peroksida lipid pada membran eritrosit sehingga eritrosit akan mudah lisis. Lisisnya membran eritrosit menyebabkan hemoglobin terbebas ke dalam plasma, sehingga jumlah hemoglobin semakin berkurang, hal ini mengakibatkan kadar hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit lebih rendah.

Menurut Gambar 3 pada P4 terdapat indikasi mengalami peningkatan kadar Hb yang tidak signifikan dimana peningkatan nilai Hb mengikuti gambaran nilai eritrosit. Hal ini dapat dimengerti dikarenakan nilai eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit merupakan rangkaian yang saling terkait dan berjalan sejajar jika ada perubahan hematologik (Paramitha, 2013). Peningkatan eritrosit P4 tersebut diduga akibat tepatnya waktu antara proses pengambilan darah dengan proses pembentukan eritrosit, sehingga dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan berdampak pula terhadap hemoglobin. Pembentukan eritrosit tersebut diatur oleh suatu hormon glikoprotein yang disebut eritropoietin (Restuti *et al.*, 2020).

Jumlah leukosit (WBC) pada tikus kelompok P1 sebagai kontrol positif tanpa diberi

salep dan hanya dipapar sinar UV ($16,4 \pm 4,75 \times 10^3/\mu\text{L}$) dan menunjukkan peningkatan jumlah leukosit yang berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($10,8 \pm 4,78 \times 10^3/\mu\text{L}$), sedangkan P2 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 10% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($12,1 \pm 2,13 \times 10^3/\mu\text{L}$) menunjukkan peningkatan jumlah leukosit yang tidak berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($10,8 \pm 4,78 \times 10^3/\mu\text{L}$), kemudian P3 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 20% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($10,4 \pm 2,33 \times 10^3/\mu\text{L}$), P4 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 30% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($10,5 \pm 2,91 \times 10^3/\mu\text{L}$), dan P5 dengan pemberian sediaan salep simplisia daun kembang sepatu dengan konsentrasi 40% secara topikal kemudian dipapar sinar UV ($9,9 \pm 1,48 \times 10^3/\mu\text{L}$) menunjukkan penurunan jumlah leukosit yang tidak berbeda signifikan terhadap P0 sebagai kontrol negatif tanpa diberi salep dan tanpa paparan sinar UV ($10,8 \pm 4,78 \times 10^3/\mu\text{L}$) dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram rata-rata jumlah leukosit dari setiap perlakuan

Keterangan: P0 (Tikus kontrol negatif), P1 (Tikus kontrol positif), P2 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 10% kemudian dipapar sinar UV), P3 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 20% kemudian dipapar sinar UV), P4 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 30% kemudian dipapar sinar UV), dan P5 (Tikus yang diberi sediaan salep simplisia daun kembang sepatu konsentrasi 40% kemudian dipapar sinar UV).

Hasil penelitian menunjukkan tikus kelompok perlakuan kontrol positif (P1) mengalami peningkatan jumlah leukosit yang signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok perlakuan kontrol negatif (P0). Hal ini disebabkan karena radikal bebas (sinar ultraviolet) dapat menyebabkan inflamasi. Sesuai dengan penelitian Astawan et al., (2012) dimana respon inflamasi mengakibatkan terjadinya leukositosis atau peningkatan jumlah leukosit untuk meningkatkan kekebalan tubuh dalam mempertahankan kondisi tubuh. Leukositosis dilihat sebagai penanda adanya inflamasi kronik, subklinis, dan inflamasi tingkat rendah.

Kelompok perlakuan (P2), (P3), (P4), dan (P5) jumlah leukosit tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan tikus kelompok perlakuan kontrol negatif (P0). Hal ini dapat disebabkan karena kandungan kimia pada daun kembang sepatu mampu meredakan efek dari radikal bebas akibat pemberian sinar ultraviolet. Sinar UV yang memiliki sifat radikal bebas, efeknya tersebut dapat dicegah dengan menggunakan antioksidan (Pertwi et al., 2021). *Hibiscus rosa-sinensis* L. dapat digunakan sebagai antioksidan karena daun ini memiliki kandungan polifenol (Dalimartha, 2006; Widjayakusuma et al., 1994).

Dari hasil penelitian, perlakuan P1 diduga mengalami inflamasi tingkat rendah karena belum ada perlindungan secara khusus dari sinar UV sebagai radikal bebas, sedangkan pada P2, P3, P4, dan P5 jumlah leukosit tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan P0 yang dimana semakin tinggi konsentrasi salep simplisia daun kembang sepatu dapat menekan perubahan yang lebih kuat karena kandungan kimia salah satunya pada daun kembang sepatu yaitu polifenol yang dapat digunakan sebagai antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas, sehingga jumlah leukosit tidak berbeda signifikan dengan P0 (Dhianawaty dan Ruslin, 2015; Purwati dan Balapadang, 2017).

Kesimpulan

Pemberian salep simplisia daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah dipapar sinar ultraviolet dapat mempertahankan jumlah leukosit sedangkan jumlah eritrosit, nilai hematokrit, dan kadar hemoglobin terdapat pengaruh eksternal dari penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Laboratorium Patologi Klinik Veteriner FKH Unud, dan Balai Besar Veteriner Denpasar yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Aboderin, F. I., dan Oyetayo, V. O. 2006. Haematological Studies of Rats Fed Different Doses of Probiotic, *Lactobacillus plantarum*, Isolated from Fermenting Corn Slurry. *Pakistan Journal of Nutrition*. 5(2):102–105.
- Al-Khateeb, S. O., Khalil, O. K., Salam, M. A. A., dan Razzaq, R. H. A. 2021. Study of The Effect of Ultraviolet UV-Induced Oxidative Stress in Male White Rats (*Rattus rattus*). *Journal of Physics: Conference Series*. 1963(1).
- Al-Snafi, A. E. 2018. Chemical Constituents, Pharmacological Effects and Therapeutic Importance of *Hibiscus rosa-sinensis*-A Review. *IOSR Journal of Pharmacy*. 8(7):101–119.
- Allo, J. P. 2018. Jumlah Eritrosit, Nilai Hematokrit dan Kadar Hemoglobin Ayam Ketawa. Universitas Hasanuddin Makasar
- Ansel, H. C. 1985. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi ke-3*. Terjemahan Farida Ibrahim. UI-Press.
- Arnanda, Q. P., dan Nuwarda, R. F. 2019. Penggunaan Radiofarmaka Teknisium-99M dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. *Farmaka Suplemen*. 14(1):1–15.
- Astawan, M., Wresdiyati, T., Suliantari, dan Nababan, Y. M. 2012. Yoghurt Sinbiotik Berbasis Probiotik Lokal Dapat Mencegah Diare dan Mengubah Status Hematologi Tikus. *Jurnal Veteriner*. 13(2):145–153.
- Bakhri, S. 2018. Analisis Jumlah Leukosit dan Jenis Leukosit pada Individu yang Tidur dengan Lampu Menyala dan yang Dipadamkan. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*. 1(1):83–91.
- Bele, A. A., Jadhav, V. M., dan Kadam, V. 2010. Potential of Tannins. *Asian Journal of Plant Sciences*. 9(4):209–214.
- Chaqiqi, F. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl) Terhadap Berat Testis dan Histologi Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi
- Dalimartha, S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Trubus Agriwidya.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas tumbuhan obat Indonesia jilid 4*. Puspa swara.
- Depkes, R. 1995. *Farmakope Indonesia, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Dewi, D. S., Lazuardi, I. Z. A., dan Purwaningsih, N. A. 2016. Antiinflammatory Activity Test N-Hexane Extract of Breadfruit Leaf (*Artocarpus altilis*) for Erythema on Skin White Rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 2(3):28.
- Dhianawaty, D., dan Ruslin. 2015. Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang). *Majalah Kedokteran Bandung*. 47(1):60–64.
- Dröge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 82(1):47–95.
- Efendi, A., Hasibuan, M., Sihombing, E., dan Wulandari, T. 2021. Bunga Kembang Sepatu Dikreasikan untuk Kesehatan. *Seminar Nasional Karya Ilmiah Multidisiplin*. 1(1):129–135.
- Fitria, L., dan Sarto, M. 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.
- Frandsen, R. 1992. *Anatomi dan Fisiologi* 4^{ed}. Gajah Mada University Press.
- Haerani, A., Chaerunisa, A., Yohana, dan Subarnas, A. 2018. Artikel Tinjauan: Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka*,

Universitas Padjadjaran, Bandung.
16(2):135–151.

- Hamblin, M. R. 2017. Ultraviolet Irradiation of Blood: “The Cure That Time Forgot”? *Adv Exp Med Biol.* 996:295–309.
- Hamidi, F., Hakim, A., Leksono, A. S., dan Yanuwadi, B. 2019. Pengaruh Puasa Sunnah Senin Kamis Terhadap Hitung Jenis Leukosit. *Jurnal Keperawatan.* 12(1):69–75.
- Handajani, F. 2021. *Metode Pemilihan dan Pembuatan Hewan Model Beberapa Penyakit Pada Penelitian Eksperimental.* Zifatama Jawa
- Hart, P. H., dan Norval, M. 2021. More Than Effects in Skin: Ultraviolet Radiation-Induced Changes in Immune Cells in Human Blood. *Frontiers in Immunology.* 12(4):6–12.
- Hasanah, A. 2017. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium Cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (Stz). *Saintika Medika.* 11(2):92.
- Hattenschwiller, S., dan Vitousek, P. M. 2000. *The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling.* National Library of Medicine
- Hermawan, H., Sari, B. L., dan Nashrianto, H. 2018. Kadar Polifenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat dan Metanol Buah Ketapang (*Terminalia catappa* L.). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi.* 1(1):1–8.
- Heryani, L. G. S. S., Susari, N. N. W., Kardena, I. M., dan Laksmi, D. N. D. I. 2011. Paparan Formalin Menghambat Proses Spermatogenesis pada Mencit. *Jurnal Veteriner.* 12(3):214–219.
- Infolabmed. 2017. *Metode Pengukuran Pada Hematology Analyzer I Elektrikal Impedance, Fotometri, Flowcytometri, dan Histogram/Kalkulasi.* <https://www.infolabmed.com/2017/04/metode-pengukuran-pada-hematologi.html>
- Isfardiyana, S. H., dan Safitri, S. R. 2014. Pentingnya Melindungi Kulit dari Sinar Ultraviolet dan Cara Melindungi Kulit dengan Sunblock Buatan Sendiri. *Jurnal Inovasi Dan Kewirausahaan.* 3(2):126–133.
- Jacob, T. N. A., Siswati, A. S., Budiyo, A., Triwahyudi, D., Sirait, S. A. P., Mawardi, P., Budianti, W. K., Dwiyan, R. F., Widasmara, D., Maria, R., dan Tanojo, H. 2020. Pengaruh Sinar Ultra Violet Terhadap Kesehatan Kajian Terhadap Berjemur (Sun Exposures). *Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia (PERDOSKI),* 1–15.
- Jasper, R., Locatelli, G. O., Pilati, C., dan Locatelli, C. 2012. Evaluation of Biochemical, Hematological and Oxidative Parameters in Mice Exposed to The Herbicide Glyphosate-roundup. *Interdisciplinary Toxicology.* 5(3):133–140.
- Kataranovski, M. V, Radovic, D. L., Zolotarevski, L. D., Popov, A. D., dan Kataranovski, D. S. 2009. Immune-related Health-relevant Changes in Natural Populations of Norway Rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769): White Blood Cell Counts, Leukocyte Activity, and Peripheral Organ Infiltration. *Arch. Biol. Sci., Belgrade.* 61(2):213–223.
- Kumar, A., Sriwastwa, V. M. S., dan Lata, S. 2011. Impact of Black T Supra on Haematology of Albino Rats. *Indian J.Sci.Res.* 2(4):21–27.
- Malole, M. B. M., dan Pramono, C. S. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium.* Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Maria, M., Naim, N., dan Armah, Z. 2019. Description of the Amount of Lymphocyte and Neutrophil Ratio in Acute Appendicitis Patients in Dr Wahidin Sudirohusodo Makassar Hospital. *Jurnal Media Analisis Kesehatan.* 10(2):119.
- Maulidia, A., dan Jatmiko, S. W. 2021. Pengaruh Kopi terhadap Parameter Darah pada Tikus Putih Galur Wistar Diabetik yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan.* 17(1): 35–43.

- Moreira, L. M., Behling, B. D. S., Rodrigues, R. D. S., Costa, J. A. V., dan Soares, L. A. D. S. 2013. Spirulina as a Protein Source in the Nutritional Recovery of Wistar Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 56(3):447–456.
- National Research Council. 2011. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th Ed. National Research Council (US). *The National Academies Press*.
- Nugroho, A. 2017. (PDF) *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press Bandung.
- Nurrahman, N., dan Mariyam, M. 2019. Status Hematologi, Kadar IgG dan IgA Tikus yang Mengonsumsi berbagai Variasi Jumlah Tempe Kedelai Hitam. *AgriTECH*. 39(3):215.
- Paramitha, D. U. 2013. Perhitungan Jumlah Eritrosit, Kadar Hemoglobin, dan Nilai PCV (Packed Cell Volume) Ayam Buras (*Gallus domesticus*) yang terinfeksi plasmodium sp. di Kabupaten Pasuruan. Universitas Airlangga.
- Pertiwi, N. I. C., Arijana, I. G. K. N., dan Linawati, N. M. (2021). Krim Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah Mempertahankan pH Kulit Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Sinar Ultraviolet B. *Jurnal Medika Udayana*. 10(2):48–54.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., dan Periyasamy, L. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 30(1):11–26.
- Priyambodo, B. 2007. *Manajemen Farmasi Industri*. Global Pustaka Utama.
- Purwanto, D., Bahri, S., dan Ridhay, A. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*. 3(1):24.
- Purwati dan Balapadang, D. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia erinacea* Becc) Terhadap Sel Darah Merah Domba yang Diinduksi t-BHP dengan Parameter MDA. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. 2(1):56–63.
- Restuti, A. N. S. R., Yulianti, A., dan Lindawati, D. 2020. Efek minuman cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tikus putih anemia. *Jurnal Gizi Indonesia*. 8(2):79–84.
- Rini., Susianti, dan Sibero. 2014. The Time Intensity Effect Of Ultraviolet-C Light Exposure On The Corneal Mice Thickness (*Mus musculus* L.). *Jurnal Kesehatan*. 44–52.
- Riswanto. 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Alfamedia dan Kanal Media.
- Rusmini, H., Fitriani, D., Hermawan, D., dan Emilda, D. A. 2019. Pengaruh Vitamin D3 Terhadap Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Dipapar Asap Rokok. *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*. 1(2):130–138.
- Safrida. 2010. Gambaran Diferensiasi Sel Darah Putih Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina pada Starvasi (The description of differential leukocyte count of female rat (*Rattus norvegicus*) in starvation). *Biologi Edukasi*. 1(2):12–17.
- Salisbury, F. B., dan Ross, C. W. 1995. *Fisiologi Tumbuhan, Jilid 2*. Penerbit ITB.
- Saputro, D. A., dan 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.
- Savitri, A. 2011. Pengaruh Paparan Sinar Ultraviolet C Terhadap Hitung Jenis Leukosit pada Mencit (*Mus musculus*). Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Sihombing, M. D. T. S. 2011. Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda. *Jurnal Veteriner*. 12(1):58–64.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. Mosby, Inc. United States of America, 43–45.

- Siswanto. 2017. Darah dan Cairan Tubuh. *Diklat Fisiologi Veteriner 1*.
- Sudisma, I. G. N. 2016. *Ilmu Bedah Veteriner dan Teknik Operasi*. Pelawa Sari.
- Sundayani, L., Maswan, M., Satmiko, F. S., dan Hanafi, F. 2016. Analisis Jumlah Eritrosit pada Darah Hewan Coba Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Sebelum dan Setelah Pemberian Filtrat Tanaman Pakis Sayur (*Diplazium esculentum*). *Jurnal Kedokteran*. 1(2):203–213.
- Suryanty, R., Rosdiana, N., dan Lubis, B. 2005. Peran Eritropoietin pada Anemia Akibat Keganasan pada Anak. *Sari Pediatri*. 7(1):34.
- Susanti, N. 2016. *Sumber Belajar Penunjang PLPG Farmasi*.
- Syafikriatillah, A. R., Darwis, D., Abbas, B., Maheswari, H., Erwin, dan Noviana, D. 2016. Profil Darah Putih Tikus Sprague Dawley Pascaimplantasi Tandur Tulang DFDBX dan Membran Nata De Coco pada Defek Tulang Kalvaria. *Prosiding KIVNAS Ke-14, ICE-BSD City, Tangerang*. 1(9):11–109.
- Tambayong, J. 2001. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Keperawatan*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Umiati, S. 2008. Pemukiman Sehat di Lingkungan Tropis Indonesia. *Teknika Unand*. 1(29):17–20.
- Wahyuni, R., Guswandi, dan Rivai, H. 2014. Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Jurnal Farmasi Higea*. 6(2):126–133.
- Wang-Fischer, Y. 2009. *Manual of Stroke Models in Rats*. CBC Press
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2):59–68.
- Widjayakusuma, H., Dalimartha, S., dan Wirian, A. S. 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Pustaka Kartini.
- Widyastuti, D. A. 2013. Profil Darah Tikus Putih Wistar pada Kondisi Subkronis Pemberian Natrium Nitrit. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(2):201–215.
- Yakubu, M. T., dan Afolayan, A. J. 2009. Effect of Aqueous Extract of Bulbine Natalensis Baker Stem on Haematological and Serum Lipid Profile of Male Wistar Rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 47(4):283–288.
- Zulfa, E., Prasetyo, T. B., dan Murrukmihadi, M. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Salep Ekstrak Etanolik Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan Berbagai Variasi Basis Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Pharmascience*. 4(1):18–24.
- Zulkifli, Diarti, M. W., Jiwintarum, Y., dan Saraswati, L. 2014. Jumlah Eritrosit Darah Tepi Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar yang Diberikan Air Seduhan Kelopak Bunga Rosela Merah (*Hibiscuss sabdariffa*). *Media Bina Ilmiah 11*. 8(1978).