



Intervensi Bubuk Kakao Terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Putih Galur Wistar Anemia

Intervention of Cocoa Powder on Hemoglobin Levels of Anemia Wistar Rat

Aliya Farikhah¹, Finda Indriani¹, Adhiningsih Yulianti¹, Arisanty Nur Setia Restuti¹

Prodi Gizi Klinik, Jurusan Kesehatan, Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur¹

Email : farikhaahaliya@gmail.com

ABSTRACT

Anemia describes a condition of low hemoglobin concentration or hematocrit incompatibility with threshold values. The purpose of this study was to determine the effect of cocoa powder intervention on hemoglobin levels in white Wistar anemic rats. This experimental research uses a pretest and post test with control group design. Sampling was carried out randomly into 3 treatment groups, negative control group (K-), positive control (K+), and treatment (P). The samples used were 21 white male Wistar rats aged 2-3 months, body weight 200-300 grams, and mice in good health (active). Rats in the positive and treatment group were given induction of 50 mg/kg NaNO₂ at intervals of 5 hours, 24 hours, 48 hours, 5 days, 10 days, 20 days, 30 days, 32 days, and 34 days. In an anemic condition, rats were given oral intervention of cocoa powder for 2 weeks at a dose of 2.6 grams. This dose is divided into 2 times, namely in the afternoon and evening. The result were analyzed with one way annova test and Paired T Test. The results showed a mean value of Hb levels before intervention in the (K-) 15,9 g/dl, (K+) 12,6 g/dl, (P) 12,2 g/dl and value after intervention in (K-) 15,6 g/dl, (K+) 14,1 g/dl, (P) 15,5 g/dl. Paired T test results before and after treatment of hemoglobin levels showed a significant difference in the treatment group (p= 0.009). The conclusion is cocoa powder can increase hemoglobin levels in anemic mice.

Keywords: *cocoa powder, anemia, flavonoids, hemoglobin levels*

ABSTRAK

Anemia menggambarkan suatu kondisi rendahnya konsentrasi hemoglobin atau ketidaksesuaian hematokrit dengan nilai ambang batas. Tujuan Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh intervensi bubuk kakao terhadap kadar hemoglobin pada tikus putih galur Wistar anemia. Penelitian eksperimen ini menggunakan desain *pretest and post test with control group*. Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi yaitu menjadi 3 kelompok perlakuan, kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan perlakuan (P). Sampel yang digunakan yaitu 21 ekor tikus putih jantan galur Wistar berusia 2-3 bulan, berat badan 200-300 gram, dan tikus dalam keadaan sehat (aktif). Tikus pada kelompok kontrol positif dan perlakuan diberikan induksi NaNO₂ 50mg/kgBB via intraperitoneal dengan interval 5 jam, 24 jam, 48 jam, 5 hari, 10 hari, 20 hari, 30 hari, 32 hari, dan 34 hari. Dalam keadaan anemia, tikus diberikan intervensi bubuk kakao melalui oral selama 2 minggu dengan dosis 2,6 gram. Dosis ini dibagi menjadi 2x pemberian yaitu pada siang dan malam hari. Data dianalisis dengan uji *one way annova* dan uji *Paired T Test*. Hasil menunjukkan nilai *mean* kadar Hb sebelum intervensi pada (K-)15,9 g/dl, (K+) 12,6 g/dl, (P) 12,2 g/dl dan setelah intervensi pada (K-) 15,6 g/dl, (K+) 14,1 g/dl, (P) 15,5 g/dl. Hasil uji *Paired T Test* kadar hemoglobin sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan ada

perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan (p=0,009).

Kesimpulan: pemberian bubuk kakao dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus anemia.



Kata Kunci: Bubuk Kakao, Anemia, Flavonoid, Kadar Hemoglobin

PENDAHULUAN

Anemia bukan sebuah penyakit tetapi pencerminan keadaan suatu penyakit atau gangguan fungsi (disfungsi) tubuh. Anemia menggambarkan suatu kondisi rendahnya konsentrasi hemoglobin atau ketidaksesuaian hematokrit dengan nilai ambang batas, yang disebabkan oleh rendahnya produksi eritrosit dan hemoglobin, meningkatnya kerusakan eritrosit (hemolisis), atau kehilangan darah yang berlebihan (Oehadian, 2012). Anemia dapat disebabkan beberapa faktor, diantaranya seperti defisiensi zat besi, asam folat, vitamin B12 dan vitamin A dapat menjadi penyebab dari anemia gizi (Nopiana, 2013). Anemia merupakan salah satu masalah kesehatan utama yang sering dijumpai di dunia dan telah menyerang lebih dari 600 juta manusia. *World Health Organization* (2015) menyebutkan prevalensi anemia di negara maju adalah sekitar 14% dan 51% terjadi di negara berkembang. Prevalensi anemia di Indonesia pada tahun 2013 menurut kelompok umur menunjukkan pada umur 1-5 tahun yaitu sebesar 28,1%, 5-14 tahun sebesar 26,4%, 15-24 tahun sebesar 18,4% dan, 25-34 tahun sebesar 16,9% (Kemenkes RI, 2016).

Anemia dapat menyebabkan masalah kesehatan lainnya bila tidak ditangani dengan baik. Upaya yang dapat dilakukan untuk penderita anemia dapat dilakukan dengan pemberian terapi farmakologi maupun non farmakologi. Terapi farmakologi dapat dilakukan dengan pemberian suplementasi tablet Fe yang dapat menimbulkan berbagai efek samping pada tubuh (Wulandari, dkk., 2014). Terapi non farmakologi merupakan salah satu upaya dalam penanganan anemia yaitu dengan pemberian bubuk kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai pengontrol kadar hemoglobin.

Indonesia merupakan negara penghasil kakao terbesar ketiga di dunia setelah

Pantai Gading dan Ghana dengan produksi kakao di Indonesia pada tahun 2015 sebesar 693.331 ton dan akan mengalami peningkatan setiap tahunnya (BPS, 2015). Jember merupakan salah satu daerah yang memiliki pusat penelitian kopi dan kakao sehingga memudahkan peneliti mendapatkan bahan dasar bubuk kakao tersebut. Bubuk kakao dapat diolah sedemikian rupa bukan hanya minuman coklat saja seperti contoh untuk bahan campuran substitusi pada cake. Bubuk kakao mengandung senyawa flavonoid yang sangat diperlukan dalam tubuh untuk kesehatan. Bubuk kakao merupakan salah satu bahan pangan yang mempunyai efek dalam tubuh, karena kakao merupakan bahan pangan sumber senyawa antioksidan jenis polifenol paling tinggi dibandingkan dengan jenis bahan pangan lainnya (Thamrin dkk., 2016). Senyawa flavonoid pada kakao termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat aktif yang mampu untuk melindungi organ-organ di dalam sel tubuh dari pengaruh radikal bebas yang berbahaya dan juga mudah diserap oleh tubuh untuk kesehatan (Mulato dan Edy, 2014).

Flavonoid dalam bubuk kakao berperan sebagai antioksidan di dalam sel darah yang berfungsi sebagai penampung radikal hidroksi dan superperoksida sehingga mampu melindungi lipid membran sel dan mencegah kerusakan sel. Flavonoid akan membentuk suatu senyawa yang kompleks dengan karbonil, ion logam, dan gugus -OH sehingga mampu membentuk khelat dengan besi, sehingga besi Fe^{3+} (ferri) akan mengalami penurunan menjadi besi Fe^{2+} (ferro) dalam plasma kemudian dirubah kedalam bentuk transferin dan dibawa ke bagian tubuh yang membutuhkan. Transferin akan bergabung serta berikatan dengan reseptor pada sumsum tulang belakang yaitu membran sel eritoblast dan akan disintesis menjadi heme dalam mitokondria sehingga dapat melindungi sel darah merah dari lisis



dan meningkatkan jumlah hemoglobin (Susilo dkk., 2015).

Hasil penelitian Amedonu (2013) menunjukkan intervensi *Natural Cocoa Powder* (NCP) dalam jangka panjang menyebabkan perubahan signifikan pada kadar hemoglobin. NCP disarankan untuk dikonsumsi dalam jangka waktu panjang karena dapat mengurangi stress oksidatif dan memperbaiki indeks hematologi. Hasil penelitian Gyekye *et al.* (2016) juga menyebutkan bahwa intervensi *Unsweetened Cocoa Powder* (UNCP) secara teratur pada *Guinea pig* dapat memulihkan beberapa gangguan indeks hematologi. Penelitian mengenai bubuk kakao di Indonesia sendiri masih belum ada. Berdasarkan uraian permasalahan yang terjadi maka diperlukan adanya penelitian mengenai pengaruh dari intervensi bubuk kakao terhadap kadar hemoglobin, oleh sebab itu peneliti terdorong untuk melakukan penelitian ini.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental (*True Experimental*). Desain penelitian yang digunakan adalah rancangan *Pretest-Posttest* pada kelompok kontrol (*pretest-posttest with control group*) dengan randomisasi (Notoatmodjo, 2010). Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi dan Laboratorium Prosenda Klinik Baru Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei – Agustus 2019.

Variabel penelitian diklasifikasikan menjadi dua yaitu variabel independen adalah bubuk kakao dan variabel dependen yaitu kadar hemoglobin tikus. Pengumpulan data dilakukan secara observasi atau pengamatan terhadap hewan uji.

Pemilihan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, dengan berat \pm 200 gram, berumur 2- 3 bulan. Pemilihan tikus secara randomisasi menjadi 3 kelompok sesuai dengan kriteria inklusi. Adaptasi tikus selama 7 hari,

menggunakan pakan standar (Rat bio) dan air minum *ad libitum*. Tikus tersebut dikandangkan dengan kondisi cahaya dan ventilasi yang cukup. Tikus percobaan ditempatkan pada tempat yang terpisah, yaitu 1 tikus setiap kandang. Pemeliharaan tikus menggunakan kotak tikus (*boxtikus*) yang telah disiapkan, untuk memantau kesehatan tikus dengan cara pemeriksaan pakan dan air minum. Apabila tikus mengalami sakit, maka akan segera melakukan pemisahan dan pengobatan (Khayrani, 2008).

Pemberian Natrium Nitrit bertujuan agar terjadi kondisi anemia pada tikus (Nursucihta dkk., 2014). Kelompok tikus kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan (P) pada hari ke-8 penelitian masuk pada masa induksi dengan diberikan NaNO_2 melalui *intrapertoneal* sebesar 50mg/kgBB. Penginduksian NaNO_2 ini dilakukan dengan interval 1 jam, 5 jam, 24 jam, 48 jam, dan 5, 10, 20 (Gluhcheva *et al.*, 2012) kemudian dilanjutkan 30, 32, dan 34 hari (Ambarwati, 2015). Natrium Nitrit didapatkan dari Toko Makmur Sejati Jember.

Setelah dilakukan induksi NaNO_2 , diberikan intervensi bubuk kakao dengan satu hari dua kali pemberian yaitu pada pagi dan sore hari dengan masing-masing 1,3 gram/ekor (Amedonu, 2013). Pemberian bubuk kakao dilakukan dengan cara sonde yaitu melalui oral, dengan melarutkan bubuk kakao dan air hingga mencapai volume 4 ml karena batas maksimum sondetase dan kapasitas lambung pada tikus yaitu 5ml (Kusumawati, 2016). Bubuk kakao diberikan setiap hari selama 14 hari (Gyekye *et al.*, 2016). Bubuk kakao didapatkan dari Pusat Penelitian Bubuk dan Kakao di Kabupaten Jember, Jawa Timur.

Pemeriksaan kadar Hb dilakukan sebanyak 2 kali yaitu hari ke-41 untuk *pretest* dan hari ke-55 untuk *posttest*. Darah diambil melalui sinus retro-orbitalis (mata) sebanyak 2 ml, kemudian



ditampung ke dalam *microtube* yang sudah ditambahkan dengan bubuk EDTA kemudian dilakukan pengujian kadar hemoglobin. Pemeriksaan kadar hemoglobin yaitu melalui profil hematologi (Nursucihta *et al.*, 2016).

Analisis data kadar hemoglobin diolah menggunakan *SPSS v.16*, dengan membandingkan data sebelum dan sesudah intervensi (*pretest* dan *posttest*) pada masing-masing kelompok menggunakan uji *Paired T-test*. Analisis pengaruh bubuk kakao terhadap kadar hemoglobin dapat diketahui dengan uji statistik *One Way Anova* pada tingkat kepercayaan $\alpha = 0,05$. Apabila data berdistribusi normal dilanjutkan pengujian menggunakan uji *Post Hoc* jika data tidak berdistribusi normal digunakan uji *Kruskal Wallis* pada tingkat kepercayaan $\alpha = 0,05$ dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Prosentase perubahan kadar hemoglobin tiap kelompok perlakuan dapat dibandingkan dengan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Perubahan} = \frac{\text{Nilai}(\text{Pre Test} - \text{Post})}{\text{Nilai Pre Test}} \times 100\%$$

HASIL PENELITIAN

Analisis kadar hemoglobin darah tikus pada setiap kelompok sebelum perlakuan (*Pre test*) menggunakan uji *One Way Anovamenunjukkan* ada perbedaan signifikan ($p = 0,000$). Rata-rata kadar hemoglobin dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar hemoglobin *Pretest*

Perlakuan	Rerata \pm SD (mg/dL)	P
Kontrol Negatif	15,900 \pm 1,266	
Kontrol Positif	12,643 \pm 1,456	0,000*
Perlakuan	12,229 \pm 1,569	

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc* (*Bonferroni*) Kadar Hemoglobin *Pretest*

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan
Kontrol Negatif		(*)	(*)

Kontrol Positif	(*)		NS
Perlakuan	(*)	NS	

Hasil Kadar Hemoglobin *Post Test*

Analisis kadar hemoglobin darah tikus pada setiap kelompok setelah perlakuan (*Post test*) menggunakan uji *One Way Anovamenunjukkan* ada perbedaan signifikan ($p = 0,022$). Rata – rata kadar hemoglobin dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kadar hemoglobin *Post Test*

Perlakuan	Rerata \pm SD (mg/dL)	P
Kontrol Negatif	15,657 \pm 0,439	
Kontrol Positif	14,143 \pm 0,692	0,022*
Perlakuan	15,529 \pm 1,568	

Tabel 4. Hasil Uji *Post Hoc* (*Tamahene's*) Kadar Hemoglobin *Pretest*

Perlakuan	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan
Kontrol Negatif		NS	(*)
Kontrol Positif	NS		NS
Perlakuan	(*)	NS	

Hasil Perbedaan Kadar Hemoglobin *Pretest* dan *Posttest*

Hasil Menunjukkan ada perbedaan kadar hemoglobin *pretest* dan *posttest* antar kelompok yang ditunjukkan dengan nilai ($p > 0,05$), dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perbedaan Kadar Hemoglobin *Pretest* dan *Posttest*

Kelompok Perlakuan	<i>Pre Test</i> (g/dL)	<i>Post Test</i> (g/dL)	P
Kontrol Negatif	15,900 \pm 1,266	15,657 \pm 0,439	0.610
Kontrol Positif	12,643 \pm 1,456	14,143 \pm 0,692	0.101
Perlakuan	12,229 \pm 1,569	15,529 \pm 1,568	0.009*

Hasil Selisih Kadar Hemoglobin *Pretest* dan *Posttest*



Hasil Menunjukkan ada perbedaan selisih kadar hemoglobin *pretest* dan *posttest* antar kelompok yang ditunjukkan dengan nilai ($p=0,$) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Perbedaan Selisih Hemoglobin *Pretest* dan *Posttest*

Kelompok	Selisih (mg/dL)	Perubahan (%)	P
Kontrol Negatif	0,2	2	
Kontrol Positif	1,5	12	0,007*
Perlakuan	3,6	27	

PEMBAHASAN

Analisis Kadar Hemoglobin sebelum Perlakuan (Pre Test)

Hasil analisa uji *One Way Anova* didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan antar kelompok. Hasil uji analisis kadar Hemoglobin setelah pemberian NaNO_2 (*Pretest*) diketahui bahwa nilai rerata kelompok kontrol negatif lebih tinggi jika dibandingkan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan (P) diberikan induksi berupa NaNO_2 yang dimana menyebabkan pembebasan radikal bebas pada eritrosit lisat, menyebabkan kerusakan oksidatif dan produksi MetHb (Aziz, 2011). Rerata kelompok kontrol negatif adalah 15,900 g/dL yang mana nilai tersebut dijadikan sebagai acuan standar normal untuk kadar Hemoglobin pada tikus. Hal ini dikarenakan tidak terjadi penurunan hingga dibawah ambang batas normal yaitu $< 11,1$ g/dL (Kusumawati, 2016).

Hasil uji *Post hoc* menunjukkan perbedaan pada masing-masing kelompok. Kontrol negatif (K-) berbeda dengan kontrol positif (K+) dan perlakuan (P), namun kontrol positif (K+) tidak berbeda dengan kelompok perlakuan (P). Perbedaan tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diinduksi NaNO_2 . Tidak adanya

perbedaan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan dikarenakan keduanya sama – sama diberikan induksi NaNO_2 . Induksi NaNO_2 diberikan dengan tujuan untuk menurunkan kadar Hemoglobin pada tikus. Induksi NaNO_2 selama 34 hari belum dapat menurunkan kadar Hemoglobin hingga dibawah batas normal, namun dapat memberikan perubahan yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan nilai antar kelompok perlakuan.

Gluhcheva, *et al* (2012) menyatakan bahwa pemberian NaNO_2 selama 20 hari dapat memberikan perubahan pada hematologi dan *rheological*. Penelitian Ambarwati (2012) menyebutkan juga bahwa pemberian NaNO_2 selama 30 hari lebih efektif. Peneliti setelah melakukan induksi tepat 30 hari melakukan tes hematologi dengan pengambilan acak pada sampel dengan tujuan mengetahui apakah kadar hemoglobin sudah mengalami penurunan. Hasil menunjukkan masih belum ada penurunan sehingga peneliti memilih untuk melanjutkannya dengan menambah waktu 2 hari. Tes dilakukan kembali dan hasil masih menunjukkan angka yang tidak jauh berbeda. Peneliti melanjutkan kembali hingga total 34 hari, hasil hematologi yang didapatkan sudah cukup berbeda sehingga peneliti memilih untuk berhenti dan melanjutkan ke intervensi.

NaNO_2 bekerja dengan cara menghambat distribusi dari oksigen yang menyebabkan terbentuknya methemoglobin. Derave dan Taes (2009) juga menjelaskan, ketersediaan oksigen yang kurang dapat menyebabkan hati mengeluarkan banyak globulin, di sisi lain ginjal menghasilkan faktor – faktor eritropoetin yang akan berinteraksi dengan globulin. Interaksi antara faktor eritropoetin dengan globulin dapat merangsang terjadinya eritropoesis. Pemberian NaNO_2 dosis besar dapat mempercepat kerusakan sel darah merah yang berakibat pada berkurangnya



sirkulasi eritrosit. Proses tersebut dapat mengakibatkan anemia.

Hemoglobin merupakan bagian dari eritrosit. Hemoglobin yang berikatan dengan nitrit dapat memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang berdampak terjadinya stres oksidatif membran sel sehingga eritrosit mengalami hemolisis. Peningkatan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) secara terus menerus memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif yang menyerang sel darah merah dapat berdampak pada menurunnya kadar eritropoetin sehingga sintesis hemoglobin menjadi terganggu dan melemahkan kemampuan sel darah merah, akibatnya sel darah merah menjadi sensitif dan mudah sekali lisis (Ambarwati, 2012).

Selama masa induksi pakan standar tikus yaitu ratbio mengandung sedikitnya 20% protein. Berkaitan dengan yang dijelaskan oleh Sari, dkk. (2016) faktor dominan sebagai penyebab anemia gizi adalah kurangnya asupan protein. Protein memiliki peran aktif sebagai media transportasi bagi vitamin dan mineral di dalam tubuh salah satunya zat besi. Sehingga apabila ketersediaan protein di dalam tubuh tikus tercukupi maka dapat menurunkan resiko tikus mengalami anemia. Berkaitan dengan hal tersebut peneliti telah membatasi jumlah makanan yaitu dengan menyesuaikan kebutuhan dari setiap sampel. Kusumawati (2016) menjelaskan bahwa kebutuhan makan satu ekor tikus adalah sebesar 5g/100gBB. Maka dari itu pembatasan makanan mulai dilakukan dengan memberikan pakan sesuai dengan kebutuhan tikus 100g/kgBB karena pakan ratbio yang diberikan mengandung sumber protein. *Rat bio* memiliki komposisi salah satunya yaitu protein sebesar 20%. PKBPOM (2016) mengatakan bahwa makanan dapat diklaim sebagai makanan sumber protein yaitu memiliki 20% ALG per 100 g (dalam bentuk padat). Pakan ideal untuk tikus yang harus memenuhi kebutuhan zat makanan antara lain protein 12%, lemak 5%, dan serat kasar kira-kira 5% (Smith

dan Mangkoewidjojo, 1988). Asupan protein yang cukup dapat meningkatkan penyerapan zat besi, dengan rendahnya asupan protein maka dapat menyebabkan rendahnya penyerapan zat besi dalam tubuh. Keadaan ini dapat mengakibatkan tubuh kekurangan zat besi dan dapat menyebabkan anemia atau penurunan kadar hemoglobin (Nursin, 2012).

Analisis Kadar Hemoglobin Sesudah Perlakuan (Post Test)

Hasil analisa uji *One Way Anova* didapatkan hasil adanya perbedaan kadar hemoglobin. Standar yang digunakan sebagai pembanding adalah kontrol negatif. Nilai rerata kontrol negatif tidak jauh berbeda dengan perlakuan karena pada perlakuan diberikan pakan *Ratbio* dan intervensi bubuk kakao sedangkan kontrol positif hanya diberikan pakan saja.

Perbedaan kadar hemoglobin *posttest* memiliki varian data tidak homogen dan memiliki perbedaan yang signifikan sehingga analisis statistik dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan uji *Post Hoc* kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif, sedangkan kelompok kontrol negatif tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan pakan *Rat bio* hingga akhir penelitian. Kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol negatif namun tidak berbeda signifikan dengan perlakuan. Hal tersebut dikarenakan kontrol positif diberikan induksi NaNO_2 dan pakan *Rat bio*. Protein dalam makanan memiliki peran aktif sebagai media transportasi bagi vitamin dan mineral di dalam tubuh salah satunya zat besi (Sari dkk., 2016), sehingga apabila ketersediaan protein di dalam tubuh tikus tercukupi maka dapat menurunkan resiko tikus mengalami anemia sehingga juga terjadi peningkatan kadar hemoglobin pada kontrol positif. Kelompok perlakuan tidak



berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kontrol positif dikarenakan pada kelompok ini diberikan induksi NaNO_2 kemudian dilanjutkan dengan intervensi bubuk kakao dan diberikan pakan *Rat bio*.

Bubuk kakao merupakan produk yang dihasilkan oleh biji kakao yang diproses dengan cara digiling dan tanpa menghilangkan kandungan lemaknya dan berbentuk bubuk (BSN, 2008). Bubuk kakao memiliki kandungan protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan antioksidan salah satunya flavonoid. Bubuk kakao dengan berat 100 gram memiliki kandungan aktivitas antioksidan 72,9%, polifenol 5,6%, dan total flavonoid 316,29 mg/dl (Data Primer, 2018). Intervensi bubuk kakao dilakukan selama 2 minggu. Dosis yang diberikan pada kelompok perlakuan yaitu 2,6 gram/ekor tikus dengan 2x pemberian yaitu pagi dan sore hari. Perhitungan kadar flavonoid pada dosis perlakuan didapatkan sebesar 8mg/l. Kadar flavonoid ini dapat membantu meningkatkan parameter hematologi, salah satunya yaitu hemoglobin. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan Amedonu (2013) dimana pemberian NCP (*Natural Cocoa Powder*) sebanyak 2sdm/hari yang dimana setara dengan 450mg/l dapat mengurangi stress oksidatif, meningkatkan penanda biokimia dan indeks hemtologi. Senyawa flavonoid pada biji kakao termasuk dalam kategori antioksidan yang mudah diserap tubuh dan antioksidan yang aktif dalam melindungi sel dari serangan radikal bebas (Mulato dan Suharyanto, 2014).

Antioksidan merupakan salah satu komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi (Sayuti dan Yenrina, 2015). Pengangkutan oksigen ke jaringan membuat eritrosit sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif yang dapat meningkat saat adanya kelainan pada molekul hemoglobin (Henneberg *et al.*, 2013). Flavonoid berperan sebagai antioksidan didalam sel darah yang berfungsi sebagai

penampung radikal hidroksi dan superperoksida sehingga mampu melindungi lipid membran sel dan mencegah kerusakan sel. Sifat antioksidan ini dapat menjaga heme tetap dalam bentuk ferro berhubungan dengan produksi methhemoglobin. Flavonoid satter dapat membentuk ferrylHb yang dapat mencegah setengah dari molekul oxyHb teroksidasi menjadi metHb. Hemoglobin tetap dapat menjalankan fungsinya untuk mengikat oksigen karena tetap terdapat dalam bentuk oxyHb (Gebicka *and* Banasiak, 2009).

Analisis Perbedaan Kadar Hemoglobin Pre dan Post Test

Hasil uji perbedaan kadar hemoglobin *pretest* dan *posttest* menggunakan uji *Paired T Test* didapatkan hasil bahwa pada kontrol negatif tidak berbeda signifikan antara *prepost* dan *posttest*. Hal ini dikarenakan pada kelompok ini tidak diberikan induksi dan intervensi sehingga kadar hemoglobin pada tikus tetap stabil. Kontrol positif menunjukkan tidak berbeda signifikan dikarenakan pada kelompok kontrol positif hanya diberikan induksi NaNO_2 namun tidak diberikan intervensi bubuk kakao sehingga kadar hemoglobin tetap tidak ada perubahan signifikan hingga akhir penelitian.

Kadar hemoglobin kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kelompok perlakuan ini diberikan NaNO_2 pada saat *pretest* kemudian dilanjutkan dengan intervensi bubuk kakao dengan dosis 2,6 gram selama 2 minggu sehingga mengalami kenaikan kadar hemoglobin. Kenaikan kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan ini disebabkan karena pemberian bubuk kakao tersebut didalamnya mengandung antioksidan tinggi. Flavonoid adalah salah satu komponen yang membantu dalam pembentukan hemoglobin yang berpengaruh terhadap absorpsi dan pelepasan besi dari transferin kedalam jaringan tubuh (Winarsi, 2015). Penelitian ini juga sesuai dengan (Haniek, dkk 2017)



tentang pengaruh flavonoid terhadap peningkatan kadar hemoglobin.

Analisis Selisih Kadar Hemoglobin Pre dan Post Test

Selisih kadar hemoglobin sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *Post hoc* menunjukkan kontrol negatif dengan perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan sedangkan kontrol negatif dengan kontrol positif tidak terdapat perbedaan. Kontrol positif dengan perlakuan juga tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini dikarenakan kontrol positif juga mengalami peningkatan selama masa intervensi.

Adanya peningkatan kontrol positif sebelum dan sesudah dikarenakan terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kadar Hemoglobin di dalam tubuh diantaranya ketersediaan zat besi dalam tubuh. Zat gizi yang tersedia seperti protein dan besi memiliki peran dalam proses produksi kadar Hemoglobin. Selain itu, Hemoglobin memiliki fungsi sebagai media yang membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan tubuh. Besi juga berperan dalam proses sintesis Hemoglobin dan mioglobin dalam sel otot. Hampir $\pm 0,004\%$ besi dalam Hb, disimpan dalam bentuk ferritin di hati, sumsum tulang serta homosiderin di limpa (Zarianis, 2006).

Selain ketersediaan zat besi dalam tubuh, metabolisme dari besi itu sendiri dapat mempengaruhi kadar Hemoglobin. Secara umum, proses metabolisme zat besi di dalam tubuh meliputi proses penyerapan, pengangkutan, pemanfaatan, penyimpanan dan pengeluaran. Fe yang berasal dari makanan diserap usus halus kemudian masuk dalam plasma darah. Sebagian Fe akan diekskresikan melalui feses. Proses *turn over* yang berlangsung dalam plasma yaitu, sel darah yang lama akan diganti dengan sel yang baru (Saito, 2014).

Perubahan kadar hemoglobin sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan perhitungan persentase perubahannya. Kelompok perlakuan mengalami

perubahan berupa peningkatan kadar hemoglobin setelah pemberian intervensi bubuk kakao selama 2 minggu. Presentase pada kelompok perlakuan lebih tinggi dari kelompok lainnya.

Hal ini berarti dengan pemberian bubuk kakao dapat membantu meningkatkan kadar hemoglobin sampel yang sudah diberikan atau diinduksi NaNO_2 secara signifikan. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Gyekye, *et al.* (2016) yang dilakukan pada *Guenia pig* dimana dengan mengonsumsi secara teratur UNCP (*Unsweetened Cocoa Powder*) dapat membantu mengembalikan beberapa gangguan hematologi. Bubuk kakao yang diberikan pada saat intervensi didapatkan dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao. Bubuk kakao yang akan disondekan dilarutkan kedalam air hangat hingga mencapai volume 4ml.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Kadar hemoglobin sebelum perlakuan yaitu kontrol negatif 15,900 g/dl, kontrol positif 12,643 g/dl, dan perlakuan 12,229 g/dl sedangkan sesudah perlakuan yaitu kontrol negatif 15,657 g/dl, kontrol positif 14,143 g/dl, dan perlakuan 15,529 g/dl.

Terdapat perbedaan yang signifikan kadar hemoglobin antar kelompok sebelum perlakuan ($p=0,000$).

Terdapat perbedaan yang signifikan kadar hemoglobin antar kelompok sesudah perlakuan ($p=0,022$).

Terdapat perbedaan yang signifikan kadar hemoglobin sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok perlakuan ($p=0,009$).

Terdapat perbedaan selisih kadar hemoglobin sebelum dan sesudah intervensi bubuk kakao pada kelompok perlakuan yaitu sebesar $p=0,007$. Bubuk kakao sebesar 2,6 gram dapat meningkatkan kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan sebesar 27%.

Saran



Perlu dilakukan uji coba terhadap beberapa ekor tikus terlebih dahulu terkait dengan pemberian NaNO_2 .

Melakukan uji T_0 terlebih dahulu sebelum induksi dilakukan untuk memastikan kondisi hewan coba.

Memperhatikan asupan pakan saat adaptasi, induksi, hingga intervensi sehingga dapat memastikan peningkatan kadar hemoglobin dikarenakan intervensi yang sudah dilakukan bukan disebabkan faktor lain

Melanjutkan induksi NaNO_2 selama intervensi bubuk kakao dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeyeye, S. A., J. O. Agbede, V. A. Aletor, and O. D. Oloruntola. 2017. *Processed Cocoa (Theobroma Cacao) Pod Husk in Rabbit Diet: Effect of Haematological and Serum Biochemical Indices*. In Asian Journal of Advances in Agricultural Research. [e-journal] 2(4): pp.1-9.
- Adiyati, Pradita Nuri. 2011. *Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (Rattus norvegicus) galur Sprague dawley*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Ambarwati, R. 2012. *Effect Of Sodium Nitrite (NaNO_2) to Erythrocyte and Hemoglobin Profile in White Rat (Rattus norvegicus)*. In Folia Medica Indonesiana. [e-journal] 48 (1): pp.1-5.
- Amedonu, E. 2013. *Effect of Natural Cocoa Powder Supplemntation on Oxidative Stress and Hematological Indices in Healthy Ghanaian Adults*. Thesis. University of Ghana Medical School, Korle-Bu, Accra, Ghana Collages of Health Sciences.
- Andujar, I., M. C. Recio, R. M. Giner, and J. L. Rios. 2012. *Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health*. In Oxidative Medicine and Cellular Longevity. [e-journal].
- Arnas, E. 2014. *Pengaruh Pemberian Jus Kecambah Kacang Hijau (Phaseolus radiatus) terhadap kadar Hemoglobin Darah Tikus Anemia*. Skripsi. Politeknik Negeri Jember.
- Aziz, T A. 2011. *Concentration-Dependant Antioxidant Activity of Pentoxifylline in Nitrite-induced Hemoglobin Oxidation Model*. In Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences.[e-journal] 20 (1): pp.66-69.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. Riset Kesehatan Dasar Republik Indonesia. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Statistik Perkebunan Indonesia Kakao. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Badan Standarisasi Nasional. 2008. SNI 2323:2008 Biji Kakao. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- 2009. SNI 3747:2009 Kakao Bubuk. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Bara, V., B. Camelia, Bara L. 2011. *Nitrosamines Occurrence in Some Food Products*. University of Oradea, Faculty of Enviromental Protection.
- Badan Standarisasi Nasional. 2008. Standar Nasional Mutu Biji Kakao (SNI 01-2323-2008). Jakarta: BSN.
- Balcombe, J.P., A.N.D Barnard, dan C. Sandusky. 2004. *Laboratory Routines Cause Animal Stres. Contemporary Stress. American Assosiation for Laboratory Animal Science*. [e-journal] 43(6).
- Citrakesumasari. 2012. *Anemia Gizi Masalah dan Pencegahannya*. Yogyakarta: Kaliaka.
- Departemen kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). 2010. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2010. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Derave W. dan Taes Y. 2009. *Beware of the Pickle: Health Effects of Nitrate*



- Intake. J Appl Physiol.* [journal] 107: pp.16-77.
- Gandrasoebrata, R. 2010. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Penerbit Dian Rakyat.
- Gebicka, L. and E. Banasiak. 2009. *Flavonoid as Reductans Ferryl Hemoglobin*. In *Acta Biochimica Polonica*. [e-journal] 56 (3): pp.509-513.
- Gluhcheva, Y., I. Ivanov, E. Petrova, E. Pavlova, and I. Vladov. 2012. *Sodium Nitrite-induced Hematological and Hemorheological Changes in Rats. Series on Biomechanics*. [journal] 27(3-4): pp. 53-58.
- Gyekye, I. J. A., C. A. Boasiako, S. Oppong, S. Arthur, and J. E. Sarkodie. 2016. *Hematological Changes and Nitric Oxide Levels Accompanying High-dose Artemether-lumefantrine Administration in Male Guinea Pigs: Effect of Unsweetened Natural Cocoa Powder*. In *Journal Intercult Ethnopharmacol*. [e-journal] 5(4): pp.350-357.
- Handayani, W. dan A. S. Haribowo. 2008. *Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Haniek, U., S. Hadisaputo, S. Rahayu. 2017. *Efek Ekstrak Kurma (Phoenix dactylifera L) terhadap Status Besi pada Ibu Hamil*. Tesis. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Henneberg, R., M. F. Otuki, A. E. F. Furman, P. Hermann, A. J. do Nascimento, and M. S. S. Leonart. 2013. *Protective Effect of Flavonoids Against Reactive Oxygen Species Production in Sickle Cell Anemia Patients Treated with Hydroxyu*. In *Revisia Brasileira de Hematologi e Hemoterapia*. Vol. 35, Issue. 1. Hal. 52-55.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). 2016. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2016*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Khayrani, A. C. 2008. *Pengaruh Konsentrat Protein Kacang Komak (Lablab purpureus (L) Sweet) Terhadap Kadar Glukosa Darah, Profil Lipid, dan Peroksidasi Lipid Tikus Diabetes*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Bogor.
- Kusumawati, D. 2016. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Mulato, S., E. Suharyanto. 2014. *Kakao Cokelat dan Kesehatan*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
- Munawaroh, S. 2009. *Pengaruh Ekstrak Kelopak Rosela (Hibiscus sabdariffa) Terhadap Peningkatan Jumlah Eritrosit dan Kadar Hemoglobin (Hb) dalam Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus) Anemia*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nopiana. 2013. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk.) terhadap Tekanan Darah Tikus Putih Betina Anemia*. Depok: Universitas Indonesia.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Nursin. 2012. *Hubungan Pola Konsumsi dengan Kadar Hemoglobin Ibu Hamil di Puskesmas Sudiang Raya Makassar Tahun 2012*. Skripsi. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Nursucihta, S., H. A. Thai'in, D. M Putri, D. N. Utami, dan A. P. Ghani. 2014. *Uji Aktivitas Antianemia Ekstrak Etanolik Biji Parkia speciosa Hassk*. Dalam *Jurnal Tred. Med*. [e-journal] 19 (2): pp.49-54.
- Oehadian, A. 2012. *Pendekatan Klinis dan Diagnosis Anemia*. Dalam *Cermin Dunia Kedokteran* - 194. [e-journal] 39 (6): pp.407-412.



- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2016. Pengawasan Klaim Pada Label dan Iklan Pangan Olahan.
- Praptiwi, E. Sulistyowati, Kurstiyono. 2009. *Pola Makan dan Pertumbuhan Bobot Tubuh Tikus yang Diil nokulasi Prophyromonas gingivalis Sebelum dan Sesudah terjadinya periodontitis*. Dalam Media Medika Indonesia. [e-journal] 43 (5): pp.229-233.
- Proverawati, A. 2011. *Anemia dan Anemia Kehamilan*. Yogyakarta: Muha Medika.
- Restuti, A. N. S., A. Yulianti, N. Nuraini. 2018. *Intervensi Bubuk Kakao Terhadap Perubahan Gula Darah Puasa Tikus Sprague Dawley Diabetes Melitus*. Dalam Jurnal Riset Kesehatan. [e-journal] 7 (2): pp.57-60.
- Rusconi, M. and A. Conti. 2009. *Theobroma cacao L., the Food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims*. In Pharmacological Research. [e-journal] 61 (5): pp.5-13.
- Saito, H. 2014. *Metabolism Of Iron Stores*. Nagoya J Med Sci. [e-journal] 76 (3-4): pp.235-254.
- Santoso, S. 2015. *SPSS20 Pengolahan Data Statistik di Era Informasi*. Jakarta: PT. Alex Media Komputindo, Kelompok Gramedia.
- Sari, H.P., Endo Dardjito, Dian Anandari. 2016. *Anemia Gizi Besi di wilayah Kabupaten Banyumas*. Jurnal Kesehatan Masyarakat. [e-journal] 8 (1): pp.16-31.
- Sayuti, K., dan R. Yenrina. 2015. *Antioksidan, Alami, dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Sherwood, L. 2008. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Alih Bahasa : Brahm U. Jakarta: EGC.
- Sihombing, M., S. Tuminah. 2011. *Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda*. Dalam Indonesian Veterinary Journal. [e-journal] 12 (1): pp.
- Stanojevic, L. Comic, O. Stefanovic, and S. I. Solujic-Sukdolak. 2009. *Antimicrobial Effects of Sodium Benzoate, Sodium Nitrite and Pottasium Sorbate and Their Synergistic Action in Vitro*. In Bulgarian Journal of Agricultural Science. [e-journal] 15 (4): pp.307-311.
- Sudoyo A. W., B. Setiyohadi, I. Alwi, M. Simadibrata, S. Setiati. 2010. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. [e-book] Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Susilo, J., N. D. Ariesti, dan N. K. B. S. Dani. 2015. *Uji Aktivitas Jumlah Hemoglobin dan Penurunan Jumlah Retikulosit Infusa Daun Sirsak (Annona muricata L.) pada Tikus Anemia yang Diinduksi Fenilhidrazin HCL*. Dalam Jurnal Farmasi dan Obat Alam. [e-journal] 1 (4).
- Tamrin, N. A., dan E.P. Heriyanto. 2016. *Analisis Kadar Katekin Dan Evaluasi Aktivitas Antioksidan Beberapa Produk Berbahan Utama Bubuk Kakao*. Dalam Jurnal Rekapangan. [e-journal] 10(11): pp.44.
- Welfensohn, S. and Lloyd M. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. United Kingdom: Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Widyastuti, D. A. 2013. *Profil Darah Tikus Putih Wistar pada Kondisi Subkronis Pemberian Natrium Nitrit*. Dalam Jurnal Sain Veteriner. [e-journal] 31 (2): pp.201-215.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wirawan, R. 2011. *Pemeriksaan laboratorium hematologi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- World Health Organization (WHO). 2015. *The Global Prevalence Of Anaemia In 2011*. Geneva: World Health Organization.
- 2010. The World Health Report. <http://www.who.int/whr/2010/en/index.html>. [diakses 12 Juli 2018]
- Yartireh, H. A., A. H. Hashemian. 2013. *The Effect of Occupaational Exposure to Lead on Blood Hemoglobin Concentration in Workers of Kermanshah Oil Refinery*. In Iranian



Seminar Nasional INAHCO (Indonesian Anemia & Health Conference) 2019
ISBN :

Journal of Toxicology. [e-journal] 6
(19): pp. 766-770.
Zarianis. 2006. *Efek Suplementasi Besi
Vitamin C dan Vitamin C terhadap
Kadar Hemoglobin Anak Sekolah*

*Dasar yang Anemia Di Kecamatan
Sayung Kabupaten Demak. Tesis.
Program Magister Gizi Masyarakat:
Universitas Diponegoro.*