

**EFEK LAMA WAKTU PEMAPARAN 2-METHOXYETHANOL  
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN, NILAI MEAN CORPUSCULAR  
HEMOGLOBIN dan MEAN CORPUSCULAR HEMOGLOBIN  
CONCENTRATION TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

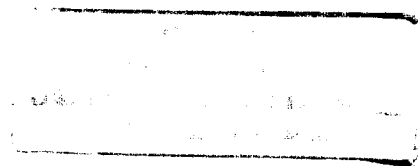
MPB 0137

Put  
e

**DIAN PERMANA PUTRI**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2006**



**EFEK LAMA WAKTU PEMAPARAN 2-METHOXYETHANOL  
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN, NILAI MEAN CORPUSCULAR  
HEMOGLOBIN dan MEAN CORPUSCULAR HEMOGLOBIN  
CONCENTRATION TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi pada  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Airlangga**

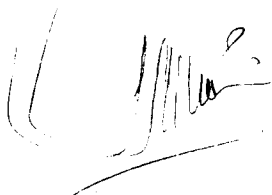
Oleh :

**DIAN PERMANA PUTRI  
NIM. 080212463**

**Tanggal Lulus : 15 September 2006**

**Disetujui Oleh :**

**Pembimbing I,**



**Dra. Alfiah Hayati, M.Kes**  
NIP. 131 801 398

**Pembimbing II,**



**Sugiharto, S.Si, M.Si**  
NIP. 132 105 902

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul : Efek Lama Waktu Pemaparan 2-Methoxyethanol Terhadap Kadar Hemoglobin, Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Penyusun : Dian Permana Putri

Nomor Induk : 080212463

Tanggal Ujian : 15 September 2006

Pembimbing I, Disetujui Oleh : Pembimbing II,

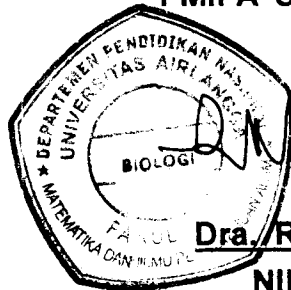


Dra. Alfiah Hayati, M.Kes  
NIP. 131 801 398



Sugiharto, S.Si, M.Si  
NIP. 132 105 902

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA Universitas Airlangga



  
Dra. Rosmanida, M.Kes.  
NIP. 131 126 075

### **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

**Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.**



"Besarnya pahala sesuai dengan banyaknya ujian dan cobaan. Apabila Allah menyenangkan suatu kaum Dia menguji mereka. Barangsiapa bersabar maka manfaat kesabarannya, dan barangsiapa murka maka baginya murka " Allah " (H.R. Attirmidzi).

"Tinta bagi seorang pelajar lebih suci nilainya daripada darah seorang martir" (Muhammad SAW)

*"Bukan kegagalan yang menjadikan seseorang gagal, tetapi dengan menyerah, menerima kegagalan dan menolak mencoba lagi!"*  
(Billi P.S Lim, Penulis buku "berani gagal")



Akhirnya, ku persembahkan karya kecil ini untuk :  
Bapak dan ibu serta adik-adikku tercinta (Dimas dan Alm. Bagus).



## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kami panjatkan kepada Allah Subhannallahu WaTa'ala atas segala ridho dan petunjuk-Nya kepada penyusun untuk menyelesaikan skripsi tepat pada waktunya.

Skripsi yang berjudul “**Efek Lama Waktu Pemaparan 2-Methoxyethanol Terhadap Kadar Hemoglobin, Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**” disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga Surabaya. Skripsi ini merupakan bagian dari penelitian dengan topik : **Analisis Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Pemaparan 2-Methoxyethanol.**

Akhir kata penyusun menyadari bahwa tiada gading yang tak retak maka dari itu penyusun mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi perbaikan naskah selanjutnya. Penyusun mengharapkan semoga penelitian yang dilaksanakan ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca khususnya dan masyarakat umumnya.

Surabaya, September 2006

Penyusun

Dian Permana Putri

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. Abdul Latief Burhan, MS. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga,
2. Dra. Rosmanida, M. Kes. selaku Kepala Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga,
3. Drs. I. B. Rai Pidada, M.Si. selaku dosen wali.
4. Dra. Alfiah Hayati, M.Kes. sebagai pembimbing I/penguji I yang telah memberikan bimbingan dan arahan dengan segala kesabaran.
5. Sugiharto, S.Si., M.Si. sebagai pembimbing II/penguji II yang telah memberikan bimbingan dan arahan.
6. Dra. Listijani Suhargo M.Si. sebagai penguji III atas segala saran dan masukan.
7. Dra. Rosmanida, M.Kes. sebagai penguji IV atas segala saran dan masukan.
8. Ibu dan Bapak tercinta yang selalu mengiringi setiap langkahku dengan doa serta mendukung setiap usahaku hingga aku bisa sampai disini. Adikku Dimas dan Alm. Bagus, Keluarga besar Pilangmadya, Keluarga Setro, terima kasih atas kasih sayang dan do'anya.
9. Kakak sekaligus sahabat terbaikku Bang Wie, yang selalu setia menampung segala keluh kesahku, memberi semangat dan keyakinan bahwa semua usaha



yang dilakukan dengan kerja keras pasti bisa terselesaikan dengan baik,  
SEMANGAT!!!

10. Yuyun, Ratri, Ergina dan Ulul, atas kerjasama dan bantuan selama penelitian.  
*“you are the best partners”*.
11. Dimas, Sitta, Tyas, Uyunk, Ina, dan Defrina, atas semangat kalian yang tiada hentinya, Shinta dan semua rekan HIMBIO'02 :Annas, Mega, Angga, Dave, Vica, Lisa, Agnes, Zeni, Ratih, Pipit, Atik, Paul, Puppy, Army, Dinie', Uci, Nisa Emma, Ayu, Sari, Vld, Lye, Titin, Endah, Budi, Iib, Andrew, Atuz, atas kebersamaan kalian bersama kalian aku belajar tentang persahabatan yang indah.
12. Poetry, Sophie, atas keceriaan yang tak pernah dibuat-buat, Dayat dan semua rekan-rekan HIMBIO'03 yang telah memberikan informasi dan bantuan.
13. Mas Londo dan Bang Uut dengan Anak Burungnya dan semua kru PEKSIA atas semua keceriaan dan semangat yang tak pernah ada hentinya.
14. Galih atas semua masukan dan nasehatnya, Romi yang telah memberikan dorongan spirit untuk terus maju, Arif, Ratih, Eka, Mbak Lie dan Vitri.
15. Karyawan dan karyawanati Jurusan Biologi FMIPA UNAIR : Pak Sukadji, Pak Suwarni, Pak Eko BH, Mas Eko, Mas Yanto, Pak Sunar, Mbak Wuri, Mbak Yatminah dan Mbak Ari.

Dian Permana Putri, 2006. Efek Lama Waktu Pemaparan *2-Methoxyethanol* terhadap Kadar Hemoglobin, Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Skripsi dibawah bimbingan Dra. Alfiah Hayati, M.Kes dan Sugiharto, S.Si.,M.Si, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.

## ABSTRAK

Senyawa *2-Methoxyethanol* (2-ME) merupakan golongan glycol ether yang bersifat toksik. Senyawa ini menghasilkan metabolit *methoxyacetic acid* (MAA) di dalam tubuh yang mengakibatkan terjadinya anemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek 2-ME terhadap kadar hemoglobin, nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) tikus putih. Hewan percobaan dalam penelitian ini adalah 32 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar, umur 14-16 minggu, berat badan antara 120-150 gram. Hewan percobaan tersebut dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan. Empat kelompok kontrol perlakuan yang diinjeksi dengan 0,2 ml larutan fisiologis selama 1 kali/minggu, 3 kali/minggu, 6 kali/minggu, dan 12 kali/2 minggu dan empat kelompok perlakuan yang diinjeksi 0,2 ml 2-ME selama 1 kali/minggu, 3 kali/minggu, 6 kali/minggu, dan 12 kali/2 minggu. Penghitungan kadar hemoglobin dengan menggunakan metode cyanmethemoglobin. Analisis data dengan ANAVA dilanjutkan dengan uji BNT (beda nyata terkecil)  $\alpha = 0,05$  dan uji T untuk mengetahui pasangan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nilai yang signifikan.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian 2-ME dapat menyebabkan penurunan kadar hemoglobin, nilai MCHC dan peningkatan nilai MCH. Setelah dianalisis dengan uji statistik penurunan kadar hemoglobin signifikan pada lama waktu pemaparan mulai 6 kali/minggu, peningkatan nilai MCH signifikan pada lama waktu pemaparan mulai 3 kali/minggu tetapi tidak signifikan terhadap nilai MCHC. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian senyawa 2-ME dapat menyebabkan penurunan kadar hemoglobin, nilai MCH dan nilai MCHC.

Kata kunci : *2-methoxyethanol*, *hemoglobin*, MCH, MCHC

Putri., D.P; 2006. The Long Term Effect of *2-Methoxyethanol* on Hemoglobin Concentration, Mean Corpuscular Hemoglobin and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration Value of Rats (*Rattus norvegicus*). This Study was Guidance by Dra. Alfiah Hayati, M.Kes and Sugiharto, S.Si., M.Si. Departement of Biology, Faculty of Mathematic and Natural Science, Airlangga University, Surabaya.

### ABSTRACT

This research has done to recognize the long term effect 2-Methoxyethanol (2-ME) on hemoglobin concentration, Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) value. The research used 32 adult male rats (*Rattus norvegicus*) as experimental animal which had 14-16 weeks age from Wistar strain and 120-150 gram weight. The experimental animal were divided into 8 groups each of which consist 4 rats. Four groups of control were given injection with 0,2 ml physiologist minerals solution (1 day, 3 day, 6 day/weeks, and 12 day/ 2 weeks) and four groups of threatment was given injection 0,2 ml 2-ME based on time given 1 day, 3 day, 6 day/weeks, and 12 day/ 2 weeks). Observation was done by taken the blood of rats and measured the hemoglobin concentration, MCH and MCHC value. Each of data used statistical analysis with one way ANOVA and then continued with LSD analysis also independent t test. Based on the result of statistical analysis, showed that signification value was less than  $\alpha = 0,05$ . It means that 2-ME influence to hemoglobin concentration, MCH and MCHC value.

The result showed that the quantity of hemoglobin concentration and MCHC value in the treatment groups were lower than the control groups but MCH value were higher than the control groups Based on analyzed test, the decreasing are significant for the quantity of hemoglobin concentration in treatment groups P<sub>3</sub> and P<sub>4</sub>, increasing MCH value in treatment groups P<sub>3</sub> but not significant for MCHC value. The conclusion of the observation is 2-ME is a haematological toxin, which leads to microcytic anemia with decreasing the quantity of hemoglobin concentration, MCHC and increasing MCH value.

Key words : *2-ME, hemoglobin, MCH, MCHC*

## DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK .....	ii
ABSTRACT.....	iii
DAFTAR ISI .....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1.Latar Belakang .....	1
1.2.Rumusan Masalah .....	4
1.3.Asumsi Penelitian .....	4
1.4.Hipotesis Penelitian .....	4
1.4.1. Hipotesis kerja .....	4
1.4.2. Hipotesis statistik .....	5
1.5.Tujuan Penelitian .....	5
1.6.Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Tinjauan tentang 2-Methoxyethanol .....	6
2.2. Tinjauan Umum Darah .....	8
2.2.1. Eritrosit .....	10
2.2.2. Hemoglobin .....	14
2.2.3. PCV ( <i>Packed Cell Volume</i> ) .....	17
2.2.4. Indeks sel darah .....	18
2.2.5. Anemia .....	19
2.3. Tinjauan tentang Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	21
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
3.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	23
3.2.1. Bahan penelitian.....	23
3.2.2. Alat penelitian .....	24
3.3. Rancangan Penelitian .....	24
3.3.1. Variabel penelitian .....	24
3.4.Cara Kerja.....	25
3.4.1. Pembuatan larutan 2-Methoxyethanol.....	25
3.4.2. Pengelompokan hewan coba dan perlakuan .....	26
3.4.3. Pengambilan darah .....	26
3.4.4. Pengukuran kadar hemoglobin.....	26
3.4.5. Penghitungan eritrosit.....	27

3.4.6. Penghitungan PCV ( <i>Packed Cell Volume</i> ).....	29
3.4.7. Penghitungan nilai MCH ( <i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i> ).....	30
3.4.8. Penghitungan nilai MCHC ( <i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i> ).....	30
3.5. Analisis Data .....	30
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Hasil.....	31
4.1.1. Hasil Pengukuran dan Analisis Data 2-ME terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Putih .....	31
4.1.2. Hasil Pengukuran dan Analisis Data 2-ME terhadap Nilai MCH Tikus .....	34
4.1.3. Hasil Pengukuran dan Analisis Data 2-ME terhadap Nilai MCHC Tikus Putih .....	37
4.2. Pembahasan.....	42
4.2.1. Kadar Hemoglobin .....	40
4.2.2. Nilai <i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i> (MCH).....	45
4.2.3. Nilai <i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i> (MCHC).....	47
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. Kesimpulan .....	49
5.2. Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>



## DAFTAR GAMBAR

<b>no.</b>	<b>judul gambar</b>	<b>halaman</b>
2.1.	Skema biotransformasi <i>2-Methoxyethanol</i> di hepar.....	7
2.2.	Pematangan eritrosit .....	12
2.3.	Skema yang menunjukkan kerja eritropoietin .....	12
2.4.	Skema biosintesis hemoglobin .....	16
3.1.	Bilik hitung <i>Improved Neubauer</i> .....	27
4.1.	Diagram kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama waktu pemberian 2-ME.....	33
4.2.	Diagram nilai MCH kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama waktu pemberian 2-ME .....	36
4.3.	Diagram nilai MCHC kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama waktu pemberian 2-ME .....	39



## DAFTAR TABEL

no.	judul tabel	halaman
2.1.	Nilai normal indeks sel darah .....	19
3.1.	Perlakuan hewan coba .....	26
4.1.	Rata-rata kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan....	31
4.2.	Rangkuman hasil ANAVA Satu Arah terhadap terhadap kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian 2-ME .....	32
4.3.	Hasil rangkuman uji BNT terhadap terhadap kadar hemoglobin dengan lama waktu pemberian larutan antar kelompok perlakuan .....	32
4.4.	Rangkuman hasil uji t terhadap kadar hemoglobin dengan lama waktu pemberian larutan antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ...	33
4.5.	Rata-rata nilai MCH kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.....	34
4.6.	Rangkuman hasil ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCH kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian 2-ME .....	35
4.7.	Hasil rangkuman uji BNT terhadap nilai MCH dengan lama waktu pemberian 2-ME pada kelompok perlakuan .....	36
4.8.	Rangkuman hasil uji t terhadap nilai MCH dengan lama waktu pemberian 2-ME antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan .....	37
4.9.	Rata-rata nilai MCHC kelompok kontrol dan kelompok perlakuan .....	38
4.10.	Rangkuman hasil Analisis ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCHC kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian 2-ME .....	38
4.11.	Rangkuman hasil uji t terhadap nilai MCHC dengan lama waktu pemberian 2-ME antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.....	40

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Judul</b>
1.	Data hasil penghitungan eritrosit dan PCV
2.	Hasil perhitungan kadar Hb, nilai MCH dan MCHC.
3.	Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap kadar hemoglobin pada kelompok kontrol.
4.	Hasil uji ANAVA Satu Arah dan BNT terhadap kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan.
5.	Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCH pada kelompok kontrol.
6.	Hasil uji ANAVA Satu Arah dan BNT terhadap nilai MCH pada kelompok perlakuan.
7.	Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCHC pada kelompok kontrol.
8.	Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCHC pada kelompok perlakuan.
9.	Hasil uji T terhadap kadar hemoglobin antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
10.	Hasil uji T terhadap nilai MCH antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
11.	Hasil uji T terhadap nilai MCHC antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1.Latar Belakang

Senyawa *2-Methoxyethanol* (2-ME) merupakan salah satu hasil metabolit *dimethoxyethylphthalate* (DMEP), kelompok *phthalic acid ester* (PAEs). Senyawa ini banyak digunakan sebagai *plasticizer* dalam pembuatan plastik. Dalam kehidupan sehari-hari plastik sangat banyak digunakan untuk kepentingan manusia, misalnya untuk peralatan rumah tangga, bahan pengemas, pipa air, barang mainan anak-anak, dan berbagai peralatan kedokteran atau kesehatan. Selain bermanfaat bagi kepentingan manusia, plastik juga dapat menimbulkan dampak negatif (Anonimus, 2003).

Dampak negatif tersebut berupa pencemaran lingkungan air, udara, tanah dan dapat membahayakan kesehatan manusia. Hal ini dapat terjadi karena ikatan PAEs dengan matriks polimer plastik tidak stabil apabila terkena suhu sekitar 35°C sehingga dapat luruh oleh pelarut organik, dan dapat masuk ke dalam tubuh hewan dan manusia lalu menyebar ke dalam berbagai organ tubuh. Senyawa ini masuk ke dalam tubuh hewan atau manusia melalui makanan atau minuman yang telah terkontaminasi, selain itu juga bisa terserap oleh kulit jika terjadi kontak langsung. Di antara berbagai PAEs, senyawa yang paling toksik dan teratogenik adalah DMEP. Di dalam hepar DMEP akan dimetabolisme menjadi 2-ME (Moslen *et al.*, 1994; Rumanta *et al.*, 2001).

Senyawa 2-ME atau *ethylene glycol monomethyl ether* (EGME) merupakan senyawa yang mudah terbakar dan tidak berwarna. Senyawa 2-ME

juga digunakan dalam pelarut cat, tinta, pelapis, pencetak sutra, fotografi, industri semikonduktor, tekstil, plastik, dan bahan bakar jet (Johanson, 2000). Senyawa 2-ME bersifat toksik di dalam tubuh karena senyawa ini akan teroksidasi menjadi *methoxyacetic acid* (MAA). Efek yang pernah dilaporkan baik pada kelinci betina maupun kelinci jantan yang terpapar 2-ME dosis 300 ppm mengalami penurunan berat badan, kelainan darah (pancytopenia), atropi jaringan lymphoid (timus), dan penurunan yang signifikan terhadap berat testis, sedangkan pada tikus betina maupun tikus jantan yang terpapar 2-ME dengan dosis yang sama mengalami pancytopenia dan penurunan berat hepar (Miller *et al.*, 1983).

Para pekerja industri yang menggunakan 2-ME sebagai bahan baku, yaitu industri mikrofilm dan textile menunjukkan rendahnya jumlah leukosit, pembesaran ukuran eritrosit (makrositosis) pada eritrosit, dan penurunan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin serta rendahnya nilai MCH dan MCHC (pancytopenia) (Johanson, 2000). Efek 2-ME yang juga pernah dilaporkan pada para pekerja industri antara lain pingsan, sakit kepala hebat, kelelahan, ataxia, serta anemia dan granulopenia (Miller *et al.*, 1983). Pada tikus yang diberi injeksi 2-ME dosis 200 mg/kg selama 3 kali/minggu melalui injeksi peritoneal menunjukkan terganggunya enzim *acetyl cholinesterase and delta-aminolevulinic acid dehydratase* (ALAD) yang dijumpai pada eritrosit, dan sumsum tulang tikus (Lazewska *et al.*, 1993 dalam Johanson, 2000). Enzim ALAD adalah enzim sitoplasma yang bereaksi secara aktif pada sintesa awal dan selama sirkulasi eritrosit berlangsung. Enzim ALAD merupakan enzim kedua dalam tahapan sintesis heme, penambahan dua molekul *aminolevulinic*

*acid* (ALA) membentuk *porphobilinogen* (PGB) yang merupakan prekursor dari heme (Kelada *et al.*, 2001). Apabila enzim ini terhambat, akibatnya hemoglobin tidak terbentuk dan suplai oksigen ke jaringan juga akan berkurang (Habal, 2002). ALAD akhir-akhir ini juga diduga berperan dalam akumulasi hemoglobin selama eritropoiesis (Ponka, 1997). Sehingga diduga 2-ME dapat mempengaruhi sintesis hemoglobin yang merupakan komponen penting dalam eritrosit.

Selain ALAD, enzim lain yang dapat dipengaruhi oleh MAA sebagai hasil metabolit 2-ME adalah Caspase 3, yaitu enzim yang terlibat dalam proses apoptosis (Takagi *et al.*, 2002). Peningkatan aktivitas enzim Caspase 3 pada eritrosit yang telah dewasa, diduga menyebabkan terjadinya degradasi protein yang ada pada membran eritrosit sehingga juga dapat menyebabkan hilangnya integritas membran yang merupakan ciri kerusakan eritrosit (Mandal *et al.*, 2003). Gangguan pada eritropoiesis maupun kerusakan eritrosit mengakibatkan jumlah eritrosit menurun sehingga dapat menyebabkan timbulnya anemia. Selain berkurangnya jumlah eritrosit, anemia juga diindikasikan dengan adanya penurunan kandungan hemoglobin dalam eritrosit, *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) yang menunjukkan kadar rerata hemoglobin dan *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) yang menunjukkan kadar hemoglobin rerata dalam satu eritrosit (Suripto, 1998; Bijanti *et al.*, 2002).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek lama waktu pemaparan 2-ME terhadap kadar hemoglobin, nilai MCH dan MCHC tikus putih.



## 1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah lama waktu pemaparan 2-ME berpengaruh terhadap kadar hemoglobin tikus putih?
2. Apakah lama waktu pemaparan 2-ME berpengaruh terhadap nilai MCH tikus putih ?
3. Apakah lama waktu pemaparan 2-ME berpengaruh terhadap nilai MCHC tikus putih ?

## 1.3. Asumsi Penelitian

Penelitian ini didasarkan pada asumsi bahwa pemberian 2-ME dapat mengganggu enzim *acetyl cholinesterase and delta-aminolevulinic acid dehydratase* (ALAD) pada eritrosit dan sumsum tulang tempat terjadinya hematopoiesis sehingga mengganggu proses eritropoiesis dan menyebabkan hemolisis eritrosit serta menurunkan kadar hemoglobin, nilai MCH dan MCHC.

## 1.4. Hipotesis Penelitian

### 1.4.1. Hipotesis kerja

Jika 2-ME dalam tubuh mengganggu proses eritropoiesis maka pemberian 2-ME pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) akan menurunkan kadar hemoglobin, nilai MCH dan MCHC.



### 1.4.2. Hipotesis statistik

$H_{01}$  : Lama waktu pemaparan 2-ME tidak mempengaruhi kadar hemoglobin tikus putih

$H_{a1}$  : Lama waktu pemaparan 2-ME mempengaruhi kadar hemoglobin tikus putih

$H_{02}$  : Lama waktu pemaparan 2-ME tidak mempengaruhi nilai MCH tikus putih.

$H_{a2}$  : Lama waktu pemaparan 2-ME mempengaruhi nilai MCH tikus putih.

$H_{03}$  : Lama waktu pemaparan 2-ME tidak mempengaruhi nilai MCHC tikus putih.

$H_{a3}$  : Lama waktu pemaparan 2-ME mempengaruhi nilai MCHC tikus putih.

### 1.5. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek lama waktu pemaparan 2-ME terhadap kadar hemoglobin, nilai MCH dan MCHC tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.6. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi khususnya kepada pekerja dan pemilik perusahaan yang menggunakan 2-ME sebagai bahan produksi, serta masyarakat luas sebagai konsumen pada umumnya tentang bahaya 2-ME terhadap sistem hematopoiesis.

## BAB II

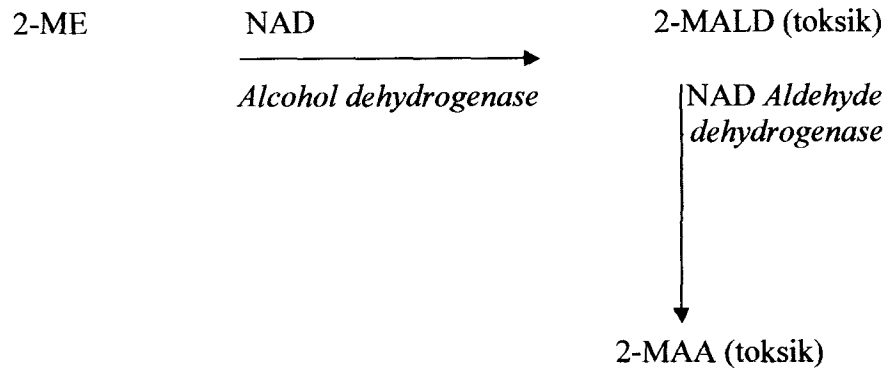
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tinjauan tentang 2-Methoxyethanol

Senyawa 2-methoxyethanol (2-ME) yang disebut juga *ethylene glycol monomethyl ether* (EGME) mempunyai rumus kimia  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  dengan berat molekul 76,09. Senyawa ini tidak berwarna, mudah larut dan mudah terbakar. Senyawa 2-ME merupakan pelarut yang sangat baik dan dapat dicampur dengan air dan memiliki kelarutan sebaik pelarut organik polar maupun non polar (Johanson, 2000).

Senyawa 2-ME mempunyai banyak kegunaan antara lain sebagai pelarut dalam cat, tinta, pelapis kayu (vernish), pencetak sutra, fotografi, industri semikonduktor, tekstil, plastik dan bahan bakar jet. Dampak akut (jangka pendek) dalam level tinggi pada hewan coba antara lain penurunan berat organ thymus, limpa dan testis, penurunan jumlah eritrosit, leukosit dan trombosit, hematokrit rendah dan penekanan selularitas sumsum tulang, mempengaruhi diferensiasi sperma dalam fase yang spesifik yaitu pachiten akhir yang menyebabkan oligospermia atau azospermia (Johanson, 2000).

Biotransformasi 2-ME di dalam tubuh dapat terjadi di hepar dan di testis. Proses ini diawali dengan proses oksidasi 2-ME menjadi 2-methoxyacetaldehyde (2-MALD) dengan bantuan enzim *alcohol dehydrogenase*. Selanjutnya dengan enzim *aldehyde dehydrogenase*, 2-MALD diubah menjadi 2-methoxyacetic acid (2-MAA). Kedua hasil metabolisme 2-ME, baik 2-MALD maupun 2-MAA inilah yang bersifat toksik (Moslen *et al.*, 1995).



**Gambar 2.1.** Skema biotransformasi 2-ME di hepar (Moslen *et al.*, 1995)

Senyawa 2-ME dapat mempengaruhi sistem saraf pusat, pemaparan jangka pendek menyebabkan pusing, keletihan, mudah mengantuk dan dalam jangka waktu lebih lama dapat mengakibatkan kehilangan kesadaran atau pingsan, dan bila terjadi kontak dengan mata dapat menyebabkan iritasi mata (Anonimus, 2003).

MAA sebagai metabolit 2-ME dapat meningkatkan aktivitas enzim caspase 3, dan peningkatan enzim ini pada eritrosit dewasa dapat menyebabkan eritrosit kehilangan integritas membran dan mengalami kerusakan (Takagi *et al.*, 2002 ; Mandal *et al.*, 2003). Caspase 3 adalah enzim yang berperan dalam peristiwa apoptosis. Enzim ini terdapat pada kebanyakan sel mamalia dan eritrosit yang telah dewasa. Dalam kondisi normal, aktivitas caspase 3 mulai muncul setelah eritrosit sudah berumur 120 hari yaitu memusnahkan eritrosit dari sistem sirkulasi.

Efek senyawa 2-ME pada tikus putih antara lain adalah penurunan konsentrasi hemoglobin dan PCV (*packed cell volume*), jumlah sel darah putih, sel darah merah, selularitas sumsum tulang, eritropoiesis dan terjadinya

hemolisis (Shih *et al.*, 2000). Para pekerja yang terpapar 2-ME menunjukkan adanya penurunan hemoglobin, PCV dan jumlah eritrosit (Shih *et al.*, 2003).

## 2.2. Tinjauan Umum Darah

Secara umum istilah darah, dipakai untuk menjelaskan fluida (cairan) yang beredar (bersirkulasi) dalam tubuh yang berfungsi untuk mengangkut gas, nutrien, dan bahan sisa metabolisme. Darah terdiri atas dua bagian : sel-sel darah sebanyak 45% dan plasma (cairan tempat sel-sel darah itu terendam) sebanyak 55 %. Sel-sel darah meliputi eritrosit, trombosit dan leukosit (Suripto, 1998).

Plasma adalah larutan berair yang mengandung substansi dengan berat molekul kecil dan besar yang merupakan 10% dari volumenya. Protein plasma utama ialah albumin, alfa, beta dan gama globulin serta fibrinogen. Albumin adalah komponen utama dan mempunyai peran utama dalam mempertahankan tekanan osmosis darah. Gama globulin adalah zat anti dan disebut immunoglobulin. Fibrinogen diperlukan untuk pembentukan fibrin dalam tahap akhir pembekuan. Beberapa substansi yang tidak atau hanya sedikit larut dalam air dapat diangkut oleh plasma karena substansi tersebut bergabung dengan albumin atau dengan alfa dan beta globulin. Jika darah dikeluarkan dari sistem sirkulasi, darah akan membeku. Bekuan ini mengandung unsur-unsur berbentuk cairan bening yang disebut serum (Junquiera *et al.*, 1995).

Zat-zat terlarut lainnya adalah elektrolit yang penting untuk aktivitas sel itu sendiri dan menjaga tekanan osmosis cairan tubuh ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^-$ ), nutrien organik (karbohidrat, protein, lemak) yang

penting untuk menghasilkan energi ATP, untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel-sel, bahan organik sisa metabolisme seperti urea, asam urat, kreatinin, bilirubin dan amonia (Suripto,1998).

Secara umum fungsi darah menurut Suripto (1998) adalah sebagai alat transportasi yang berkaitan dengan nutrisi, respirasi, ekskresi dan regulasi; mengatur keseimbangan antara darah dengan cairan jaringan (osmoregulasi); mengatur keseimbangan asam-basa cairan tubuh; mengatur suhu tubuh (termoregulasi); sebagai pertahanan tubuh dengan adanya antibodi dan mencegah pendarahan yang terus-menerus dengan adanya trombosit.

Sel darah merah dewasa mempunyai waktu hidup relatif pendek, dan karenanya populasi itu harus secara tetap diganti oleh turunan sel induk yang dihasilkan dalam organ hematopoiesis (Junqueira *et al.*,1995). Sel darah yang rusak digantikan oleh sel-sel yang baru melalui proses hematopoiesis dan eritropoiesis. Hematopoiesis merupakan proses pembentukan sel darah baru di tubuh makhluk hidup yang berlangsung di dalam sumsum tulang belakang, sedangkan eritropoiesis adalah proses pembentukan eritrosit baru (Marieb, 2001).

Proses hematopoiesis banyak dipengaruhi oleh beberapa faktor dari dalam maupun dari luar tubuh organisme, antara lain faktor dalam dan luar tubuh antara lain: Dari dalam tubuh berasal dari tekanan oksigen yang rendah dalam jaringan karena kekurangan oksigen (hipoksia). Keadaan ini akan memacu sintesis eritropoietin oleh ginjal yang kemudian menstimulasi sumsum tulang untuk memproduksi eritrosit melalui proses eritropoiesis, hormon, yaitu hormon androgen, hormon tiroid, hormon kortikosteroid dan *growth hormone*



dapat menstimulasi eritropoiesis, sedangkan hormon estrogen dapat menghambat eritropoiesis, volume darah, karena kehilangan darah akan dapat merangsang eritropoiesis sedangkan transfusi darah dapat menekan eritropoiesis, faktor perangsang eritropoiesis antara lain, eritropoietin, *interleukin*, *colony stimulating factor* dan trombopoietin. Faktor dari luar tubuh meliputi asam amino yang merupakan bahan dasar pembentukan sel darah, sehingga bila terjadi defisiensi terhadap bahan ini akan berakibat turunnya produk hematopoiesis dan vitamin (vitamin B<sub>12</sub>, asam folat, vitamin C, vitamin B<sub>6</sub>), mineral (Fe dan Cu), berperan dalam proses sintesa hemoglobin. (Bijanti, 2002).

### 2.2.1 Eritrosit

Eritrosit mamalia digambarkan sebagai cakram bikonkaf tanpa inti. Eritrosit manusia bergaris tengah 7,5  $\mu\text{m}$ , tebal 2,6  $\mu\text{m}$  pada tepinya dan 0,8  $\mu\text{m}$  di pusat. Bentuk bikonkaf eritrosit memberikan rasio permukaan volume yang besar, jadi memudahkan pertukaran gas. Konsentrasi normal eritrosit dalam darah kira-kira 3,9-5,5 juta/ $\mu\text{L}$  pada wanita dan 4,1-6 juta/ $\mu\text{L}$  pada pria. Eritrosit yang bergaris tengah lebih besar dari 9  $\mu\text{m}$  disebut makrosit dan yang bergaris tengah kurang dari 6  $\mu\text{m}$  disebut mikrosit (Junquiera *et al.*, 1995).

Dalam sistem sirkulasi, eritrosit berfungsi sebagai media transport sari makanan, hormon dan gas untuk respirasi. Setiap sel eritrosit mengandung sekitar 640 juta molekul hemoglobin. Fungsi utama eritrosit adalah mengangkut hemoglobin yang berikatan dengan oksigen dari paru-paru ke jaringan. Selain mengangkut hemoglobin, eritrosit juga mempunyai fungsi lain. Contohnya, eritrosit mengandung banyak sekali *karbonik anhidrase*,

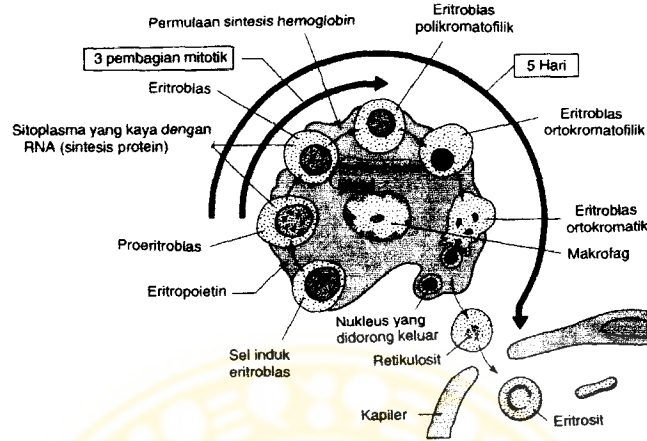


yang mengkatalisis reaksi antara karbondioksida dan air, sehingga meningkatkan kecepatan reaksi bolak-balik ini beberapa ribu kali lipat. Cepatnya reaksi ini membuat air dalam darah dapat bereaksi dengan banyak sekali karbondioksida dan dengan demikian mengangkutnya dari jaringan menuju paru-paru dalam bentuk ion bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) (Guyton dan Hall, 1997).

Tahapan pembentukan eritrosit (Junquiera *et al.*, 1995; Guyton dan Hall, 1997) adalah sebagai berikut :

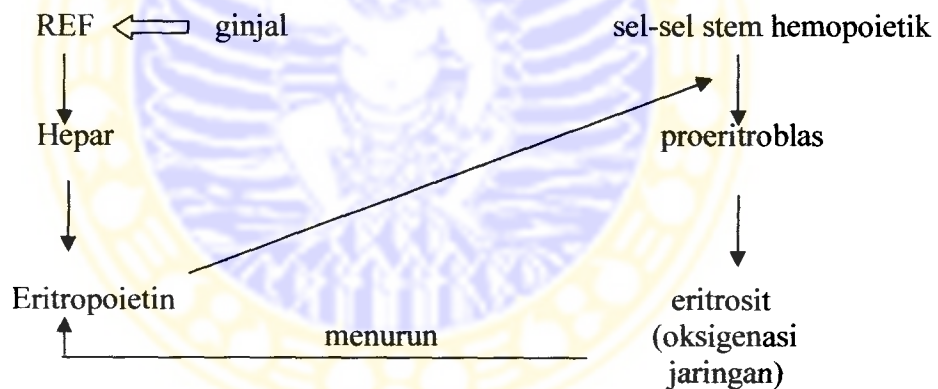
1. proeritroblas, merupakan sel pertama dalam rangkaian pembentukan eritrosit. Selnya berukuran besar dengan kromatin longgar, nukleolus terlihat jelas;
2. basofilik eritroblas, nukleus padat dan tidak nampak adanya nukleolus, mensintesis sedikit sekali hemoglobin, sitoplasma basofilik kuat sehingga dapat dicat dengan zat warna basa;
3. polikromatofilik eritroblas, poliribosom mulai berkurang, daerah sitoplasma mulai dipenuhi oleh hemoglobin sehingga sel-sel ini mempunyai gambaran polikromatofil;
4. ortokromatik eritroblas, terbentuk lebih banyak hemoglobin, nukleus terus memadat dan warna berubah menjadi merah;
5. retikulosit, sitoplasma dari sel-sel dipenuhi oleh hemoglobin dengan konsentrasi sekitar 34 %, nukleus memadat sampai ukuran menjadi kecil dan terdorong dari sel. Pada tahap sel masih mengandung sedikit bahan-bahan basofilik, sisa golgi, mitokondria dan sedikit organela sitoplasmik yang lain;

6. sel kehilangan poliribosomnya dan menjadi eritrosit matang (gambar 2.2).



Gambar 2.2. Proses pematangan eritrosit (Junquiera *et al.*, 1995).

Secara skematis mekanisme kerja eritropoietin adalah sebagai berikut :



Gambar 2.3. Mekanisme kerja eritropoietin (Guyton dan Hall, 1997).

Faktor stimulasi produksi eritrosit adalah hormon eritropoietin yang diproduksi oleh hepar dengan rangsangan awal dari *renal erythropoietic factor* (REF). Jika suplai oksigen pada jaringan berkurang maka kadar CO<sub>2</sub> dalam darah akan meningkat sehingga meningkatkan keasaman darah. Hal ini akan memacu ginjal untuk mensekresikan REF yang akan ditranspor ke sumsum tulang, selanjutnya menstimulasi stem hematopoietik untuk membentuk

proeritroblas. Faktor yang menyebabkan hipoksia adalah penurunan volume darah dan kadar hemoglobin serta anemia (Guyton dan Hall, 1997).

Eritrosit diproduksi dari sumsum tulang panjang sampai seseorang berusia 5 tahun, namun sumsum tulang panjang, kecuali bagian proksimal humerus dan tibia, menjadi sangat berlemak dan tidak memproduksi eritrosit setelah seseorang berumur 20 tahun. Setelah usia ini kebanyakan eritrosit diproduksi dalam sumsum tulang membranosa, seperti vertebra, sternum dan iga. Bahkan dalam tulang-tulang ini, sumsum menjadi kurang produktif sesuai dengan bertambahnya usia (Guyton dan Hall, 1997).

Produksi sel darah merah dirangsang oleh hormon yang disebut eritropoietin, yaitu suatu glikoprotein dengan berat molekul kira-kira 34.000 dalton. Eritropoietin merangsang produksi proeritroblas dari sel-sel sistem hemopoietik dalam sumsum tulang. Setelah proeritroblas terbentuk maka eritropoietin mengakibatkan sel-sel lebih cepat mengalami eritroblastik daripada keadaan normal dan selanjutnya akan melampaui batas kecepatan produksi sel baru. Pada orang normal, kurang lebih 90 % eritropoietin dibentuk dalam ginjal, dan sisanya dibentuk di hati. Sel matang merupakan sel yang berdiferensiasi sampai tahap dimana sel mempunyai kemampuan melaksanakan segala fungsi khususnya. Sel darah merah masuk ke dalam sirkulasi setelah dilepaskan dari sumsum tulang selama 120 hari sebelum rusak dari keadaan normal. Setelah membran rapuh maka sel dapat robek saat melewati tempat-tempat sempit dalam sirkulasi. Hemoglobin yang dilepaskan dari eritrosit akan segera difagosit oleh sel-sel makrofag di hampir seluruh tubuh, terutama di hati oleh sel-sel Kupffer, limpa dan sumsum tulang.

Makrofag akan melepaskan besi yang didapat dari hemoglobin dan akan diangkut oleh transferin menuju sumsum tulang untuk membentuk eritrosit baru, atau menuju hati dan jaringan lainnya untuk disimpan dalam bentuk feritin (Guyton dan Hall, 1997).

### 2.2.2. Hemoglobin

Komponen utama sel darah merah adalah hemoglobin (Hb), yang mengangkut O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> dan mempertahankan pH normal. Setiap sel darah merah mengandung sekitar 640 juta molekul hemoglobin dan setiap molekul hemoglobin terdiri atas dua pasang rantai polipeptida dan empat gugus heme, masing-masing mengandung sebuah atom besi. Heme adalah derivat protein yang mengandung Fe untuk mengikat O<sub>2</sub> (Bijanti, 2002).

Tipe variasi rantai pada hemoglobin ada empat yaitu alfa, beta, gama, dan delta. Hemoglobin A paling umum terdapat dalam darah dan terdiri dari dua rantai alfa dan dua rantai beta (Guyton dan Hall, 1997).

Sebagai pigmen respirasi, hemoglobin merupakan protein konyugasi dengan berat molekul 68.000 dalton. Hemoglobin terdiri atas protein globin yang berkombinasi dengan heme. Heme merupakan porfirin tertentu (porfirin tipe III atau protoporfirin III). Porfirin III sendiri terdiri atas 4 molekul pirol yang dihubungkan satu sama lain oleh jembatan metilen (=CH-) (Suripto, 1998).

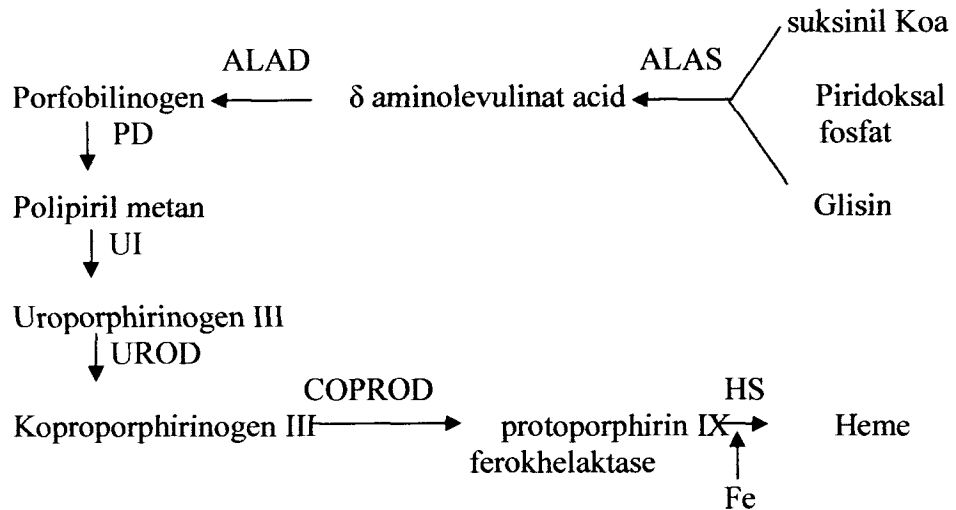
Pembentukan/sintesis hemoglobin terjadi dalam sumsum tulang belakang melalui semua stadia pematangan, yaitu berlangsung dari eritroblas

sampai stadia retikulosit, kemudian retikulum akan larut dan sel darah merah menjadi matang. (Bijanti, 2002).

Meskipun sel darah merah muda meninggalkan sumsum tulang dan masuk dalam aliran darah mereka terus membentuk hemoglobin dalam jumlah kecil selama hari-hari berikutnya. Sintesis tersebut diawali dengan kondensasi glisin dan suksinil koenzim A (CoA) oleh enzim *aminolevulinic acid sintetase* (ALAS) untuk membentuk senyawa *delta aminolevulinic acid* (ALA). Selanjutnya ALA mengalami dehidrasi menjadi porphobilinogen oleh enzim ALAD (*aminolevulinic acid dehidratase*). Setelah melewati beberapa tahapan reaksi, senyawa porpobilinogen tersebut mengalami perubahan bentuk lagi menjadi protoporfirin. Salah satu senyawa protoporfirin, yaitu protoporfirin IX akan berikatan dengan Fe membentuk heme. Heme akan bereaksi dengan globin dimana empat molekul heme berikatan dengan satu molekul globin dan ion logam  $Fe^{2+}$  dengan bantuan enzim ferrokhelaktase membentuk hemoglobin (Darmono, 1995).

Secara skematis sintesis hemoglobin digambarkan sebagai berikut :





Gambar 2.4. Biosintesis hemoglobin. ALAS(Aminolevulinic Acid Sintetase), ALAD (Aminolevulinic Acid Dehidratase), UROD (Uroporphirinogen Dehidratase), HS (Heme Sintetase), COPROD (Coproporphirinogen Dehidratase), PD(Porphobilinogen Deaminase), UI (Uroporphobilinogen Isomerase) (Darmono, 1995).

Beberapa variasi ikatan hemoglobin dengan substansi lain yaitu (Suripto, 1998) :

1. hemoglobin tereduksi disebut juga sebagai ferohemoglobin, yaitu merupakan molekul hemoglobin yang telah melepaskan oksigennya. Hemoglobin tereduksi ditulis dengan simbol Hb(globin)(Por:Fe<sup>++</sup>);
2. methemoglobin, diperoleh apabila oksihemoglobin atau hemoglobin tereduksi dioksidasi dengan Fe(CN)<sup>3</sup>. Methemoglobin disebut juga ferihemoglobin dan ditulis dengan simbol Met.Hb atau Hb(OH) atau (globin)(Por:Fe<sup>+++</sup>);
3. karboksihemoglobin (karboksiglobin), merupakan ikatan antara hemoglobin dengan gas karbonmonoksida (CO), biasanya diberi simbol HbCO atau (globin)(Por: Fe<sup>+++</sup>)CO. Afinitas hemoglobin terhadap CO adalah 200-250 kali lebih besar daripada afinitas



hemoglobin dengan O<sub>2</sub>, oleh karena itu gas CO sangat berbahaya bila terhirup dalam jumlah besar;

4. sianmethemoglobin, merupakan ikatan antara CN dengan methemoglobin atau hemoglobin, atau dengan hemoglobin tereduksi. Sianmethemoglobin diberi simbol dengan Met.Hb.CN atau (globin)(Por:Fe<sup>+++</sup>)CN;
5. sulfhemoglobin, terbentuk bila ferohemoglobin dicampur dengan gas H<sub>2</sub>S, sehingga hemoglobin mengalami putrefaksi (penguraian protein).

Kuantitas hemoglobin normal pada pria 13,4-17,7 g/dl, sedangkan pada wanita 11,4-15,1 g/dl (Hadi, 2001). Pada tikus hemoglobin dalam darah berkisar 15-16 g/dl (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

### 2.2.3. PCV (*Packed Cell Volume*)

*Packed Cell Volume* (PCV) atau disebut juga hematokrit adalah jumlah persen sel darah merah dari sejumlah darah (Suripto, 1998). Menurut Wirawan *et al.*, (1996) adalah volume eritrosit dalam 100 ml darah yang dinyatakan dalam persen. Nilai PCV digunakan untuk mengetahui ada tidaknya anemia dan digunakan juga untuk menghitung eritrosit rata-rata. Penetapan nilai PCV dapat dilakukan dengan cara makrohematokrit atau mikrohematokrit.

Hematokrit diperoleh setelah darah disentrifuge (dipusing). Supernatant translusen, kekuningan, agak kental adalah plasma darah. Unsur berbentuk darah terpisah menjadi dua lapisan yang mudah dibedakan. Lapisan bawah merupakan 42-47 % dari volume total darah yang ada dalam tabung hematokrit, berwarna merah dan terbentuk atas eritrosit. Lapisan tepat

diatasnya (1 % dari volume darah) yang berwarna putih atau kelabu disebut *buffy coat* yang terdiri atas leukosit. Pemisahan ini terjadi karena leukosit tidak sepadat eritrosit (Junquiera, 1995).

#### 2.2.4. Indeks sel darah

Indeks sel darah terdiri dari MCV (*Mean Corpuscular Volume*), MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobin*) dan MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*), indeks ini berfungsi untuk mengetahui jenis anemia dan dugaan abnormalitas yang mendasari suatu anemia. MCV menyatakan volume rerata eritrosit, nilainya dipengaruhi nilai PCV (*Packed Cell Volume*) dan jumlah eritrosit, satuan MCV adalah fl (femtoliter). MCV pada manusia normal adalah 80-95 fl, dan disebut normositer. Sedangkan MCV kurang dari batas normal disebut mikrositer dan yang lebih dari batas normal disebut makrositer. MCH menyatakan kadar rerata hemoglobin yang nilainya dipengaruhi kadar hemoglobin dan eritrosit, satuannya pg (pikogram). MCH normal berkisar antara 27-34 pg dan disebut hiperkrom. Sedangkan MCH yang kurang dari batas normal disebut hipokrom. MCHC menunjukkan kadar hemoglobin rerata dalam satu eritrosit dan merupakan perbandingan kadar hemoglobin dan PCV dalam bentuk persen. MCHC normal berkisar antara 30-35 g/dl disebut normokrom dan yang kurang dari normal disebut hipokrom (Suripto, 1998 ; Bijanti *et al.*,2002).

Tabel 2.1. Nilai normal indeks sel darah manusia (Suripto, 1998 ; Bijanti *et al.*,2002).

Indeks sel darah	Nilai normal
MCV (fl)	80-95
MCH (pg)	27-34
MCHC (g/dl)	30-35

### 2.2.5. Anemia

Menurut Price dan Wilson (1984) anemia adalah pengurangan jumlah sel darah merah, kuantitas hemoglobin dan volume padat sel darah merah (hematokrit) kurang dari normal. Anemia bukan suatu diagnosis penyakit melainkan pencerminan dari dasar perubahan patofisiologis yang diuraikan pemeriksaan fisik dan kepastian laboratorium. Pada anemia, karena semua sistem organ dapat terlibat, maka menimbulkan gejala klinis yang luas. Gejala klinis ini tergantung pada kecepatan timbulnya anemia, umur individu, mekanisme kompensasinya, tingkat aktivitasnya, keadaan penyakit yang mendasari dan parahnya anemia tersebut. Anemia dapat disebabkan karena kehilangan darah yang berlebihan, gangguan pembentukan eritrosit, gangguan sintesis hemoglobin, defisiensi nutrisi dan peningkatan perusakan eritrosit (Guyton dan Hall, 1997).

Kehilangan darah yang berlebihan bergantung kepada lokasi perdarahan (eksternal dan internal) dan lama perdarahan. Perdarahan eksternal akan menyebabkan penurunan jumlah eritrosit dan protein plasma. Perdarahan internal dapat terjadi karena trauma parasit (cacing, coccidian), perdarahan *intra gastrointestinal* dan perdarahan *urogenital*, anemia yang disebabkan oleh keadaan ini disebut *normocytic anemia* dimana nilai MCHC serta MCV normal (Bijanti, 2002).

Suatu keadaan dimana sumsum tulang digantikan oleh jaringan lemak merupakan gangguan pembentukan eritrosit. Gangguan sintesis hemoglobin terjadi karena defisiensi Fe. Oleh karena Fe merupakan bagian dari molekul hemoglobin maka dengan berkurangnya Fe, sintesa hemoglobin berkurang dan

akhirnya kadar hemoglobin akan menurun. Hasil pemeriksaan laboratorium menunjukkan kadar hemoglobin menurun dibanding produksi eritrosit (hipokrom), eritrosit yang dihasilkan berukuran lebih kecil (mikrositer), nilai MCH, MCHC dan PCV turun (Child, 1990). Anemia dengan gejala tersebut diatas dinamakan *microcytic/hipochromic anemia* (Uthman, 2005). Defisiensi nutrisi antara lain kekurangan asam folat dan vitamin B<sub>12</sub> di dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya *macrocytic anemia*. Hasil laboratorium menunjukkan nilai MCV meningkat, sedangkan nilai MCHC dalam darah normal (Bob, 2005 ; Uthman, 2005).

Peningkatan penghancuran eritrosit adalah keadaan dimana masa hidup eritrosit memendek. Penyebab perpendekan masa hidup eritrosit ini akibat bahan kimia atau obat-obatan serta reaksi imunitas tubuh yang menganggap eritrosit sebagai benda asing. Keadaan ini menurunkan nilai MCH dan meningkatkan nilai MCHC (Child, 1990; Samsudin, 1995; Hadi, 2001).

### 2.3. Tinjauan tentang Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Menurut Armitage (2006) tikus putih diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih merupakan salah satu hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian untuk menemukan pengobatan suatu penyakit dan juga untuk mengetahui efek suatu bahan tertentu pada tubuh Mammalia. Hewan ini dapat mencapai panjang tubuh 400 mm dengan berat 500 gram saat dewasa (Armitage, 2006).

Volume darah yang dimiliki oleh tikus putih berkisar 5-7 ml/100 gramBB. Jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, nilai MCH, MCHC serta komponen darah lain tikus putih yang sering digunakan sebagai parameter dalam suatu pemeriksaan sampel darah seringkali berbeda bergantung pada jenis strain, umur, jenis kelamin dan juga kondisi kesehatan. Eritrosit tikus putih berbentuk bikonkaf dengan diameter 6, 2  $\mu\text{m}$ , dan berumur rata-rata 45-68 hari. Jumlah normal eritrosit pada tikus putih sebesar 7,2-9,6 juta/ $\mu\text{l}$ , nilai PCV atau hematokrit berkisar 39-54%, nilai MCH berkisar 17-25 pg



sedangkan nilai MCHC berkisar 29-35% (Feldman, 2000 ; Partosoewignjo, 2000).



## BAB III

### METODE PENELITIAN

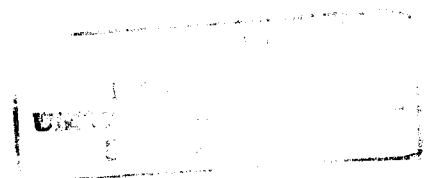
#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan di rumah hewan coba Jurusan Biologi, FMIPA UNAIR, Surabaya. Penghitungan kadar hemoglobin, jumlah eritrosit dan nilai PCV dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya di jalan Karang Menjangan Surabaya. Penelitian dan penghitungan nilai MCH dan MCHC dilakukan di Laboratorium Biologi Reproduksi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini berlangsung pada bulan September 2005 – April 2006.

#### 3.2. Bahan dan Alat Penelitian

##### 3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah : hewan coba tikus putih jantan sebanyak 32 ekor berumur 14-16 minggu, dengan berat badan 120-150 gram yang diperoleh dari bagian pemeliharaan hewan Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya, pakan tikus putih berupa pellet Hi-Pro-Vite Medicated 594 dan air minum dari PDAM, EDTA cair, larutan 2-Methoxyethanol (ME) murni, kloroform, larutan fisiologis, alkohol 70%, aquades, larutan drabkins, larutan hayem.



### 3.2.2. Alat penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : *disposable syringe* 1 ml, *dissecting set*, bak bedah, hemositometer "*Improved Neubauer*", *hand counter*, botol vial, jarum suntik, mikroskop, mikropipet, pipet mikrohematokrit, sentrifuge, kapas, kertas label, timbangan, bak plastik, botol minuman.

### 3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL).

#### 3.3.1. Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. variabel terikat (*dependent variable*), yaitu kadar hemoglobin, nilai MHC dan MCHC darah tikus putih.
2. variabel bebas (*independent variable*), yaitu variasi lama waktu pemberian 2-ME.
3. variabel terkontrol, yaitu pakan, minum, umur, berat badan hewan coba dan teknik perlakuan.

## Cara Kerja

### Pembuatan larutan 2-ME

Penelitian ini menggunakan larutan 2-ME dengan dosis 200 mg/kg BB (Hayati *et al.*, 2004). Larutan 2-ME dibuat dengan melarutkan 2-ME murni ke dalam aquadest dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Berat jenis air} = 1,00$$

$$\text{Berat jenis 2-ME} = 0,96$$

$$\text{Berat jenis air} : \text{berat jenis 2-ME} = 1,00 : 0,96 = 1,04 \text{ ml}$$

Untuk per gram berat badan dengan dosis 200 mg/kg BB adalah :

$$200/1000 \times 1,04 \text{ cc} = 0,208 \text{ ml}$$

misal berat seekor tikus yang digunakan 150 gram maka :

$$150/1000 \times 0,208 \text{ cc} = 0,0312 \text{ ml}$$

volume yang disuntikkan pada seekor tikus sebesar 0,2 ml, maka aquadest yang diperlukan sebanyak 0,1688 ml.

### Pengelompokan hewan coba dan perlakuan

Hewan coba adalah tikus putih dipelihara dalam kandang berupa bak plastik, diberi minum air PDAM dan diberi pakan berupa pelet dikelompokkan menjadi 8 kelompok perlakuan yang terdiri atas kelompok kontrol dan kelompok yang diinjeksi 2-ME. Masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor hewan coba. Sebelum diberi perlakuan, dilakukan aklimasi terhadap hewan terlebih dahulu selama 2 minggu di dalam rumah hewan coba Jurusan Biologi FMIPA UNAIR Surabaya. Setelah itu semua hewan coba diberi perlakuan

sesuai dengan kelompok perlakuan. Perlakuan dengan memberikan suntikan larutan 2-ME secara subkutan.

**Tabel 3.1.** Tabel perlakuan hewan coba

Nama kelompok		Larutan garam fisiologis (ml)	Larutan 2-ME (mg/kg BB/hari)	Lama waktu pemberian (minggu)
kontrol	K <sub>1</sub>	1 x 0,2	-	1
	K <sub>2</sub>	3 x 0,2	-	1
	K <sub>3</sub>	6 x 0,2	-	1
	K <sub>4</sub>	12 x 0,2	-	2
perlakuan	P <sub>1</sub>	-	1 x 200	1
	P <sub>2</sub>	-	3 x 200	1
	P <sub>3</sub>	-	6 x 200	1
	P <sub>4</sub>	-	12 x 200	2

### Pengambilan darah

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *intra cordia* pada ventrikel kiri dengan menggunakan jarum suntik. Darah yang diambil sebanyak 1 ml, sampel darah dimasukkan ke dalam botol vial yang telah diberi EDTA sebanyak 10 $\mu$ l, kemudian dilakukan penghitungan kadar Hb, jumlah eritrosit, nilai PCV, MCH dan MCHC.

#### 3.4.4. Pengukuran kadar hemoglobin

Penetapan kadar hemoglobin dilakukan dengan metode cyanmethemoglobin, dengan cara sebagai berikut (Bijanti *et al.*, 2002) :

1. darah dalam botol vial dihisap kedalam pipet Hb sampai tepat tanda 20 cmm/0.02 ml.
2. bagian luar dari pipet dibersihkan dengan sepotong kapas kering.
3. darah dimasukkan kedalam dasar dari tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan drabkins.



4. pipet dibilas beberapa kali dengan larutan drabkins tadi, kemudian untuk lebih mencampur dan oksigenasi pipet ditiup keras-keras pada dasar tabung.
5. larutan darah ini kemudian dipindahkan kedalam cuvette dari spektrofotometer dan optical density-nya dibaca dengan panjang gelombang 540 nm dan sebagai blankonya digunakan larutan drabkins.
6. pembacaan skala diubah menjadi g/dl/Hb dengan menggunakan rumus:

$$\text{Hb/100ml (g/dl)} : \frac{\text{pembacaan skala (OD/T) sampel}}{\text{pembacaan skala (OD/T) standar}} \times \text{g Hb standar}$$

### 3.4.5. Penghitungan eritrosit

Prinsip dari penghitungan eritrosit adalah mengencerkan darah dengan larutan Hayem kemudian dihitung di bawah mikroskop dengan menggunakan hemositometer “ *Improved Neubauer*”, cara kerjanya adalah sebagai berikut (Bijanti *et al.*,2002) :

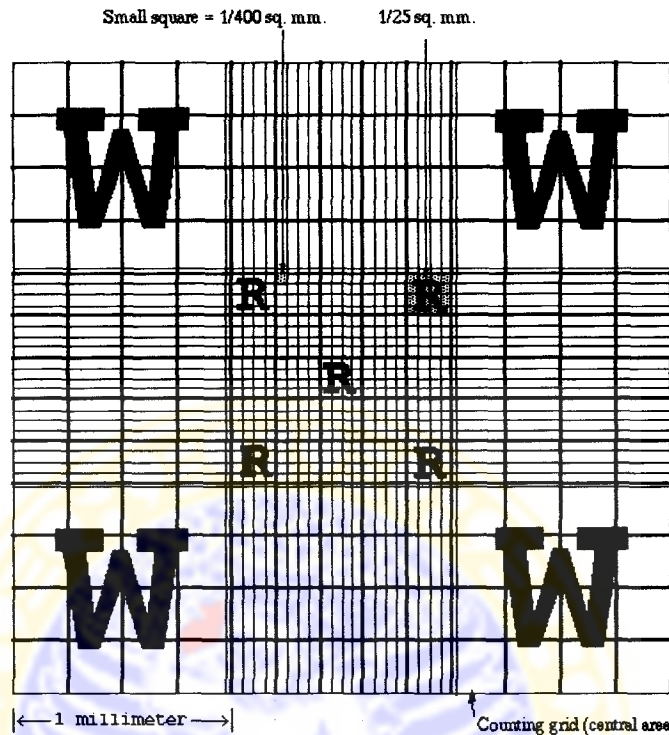
1. mengisi pipet eritrosit Thoma dengan cara menghisap sampel darah yang telah dilarutkan dalam antikoagulan EDTA sampai garis tanda 0,5 tepat, kelebihan darah pada ujung pipet dibersihkan.
2. pipet dipegang dengan sudut 45<sup>0</sup> dan larutan Hayem sebagai pengencer dihisap perlahan-lahan sampai garis tanda 101, sehingga pengenceran yang dilakukan adalah 200x, dilakukan dengan berhati-hati untuk menghindari adanya gelembung udara.
3. mengangkat pipet dari cairan, ujung pipet ditutup dengan jari dan karet penghisap dilepas. Pipet dikocok selam 15-30 detik dengan menutup

ujung pipet dengan ibu jari dan jari tengah, dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya.

4. membuang 3-4 tetes cairan yang ada dalam pipet kemudian menyentuhkan ujung pipet dengan sudut  $30^0$  pada permukaan hemositometer yang telah dibersihkan dan dipasang kaca penutup. Kamar hitung akan terisi cairan perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri dan dibiarkan selama 2 atau 3 menit supaya eritrosit mengendap.
5. mengatur fokus dengan lensa objektif kecil (10x), kemudian diganti dengan lensa objektif besar (40x) sampai garis-garis bagi kamar hitung terlihat jelas.
6. menghitung semua eritrosit yang berada dalam 5 kotak bujur sangkar yang ada di tengah yang masing-masing kotak terdiri atas 16 bujur sangkar yang lebih kecil. Sel dihitung mulai dari sudut kiri atas, kemudian ke kanan lalu turun ke bawah dan dari kanan ke kiri dan seterusnya. Sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas harus dihitung, sedangkan sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau garis bawah tidak boleh dihitung.
7. jumlah bujur sangkar kecil yang dihitung = 80 bujur sangkar
 

luas setiap bujur sangkar kecil	= $1/400 \text{ mm}^2$
tinggi kamar hitung	= $1/10 \text{ mm}$
volume setiap bujur sangkar kecil	= $1/4000 \text{ mm}^3$
pengenceran	= 200 kali

$$\begin{aligned} \text{jumlah eritrosit yang dihitung} &= E \\ \text{maka jumlah eritrosit per mm}^3 &= E/80 \times 4000 \times 200 \end{aligned}$$



Gambar 3.1. Bilik hitung *Improved Neubauer*. R adalah bilik hitung yang digunakan untuk menghitung eritrosit sedangkan W adalah bilik hitung yang digunakan untuk menghitung leukosit (Fankhauser, 2003).

#### 3.4.6 Penghitungan PCV (Packed Cell Volume) (Wirawan *et al.*, 1996) :

1. penetapan nilai PCV dilakukan dengan metode mikrohematokrit.
2. menutup salah satu ujung dengan bahan penutup khusus.
3. memasukkan tabung kapiler ke dalam sentrifuge khusus yang mempunyai kecepatan besar, yaitu lebih dari 16.000 rpm (sentrifuge mikrohematokrit), selama 3-5 menit.
4. membaca nilai PCV dengan menggunakan mikrohematokrit reader.

**3.4.7. Penghitungan nilai MCH (*Mean Corpuscular Hemoglobine*)**

$$\text{MCH} = \frac{\text{Hb}(g / dl) \times 10}{\sum \text{eritrosit dlm juta}} \text{ pg (pikogram)}$$

**3.4.8. Penghitungan nilai MCHC (*Mean Corpuscular Hemoglobine Concentration*)**

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hb}(g / dl) \times 100}{\text{PCV}(\%)} \%$$

**Analisis Data**

Data yang diperoleh dalam penelitian ini diuji menggunakan uji t, analisis varians (ANOVA) satu arah untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME terhadap kadar hemoglobin, nilai MCH dan MCHC. Sedangkan uji BNT (beda nyata terkecil) digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil

#### 4.1.1. Pengukuran dan Analisis Data 2-ME terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Putih

Hasil pengukuran kadar hemoglobin tikus putih dengan menggunakan metode cyanmethemoglobin menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

**Tabel 4.1.** Rata-rata kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok penelitian	Kadar hemoglobin (g/dl)
K <sub>1</sub>	12,25 ± 0,006
K <sub>2</sub>	12,05 ± 0,010
K <sub>3</sub>	12,25 ± 0,100
K <sub>4</sub>	12,25 ± 0,192
P <sub>1</sub>	11,65 ± 0,252
P <sub>2</sub>	11,23 ± 0,206
P <sub>3</sub>	10,63 ± 0,568
P <sub>4</sub>	10,45 ± 0,342

Keterangan : K<sub>1</sub>-K<sub>4</sub> = kelompok kontrol  
P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub> = kelompok perlakuan berdasarkan lama waktu pemberian 2-ME

Pemberian 2-ME pada kelompok perlakuan P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub> menyebabkan terjadinya penurunan kadar hemoglobin yang semakin menurun pada kelompok perlakuan yang semakin lama diberi larutan 2-ME. Untuk menganalisis pengaruh lama waktu pemberian 2-ME digunakan Analisis Variansi Satu Arah (ANAVA) sehingga diketahui perbedaan nilai rata-rata antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 3 dan 4.



**Tabel 4.2.** Rangkuman hasil ANAVA satu arah terhadap kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian 2-ME.

parameter		sumber	Jumlah kuadrat	Derajat bebas (df)	Kuadrat rata-rata	F	Sig
hemoglobin	kontrol	Antar kelompok	0,120	3	0,0040	2,667	0,095
		Dalam kelompok	0,180	12	0,0015		
		total	0,300	15			
	perlakuan	Antar kelompok	3,663	3	1,221	8,960	0,002
		Dalam kelompok	1,635	12	0,126		
		total	5,298	15			

Hasil uji ANAVA pada kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi kurang dari 0,05 sehingga hipotesis yang menyatakan bahwa pemberian 2-ME tidak mempengaruhi kadar hemoglobin tikus putih ( $H_{01}$ ) ditolak. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 4.

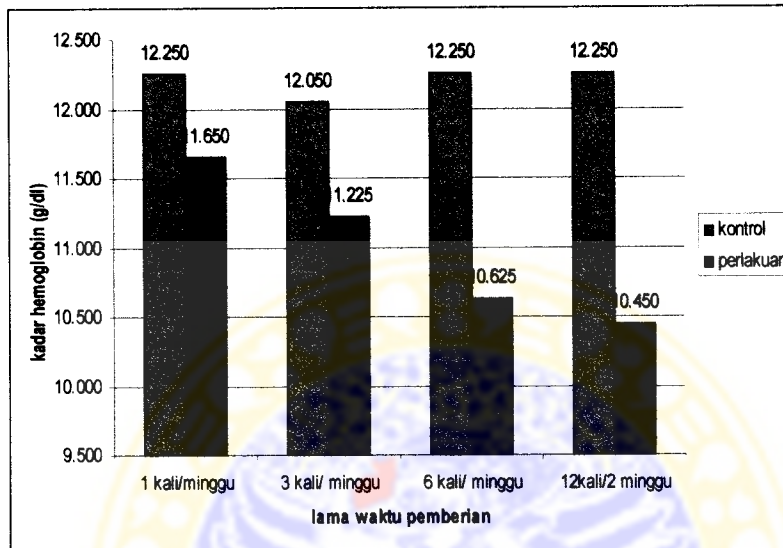
**Tabel 4.3.** Hasil rangkuman uji BNT terhadap kadar hemoglobin dengan lama waktu pemberian 2-ME pada kelompok perlakuan.

Mean difference	P1	P2	P3	P4
P1		0,4250	1,0250*	1,2000*
P2	-0,4250		0,6000*	0,7750*
P3	-1,0250*	-0,6000*		0,1750
P4	-1,2000*	-0,7750*	-0,1750	

Keterangan : \* = Signifikan

Berdasarkan uji BNT didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok, kecuali pada P<sub>1</sub> dengan P<sub>2</sub>, dan P<sub>3</sub> dengan P<sub>4</sub> tidak menunjukkan adanya signifikansi perbedaan.

Antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan kadar hemoglobin, pada masing-masing kelompok perlakuan kadar hemoglobinya menurun apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Gambaran secara jelas dapat dilihat pada gambar 4.1.



**Gambar 4.1.** Diagram kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama waktu pemberian 2-ME.

Uji t dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang memiliki kadar hemoglobin yang berbeda. Rangkuman hasil uji t antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.4 (lampiran 9).

**Tabel 4.4.** Rangkuman hasil uji t terhadap kadar hemoglobin dengan lama waktu pemberian 2-ME antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan

Pasangan perlakuan	Nilai signifikansi
K <sub>1</sub> -P <sub>1</sub>	0,004*
K <sub>2</sub> -P <sub>2</sub>	0,000*
K <sub>3</sub> -P <sub>3</sub>	0,001*
K <sub>4</sub> -P <sub>4</sub>	0,000*

Keterangan : \* = signifikan

Pasangan kelompok kontrol ( $K_1$ ) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 1 kali/minggu ( $P_1$ ), pasangan kelompok kontrol ( $K_2$ ) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 3 kali/minggu ( $P_2$ ), pasangan kelompok kontrol ( $K_3$ ) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 6 kali/minggu hari ( $P_3$ ) dan pasangan kelompok kontrol ( $K_4$ ) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 12 kali/2 minggu hari ( $P_4$ ) memiliki nilai  $\alpha$  yang lebih kecil daripada 0,05 yang berarti terdapat perbedaan pada keempat pasangan tersebut. Hal ini juga menunjukkan penurunan kadar hemoglobin setelah pemberian 2-ME selama 1 kali/minggu, 3 kali/minggu, 6 kali/minggu dan 12 kali/2 minggu signifikan sehingga  $H_0$  ditolak.

#### 4.1.2. Hasil Penghitungan Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH) Tikus Putih

Hasil penghitungan nilai MCH tikus putih menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

**Tabel 4.5.** Rata-rata nilai MCH kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok penelitian	Nilai MCH (pg)
$K_1$	$16,44 \pm 0,942$
$K_2$	$16,98 \pm 0,302$
$K_3$	$16,58 \pm 1,083$
$K_4$	$16,42 \pm 0,292$
$P_1$	$16,31 \pm 1,009$
$P_2$	$20,31 \pm 0,809$
$P_3$	$22,53 \pm 1,628$
$P_4$	$26,26 \pm 1,486$

Keterangan :  $K_1$ - $K_4$  = kelompok kontrol

$P_1$ - $P_4$  = kelompok perlakuan berdasarkan lama waktu pemberian 2-ME

Pemberian 2-ME pada kelompok perlakuan  $P_1$ - $P_4$  menyebabkan terjadinya peningkatan nilai MCH yang semakin meningkat pada kelompok

perlakuan yang semakin lama diberi larutan 2-ME. Untuk menganalisa pengaruh lama waktu pemberian 2-ME terhadap nilai MCH digunakan uji ANAVA satu arah sehingga diketahui perbedaan nilai rata-rata antar kelompok dan dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda.

**Tabel 4.6.** Rangkuman hasil ANAVA satu arah terhadap nilai MCH kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian 2-ME.

parameter		sumber	Jumlah kuadrat	Derajat bebas (df)	Kuadrat rata-rata	F	Sig
Nilai MCH	kontrol	Antar kelompok	1,096	3	0,365	0,654	0,596
		Dalam kelompok	6,705	12	0,559		
		total	7,801	15			
	perlakuan	Antar kelompok	118,322	3	39,441	24,149	0,000
		Dalam kelompok	19,598	12	1,633		
		total	137,921	15			

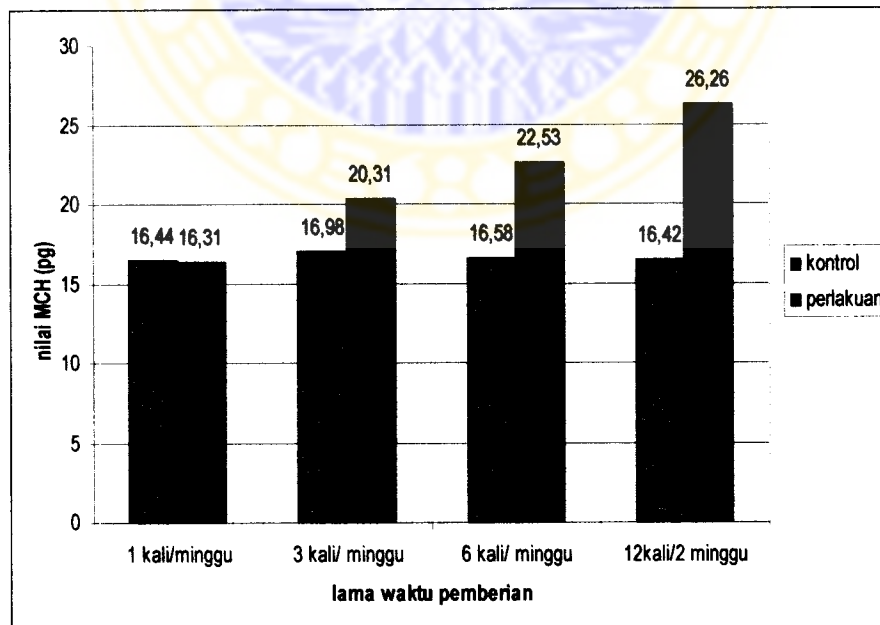
Hasil uji ANAVA (lampiran 5) terhadap nilai MCH kelompok kontrol dengan lama waktu pemberian 2-ME menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hal ini ditandai dengan adanya nilai  $\alpha$  yang lebih besar daripada 0,05 sehingga  $H_0$  diterima dan berarti tidak ada perbedaan diantara kelompok kontrol sedangkan hasil uji ANAVA satu arah terhadap nilai MCH kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian 2-ME menunjukkan hasil yang signifikan. Hal ini ditandai dengan nilai  $\alpha$  yang kurang dari 0,05 sehingga hipotesis yang menyatakan bahwa pemberian 2-ME tidak mempengaruhi nilai MCH tikus putih ( $H_{02}$ ) ditolak.

**Tabel 4.7.** Hasil rangkuman uji BNT terhadap nilai MCH dengan lama waktu pemberian 2-ME pada kelompok perlakuan.

Mean difference	P1	P2	P3	P4
P1		-4,0025*	-6,2850*	-6,9575*
P2	4,0025*		-2,2825*	-2,9550*
P3	6,2850*	2,2825*		-0,6725
P4	6,9575*	2,9550*	0,6725	

Keterangan : \* = Signifikan

Pada hasil uji BNT didapatkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, kecuali pada P<sub>3</sub> dengan P<sub>4</sub>. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 6. Hasil penghitungan nilai MCH antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan. Secara keseluruhan pada kelompok perlakuan nilai MCH lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, seperti yang terlihat pada gambar 4.2.



**Gambar 4.2.** Diagram nilai MCH kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama waktu pemberian 2-ME.



Uji t dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nilai MCH yang signifikan. Rangkuman hasil uji t antara kelompok perlakuan dan kelompok perlakuan (lampiran 10) dapat dilihat pada tabel 4.8.

**Tabel 4.8.** Rangkuman hasil uji t terhadap nilai MCH dengan lama waktu pemberian 2-ME antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan

Pasangan perlakuan	Nilai signifikansi
K <sub>1</sub> -P <sub>1</sub>	0,807
K <sub>2</sub> -P <sub>2</sub>	0,663
K <sub>3</sub> -P <sub>3</sub>	0,000*
K <sub>4</sub> -P <sub>4</sub>	0,116

Keterangan : \* = signifikan

Pasangan kelompok kontrol (K<sub>1</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 1 kali/minggu (P<sub>1</sub>), memiliki nilai  $\alpha$  lebih besar daripada 0,05. Hal ini juga terjadi pada pasangan kelompok kontrol (K<sub>2</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 3 kali/minggu (P<sub>2</sub>) dan pasangan kelompok kontrol (K<sub>4</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 12 kali/2 minggu (P<sub>4</sub>) namun pasangan kelompok kontrol (K<sub>3</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 6 kali/minggu (P<sub>3</sub>) memiliki nilai  $\alpha$  kurang daripada 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa kenaikan nilai MCH signifikan pada pemberian 2-ME selama 6 kali/minggu.

#### 4.1.3. Hasil Penghitungan Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC) Tikus Putih

Hasil penghitungan nilai MCHC tikus putih menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

**Tabel 4.9.** Rata-rata nilai MCHC kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok kontrol	Nilai MCHC (g/dl)
K <sub>1</sub>	35,63 ± 2,532
K <sub>2</sub>	36,04 ± 1,866
K <sub>3</sub>	37,00 ± 3,050
K <sub>4</sub>	35,41 ± 3,050
P <sub>1</sub>	35,30 ± 0,763
P <sub>2</sub>	35,23 ± 3,016
P <sub>3</sub>	33,17 ± 3,912
P <sub>4</sub>	33,48 ± 1,976

Keterangan : K<sub>1</sub>-K<sub>4</sub> = kelompok kontrol

P<sub>1</sub>-P<sub>4</sub> = kelompok perlakuan berdasarkan lama waktu pemberian 2-ME

Hasil penghitungan nilai MCHC menunjukkan adanya perbedaan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian yang berbeda, kelompok perlakuan yang diberi larutan 2-ME memiliki nilai MCHC yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol.

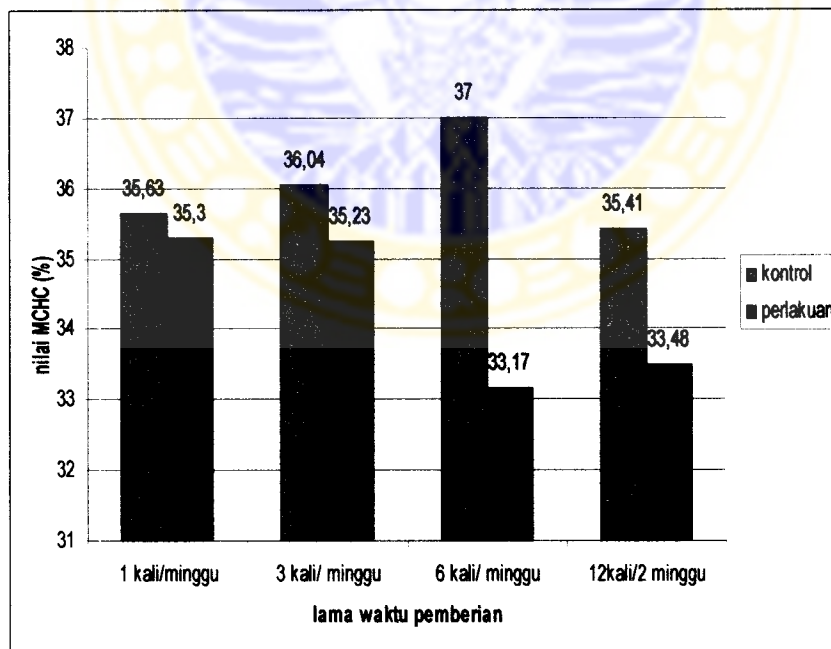
Untuk menganalisa pengaruh lama waktu pemberian 2-ME terhadap nilai MCHC pada kelompok kontrol digunakan uji ANAVA satu arah sehingga diketahui perbedaan nilai rata-rata antar kelompok dan dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda.

**Tabel 4.10.** Rangkuman hasil ANAVA satu arah terhadap nilai MCHC kelompok kontrol dengan lama waktu pemberian 2-ME.

parameter		sumber	Jumlah kuadrat	Derajat bebas (df)	Kuadrat rata-rata	F	Sig
Nilai MCHC	kontrol	Antar kelompok	5,932	3	1,977	0,275	0,842
		Dalam kelompok	86,235	12	7,186		
		total	92,167	15			
	perlakuan	Antar kelompok	1,096	3	0,365	0,654	0,596
		Dalam kelompok	6,705	12	0,559		
		total	7,801	15			

Hasil uji ANAVA satu arah terhadap nilai MCHC pada kelompok kontrol menunjukkan hasil yang tidak signifikan yang ditandai dengan  $\alpha$  yang lebih besar daripada 0,05. Hal ini menunjukkan  $H_0$  diterima dan berarti tidak ada perbedaan diantara kelompok perlakuan. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 7. Hasil uji ANAVA satu arah terhadap nilai MCHC kelompok perlakuan dengan lama waktu pemberian larutan 2-ME menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hal ini ditandai dengan nilai  $\alpha$  yang lebih besar daripada 0,05 sehingga  $H_0$  diterima dan hal ini berarti tidak ada perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 8.

Hasil uji ANAVA baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan tidak signifikan sehingga tidak dapat dilanjutkan dengan uji BNT. Gambaran secara jelas perbandingan nilai MCHC kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.3.



**Gambar 4.3.** Diagram nilai MCHC kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap lama waktu pemberian 2-ME.

Uji t dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nilai MCHC yang signifikan. Rangkuman hasil uji t antara kelompok perlakuan dan kelompok perlakuan (lampiran 11) dapat dilihat pada tabel 4.11.

**Tabel 4.11.** Rangkuman hasil uji t terhadap nilai MCHC dengan lama waktu pemberian 2-ME antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan

Pasangan perlakuan	Nilai signifikansi
K <sub>1</sub> -P <sub>1</sub>	0,393
K <sub>2</sub> -P <sub>2</sub>	0,000*
K <sub>3</sub> -P <sub>3</sub>	0,001*
K <sub>4</sub> -P <sub>4</sub>	0,000*

Keterangan : \* = signifikan

Pasangan kelompok kontrol (K<sub>1</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 1 kali/minggu (P<sub>1</sub>) memiliki nilai  $\alpha$  lebih daripada 0,05. Hal ini berarti tidak ada perbedaan diantara pasangan kelompok tersebut. Hal ini juga menunjukkan bahwa pemberian 2-ME selama 1 kali/minggu ternyata belum signifikan.

Pasangan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang berbeda adalah pasangan kelompok kontrol (K<sub>2</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 3 kali/minggu (P<sub>2</sub>), pasangan kelompok kontrol (K<sub>3</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 6 kali/minggu (P<sub>3</sub>) dan pasangan kelompok kontrol (K<sub>4</sub>) dengan kelompok perlakuan yang diberi 2-ME selama 12 kali/2 minggu (P<sub>4</sub>).

## 4.2. Pembahasan

### 4.2.1. Kadar Hemoglobin

Pada kelompok perlakuan yang diinjeksi dengan 2-ME berdasarkan lama waktu pemberian 1 kali/minggu, 3 kali/minggu, 6 kali/minggu dan 12 hari/2 minggu, menunjukkan penurunan yang signifikan pada kadar hemoglobin dibandingkan dengan masing-masing kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan ( $P_1$ - $P_4$ ) kadar hemoglobin antara 10,45-11,65 g/dl, sedangkan pada kelompok kontrol ( $K_1$ - $K_4$ ) kadar hemoglobin antara 12,05-12,25 g/dl. Kadar hemoglobin kelompok kontrol yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan sesuai dengan yang diharapkan karena kelompok kontrol merupakan kelompok yang diasumsikan sebagai kelompok yang memiliki kadar hemoglobin normal dan akan digunakan sebagai pembanding dengan kelompok perlakuan. Kadar hemoglobin antar kelompok perlakuan menunjukkan adanya penurunan yang signifikan setelah pemberian 2-ME mulai 6 kali/minggu.

Penurunan kadar hemoglobin mulai terjadi pada kelompok perlakuan 6 kali /minggu ( $P_3$ ) dikarenakan hasil metabolit 2-ME, yaitu MAA yang bersifat toksik di dalam tubuh dan dapat meningkatkan aktivitas enzim caspase 3. Caspase 3 merupakan enzim yang terdapat pada sel mamalia dan dijumpai pada eritrosit yang telah matur. Pada keadaan normal caspase 3 yang terdapat di eritrosit aktivitasnya muncul jika eritrosit tersebut telah berumur 120 hari dan segera dimusnahkan oleh makrofag. Namun, aktivitas enzim caspase 3 dapat meningkat jika dipacu oleh keadaan sel yang mengalami stres oksidatif, dan MAA merupakan bahan toksik yang dapat menimbulkan stres oksidatif.



Menurut Lunitasari (2004), senyawa 2-ME memicu terbentuknya oksidan atau radikal bebas karena proses oksidasi 2-ME dibantu oleh enzim alkohol dehidrogenase menyebabkan hilangnya 2 ion hidrogen dan memakai oksigen bebas yang lepas dari sistem dan menjadi radikal bebas yaitu superoksida sebagai akseptornya sehingga membentuk hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dengan bantuan enzim katalase dihasilkan dalam pembentukan asetaldehid dari metanol, selanjutnya MALD akan teroksidasi menjadi MAA dengan bantuan enzim aldehyd dehidrogenase dengan melepaskan hidrogen dan menambah oksigen. Keberadaan radikal bebas di dalam sel sebenarnya tidak mengganggu bila berada dalam jumlah yang mampu dikendalikan oleh sistem tubuh, tetapi adanya unsur maupun aktivitas yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas yang semakin banyak, menyebabkan sel mengalami stres oksidatif dan mengalami kerusakan maupun kematian. Dalam penelitian ini diduga radikal bebas yang dihasilkan dari proses oksidasi 2-ME mengakibatkan stres oksidatif pada eritrosit karena meningkatnya aktivitas enzim caspase di membran eritrosit.

Aktivitas caspase 3 yang meningkat merupakan proses yang mengawali terjadinya apoptosis karena caspase 3 sebagai mediator universal apoptosis. Apoptosis, yaitu suatu proses kematian sel secara fisiologis yang terjadi pada organisme multiselular yang bertujuan untuk menyeimbangkan antara proliferasi sel dan kematian sel. Peristiwa apoptosis ditandai dengan adanya kerusakan inti sel dan fragmentasi DNA pada sel yang memiliki inti sel. Menurut Takagi *et al* (2002) dan Mandal *et al* (2005) eritrosit merupakan sel yang tidak memiliki inti maka peristiwa apoptosis yang terjadi pada

eritrosit ditandai dengan hilangnya lipid bilayer pada sitoskeleton yang diikuti hilangnya integritas membran. Hal ini terjadi karena pada membran eritrosit terdapat dua protein integral membran yaitu *sialoglycoprotein* dan *glycophorin* selain itu terdapat pula *exchanger anion*, bernama *band-3* yang memiliki C-terminal dan N-terminal. N-terminal berikatan dengan protein perifer membran dan mengatur interaksi antara membran dengan jaringan skeletal *spectrin-based*. Menurut Mandal *et al* (2003), interaksi ini berfungsi sebagai sisi *anchoring* untuk membran yang berasosiasi dengan protein sitoskeleton ankirin, enzim *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GAPDH), *phosphofructokinase* dan aldolase serta untuk pembentukan hemoglobin. Interaksi ini merupakan elemen kunci yang mengatur struktur eritrosit dan fungsi sel yang meliputi fleksibilitas, metabolisme glukosa dan siklus hidup sel. Aktivitas caspase 3 menyebabkan proteolisis pada *band-3*, khususnya pada N-terminal sebagai sisi pemutusan. Akibatnya interaksi antara *band-3* dan lipid bilayer terganggu sehingga membran kehilangan integritasnya yang merupakan salah satu ciri rusaknya eritrosit.

Selain mempengaruhi peningkatan aktivitas enzim caspase 3, 2-ME juga mengakibatkan aktivitas enzim *acetyl cholinesterase* dan *delta-aminolevulinic acid dehydratase* (ALAD) pada eritrosit dan sumsum tulang belakang menurun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian (Johanson, 2000) yang menyatakan bahwa injeksi peritoneal 200mg/kg BB 2-ME selama tiga hari pada tikus mengakibatkan aktivitas enzim *acetyl cholinesterase* dan *delta-aminolevulinic acid dehydratase* (ALAD) pada eritrosit, darah dan sumsum tulang belakang menurun dan percobaan secara *in vitro* menunjukkan 0,5 mM

MAA menyebabkan peningkatan *osmotic fragility* eritrosit manusia, menghambat membran mengikat *acetyl cholinesterase* dan penurunan aktivitas ATPase. ALAD merupakan enzim yang terlibat dalam sintesis zat warna merah darah atau yang sering disebut dengan heme. ALAD mengkatalisis proses penambahan dua molekul *aminolevulinic acid* (ALA) untuk membentuk *monopyrrole porphobilinogen* (PGB) yang merupakan prekursor dari heme (Kelada *et al.*, 2001). Apabila enzim ini jumlahnya menurun, akibatnya heme yang akan berikatan dengan Fe membentuk hemoglobin jumlahnya juga menurun dan suplai oksigen ke jaringan juga akan berkurang (Habal, 2002).

Senyawa MAA juga bersifat toksik pada sumsum tulang belakang tempat pembentukan eritrosit. Menurut Takagi *et al* (2000), MAA mengakibatkan hiposelularitas sumsum tulang belakang atau penggantian sel sumsum tulang belakang dengan jaringan lemak.

Kelainan darah akibat 2-ME yang pernah dilaporkan antara lain *leukopenia*, *lymphocytosis*, *pancytopenia* dan penekanan sumsum tulang belakang (Shih *et al.*, 2000). Penelitian lanjutan menyebutkan bahwa frekuensi anemia yang terjadi pada pekerja yang terpapar 2-ME ternyata 42 % lebih tinggi daripada pekerja yang tidak terpapar senyawa tersebut. Anemia yang terjadi diduga disebabkan karena 2-ME bersifat racun pada sumsum tulang belakang daripada disebabkan karena hemolisis (Shih *et al.*, 2003). Efek yang pernah dilaporkan baik pada kelinci betina maupun kelinci jantan yang terpapar 2-ME dosis 300 ppm mengalami penurunan berat badan, *pancytopenia*, atropi jaringan lymphoid (timus), dan penurunan yang

signifikan terhadap berat testis pada jantan, sedangkan pada tikus betina maupun tikus jantan yang terpapar 2-ME dengan dosis yang sama mengalami pancytopenia dan penurunan berat hepar (Miller *et al.*, 1983).

Senyawa 2-ME dapat mengganggu sistem peredaran darah, antara lain menurunkan jumlah eritrosit dengan menyerang sumsum tulang belakang sebagai tempat eritropoiesis maupun menyerang eritrosit yang beredar dalam sistem peredaran darah sehingga menyebabkan menurunnya kadar hemoglobin (Johanson, 2000; Shih *et al.*, 2003). Lama waktu perlakuan dalam penelitian ini merupakan lama waktu perlakuan jangka pendek, sehingga diduga penurunan kadar hemoglobin disebabkan karena 2-ME menyerang eritrosit yang beredar dalam sistem peredaran darah. Kerusakan eritrosit yang disebabkan oleh pemberian 2-ME diduga mengakibatkan terjadinya *microcytic anemia* dengan dugaan menurunnya kadar hemoglobin disebabkan oleh menurunnya enzim ALAD sebagai enzim yang menghasilkan heme dan PGB sebagai prekursor heme dalam mengikat Fe membentuk hemoglobin (Kelada *et al.*, 2001; Habal, 2002; Hoffbrand *et al.*, 2002).

#### **4.2.2. Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin* (MCH)**

Nilai MCH adalah nilai menyatakan kadar rata-rata hemoglobin. Nilai ini merupakan perbandingan kadar hemoglobin dengan jumlah eritrosit yang dinyatakan dalam pikogram (pg). Pada kelompok kontrol yang dianggap memiliki nilai MCH normal antara 17-25 pg ternyata memiliki nilai MCH antara 16,49-16,98 pg, sedangkan pada kelompok perlakuan memiliki nilai MCH antara 16,31- 26,26 pg. Hasil uji ANAVA pada kelompok kontrol



menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hal ini sesuai yang diharapkan, karena kelompok kontrol digunakan sebagai pembandingan pada kelompok perlakuan. Sedangkan hasil uji ANAVA pada kelompok perlakuan yang diberi 2-ME mulai 3 kali/minggu (P<sub>2</sub>-P<sub>4</sub>) menunjukkan hasil yang signifikan, hal ini menunjukkan bahwa senyawa 2-ME mampu meningkatkan nilai MCH tikus putih. Peningkatan ini terjadi karena kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada kelompok perlakuan mengalami penurunan. Penurunan jumlah eritrosit lebih tinggi dibandingkan dengan penurunan yang terjadi kadar hemoglobin, sehingga menyebabkan peningkatan nilai MCH. Hal ini sesuai dengan penelitian Sulistyawati (2006) yang menyatakan bahwa pemberian 2-ME dengan dosis 200mg/kgBB secara subkutan selama 3 kali/minggu berpengaruh terhadap penurunan jumlah eritrosit tikus putih. Hal ini didukung penelitian Shih *et al* (2000) yang menyatakan bahwa para pekerja industri yang terpapar 2-ME mengalami peningkatan nilai MCH dibandingkan pekerja yang tidak terpapar.

Senyawa MAA sebagai metabolit 2-ME yang bersifat toksik pada sumsum tulang belakang tempat pembentukan eritrosit dapat mengakibatkan hiposelularitas sumsum tulang belakang atau penggantian sel sumsum tulang belakang dengan jaringan lemak. Menurut Takagi *et al* (2000) senyawa MAA 3,9 mM dapat menghambat pembentukan 50 % jumlah sel progenitor myeloid dan erythroid *Colony Forming Unit* (CFU) yang nantinya menjadi eritrosit matur, sehingga terjadinya penurunan kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada kelompok perlakuan mempengaruhi nilai MCH yaitu nilai MCH yang semakin meningkat pada kelompok perlakuan yang semakin lama diberi



larutan 2-ME. Lama waktu perlakuan dalam penelitian ini merupakan lama waktu perlakuan jangka pendek, sehingga diduga kenaikan nilai MCH disebabkan 2-ME menyerang eritrosit yang beredar dalam sistem peredaran darah. Hal ini disebabkan 2-ME yang disuntikkan akan ikut beredar dalam sistem peredaran darah dan dapat langsung menyerang eritrosit yang ada dalam peredaran tersebut. Kerusakan eritrosit disertai menurunnya kadar hemoglobin yang disebabkan oleh pemberian 2-ME diduga mengakibatkan terjadinya *microcytic anemia* dengan dugaan kerusakan eritrosit terjadi disebabkan oleh meningkatnya enzim caspase 3 yang berperan dalam peristiwa apoptosis, karena rusaknya eritrosit maka akan segera dimusnahkan dari sistem peredaran darah. Anemia jenis *microcytic anemia* memiliki ciri-ciri adanya penurunan kadar hemoglobin, meningkatnya nilai MCH disertai dengan penurunan nilai MCHC (Uthman, 2005). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa pemberian 2-ME menurunkan kadar hemoglobin dan nilai MCHC serta meningkatkan nilai MCH.

#### **4.2.3. Nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* (MCHC)**

Nilai MCHC merupakan nilai yang menyatakan rata-rata kadar hemoglobin dalam satu sel eritrosit. Nilai ini menunjukkan perbandingan kadar hemoglobin dan PCV dalam bentuk persen. Pada kelompok kontrol yang diharapkan memiliki nilai MCHC normal sebesar 29-35 % ternyata memiliki nilai MCHC sebesar 35,41-37 %, hal ini sesuai yang diharapkan. Pada kelompok perlakuan memiliki nilai MCHC sebesar 33,17-35,30 % yang ternyata nilai MCHC tersebut mengalami penurunan dibandingkan dengan

kelompok kontrol, namun hasil uji ANAVA baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian Shih *et al* (2000) yang menyatakan bahwa para pekerja industri khususnya pria yang terpapar 2-ME mengalami penurunan nilai MCHC dibandingkan dengan pekerja yang tidak terpapar 2-ME, namun secara hasil uji statistik tidak signifikan dan didukung Sulistyawati (2006) yang menyatakan pemberian 2-ME dengan dosis 200mg/kg BB secara subkutan tidak berpengaruh terhadap nilai PCV. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian senyawa 2-ME dengan dosis 200mg/kg BB belum memberikan perbedaan nilai yang nyata terhadap nilai MCHC tikus putih. Lama waktu perlakuan dalam penelitian ini merupakan lama waktu perlakuan jangka pendek, sehingga diduga penurunan nilai MCHC disebabkan 2-ME menyerang eritrosit yang beredar dalam sistem peredaran darah. Kerusakan eritrosit yang disertai dengan menurunnya kadar hemoglobin serta nilai PCV yang disebabkan oleh pemberian 2-ME diduga mengakibatkan terjadinya *microcytic anemia* dengan dugaan kerusakan eritrosit terjadi disebabkan oleh meningkatnya enzim caspase 3 yang berperan dalam peristiwa apoptosis, rusaknya eritrosit yang disertai dengan menurunnya kadar hemoglobin serta nilai PCV maka eritrosit akan segera dimusnahkan dari sistem peredaran darah. Anemia jenis *microcytic anemia* memiliki ciri-ciri adanya penurunan kadar hemoglobin, nilai PCV, nilai MCHC disertai dengan meningkatnya nilai MCH (Uthman, 2005). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian bahwa pemberian 2-ME menurunkan kadar hemoglobin dan MCHC serta meningkatkan nilai MCH.

## BAB V

### KESIMPULAN dan SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Lama waktu pemberian 2-methoxyethanol pada tikus putih menurunkan kadar hemoglobin. Penurunan tersebut mulai terjadi pada perlakuan 6 kali/minggu.
2. Lama waktu pemberian 2-methoxyethanol pada tikus putih meningkatkan nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin*. Peningkatan tersebut mulai terjadi pada perlakuan 3 kali/minggu.
3. Senyawa 2-methoxyethanol pada tikus putih tidak memberikan pengaruh terhadap nilai *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*.

#### 5.2. Saran

Sifat senyawa 2-ME yang menjadi bahan toksik yaitu MAA di dalam tubuh yang dapat menurunkan kadar hemoglobin, nilai MCH dan MCHC yang merupakan salah satu indikasi anemia, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek toksik 2-ME terhadap komponen penyusun darah lainnya baik untuk jangka pendek maupun jangka panjang. Selain itu, para anggota masyarakat yang terbiasa kontak dengan senyawa 2-ME khususnya para pekerja industri yang berbahan baku senyawa tersebut hendaknya menggunakan alat-alat pelindung demi keselamatan kerja antara lain dengan sarung tangan, masker dan baju khusus untuk mengurangi kontak dengan senyawa 2-ME.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, 2003, **Ethylene Glycol Monomethyl Ether**, The Green Lane Environment, Canada.
- Armitage, D., *Rattus norvegicus*, University of Michigan, [http://animaldiversity.ummz.edu/accounts/information/Rattus norvegicus](http://animaldiversity.ummz.edu/accounts/information/Rattus_norvegicus), 21 Juli 2006.
- Bijanti, R., 2002, **Bahan Ajar Patologi Klinik Veteriner**, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Bijanti, R., Soepartono, P., Retno, S.W., dan Budi, U., 2002, **Penuntun Praktika Laboratorium Klinik Veteriner**, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Bob, 2005, **Laboratory Concepts In Critical Care**, Amerika.
- Child, J. A, 1990, **Segi Praktis Hematologi Klinik**, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Darmono, 1995, **Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup**, UI Press, Jakarta.
- Uthman, E, 2005. **Anemia : Pathophysiologic Consequences, Classification, and Clinical Investigation**, American Board of Pathology, Amerika.
- Fankhauser, D. B., 2003, **Hemacytometer and Diluting Pipet Practice**, University of Cincinnati Clermont College, Batavia OH.
- Guyton, C. A., John E. Hall, 1997, **Fisiologi Kedokteran Edisi 9**, Penerbit EGC, Jakarta.
- Feldman, Bernard, F., Zinkl, Joseph, G., Jain, dan Nemi, C., 2000, **Schalm's Veterinary Hematology Fifth Edition**, Lippincott Williams & Wilkins, USA.
- Habal, R, 2002, **Lead toxicity**, *A Medicine Journal 3 (1)*, Hal 1-5, United State Of America.
- Hadi, S., 2001, **Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Rutin Sederhana**, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Hoftbrand, A. V, J.E. Pettit, P. A. H. Moss, 2002, **Kapita Selekt Hematologi**, Alih Bahasa Lyana Darmawan, Edisi Empat, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

- Hayati, A., Yunaida, B., Pidada., Darmanto, W., dan Winarni, D., 2004, **Efek 2-methoxyethanol terhadap Struktur Histologi Testis mencit (*Mus musculus*)**, *Berkala Penelitian Hayati*, 10, Hal 7-11.
- Junquiera, L.C., Jose, C., dan Robert, O.K., 1995, **Histologi Dasar Edisi ke-8**, Penerbit EGC, Jakarta.
- Johanson, G., 2000, **Toxicity Review of Ethylene Glycol Monomethyl Ether and its Acetate Ester**, *Critical Reviews in Toxicology*, 30, Hal 307-345.
- Lunitasari, Y., 2004, **Kandungan Antioksidan Darah Pada Mencit (*Mus musculus*) Akibat Pemberian 2-Methoxyethanol dan Usaha Pencegahan dengan PSK (Polisakarida Krestin)**, *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga.
- Kelada, S.N., E. Shelton., R.B. Kaufman., and M. J. Khoury, 2001,  **$\delta$ -Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALAD) Genotype and Lead Toxicity**, *Huge Review Am J of Epidem*, 154(1), Hal 1-13.
- Mandal, D., B-C Veronique., Bhattacharyya. A., Pathak. S., Delaunay. J., Kundu. M., dan Basu. J, 2003, **Caspase 3-mediated Proteolysis of the N-terminal Cytoplasmic Domain of the Human Erythroid Anion Exchanger 1 (Band 3)**, *J. Biol.Chem, Vol. 278*, 52, Hal 52551-52558.
- Mandal, D., Arindam, M., Pradeep, D., Manikuntala, K., dan Joyoti, B., 2005, **Fas-, Caspase 8-, and Caspase 3-Dependent Signaling Regulates the Activity of the Aminophospholipid Translocase and Phosphatidylserine Externalization in Human Erythrocytes**, *Journal Biology Chemistry*, 280, Hal 39460-39467.
- Marieb, E.N., 2001, **Human Anatomy and Physiology**, Pearson Education, USA.
- Mehdi.J.K., F.J.M. Al-Imarah., and AL-Suhail. A.A, 2000, **Levels of Some Trace and Related Enzymes in Worker at Storage-Battery Factories in Iraq**, *Eastern Mediterranean Health Journal*, Volume 6, 1, Hal 66- 82.
- Miller, R.R., J.A.Ayres., J.T.Young and M.J McKenna, 1983, **Ethylene Glycol Monomethyl Ether I. Subchronic Vapor Inhalation Study with Rats and Rabbits**, *Fund.Appl.Toxicol*, Volume 3, Hal 49-54.
- Moslen, M.T., Lata, K., Hariharam, B., Young-Mey, Y and William, W.A., 1995, **Species Differences in Testicular and Hepatic Biotransformation of 2-Methoxyethanol**, *Journal of Toxicology*, Vol.96, Hal 217-224.



- Partosoewignjo, S., 2000, **Ringkasan Kuliah Hematologi Laboratorium**, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Price, S. A. dan Wilson, L.M, 1989. **Patologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit**, Alih Bahasa Dharma A, Edisi ke dua, Bagian pertama, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Ponka, P., 1997, **Tissue-Specific Regulation of Iron Metabolism and Heme Synthesis : Distinct Control Mechanism in Erythroid Cells**, *Blood Vol 89, No. 1*.
- Rumanta, M., Tien, W.S., dan Sri, S.S., 2001., Pengaruh Asam Metoksi Acetat Terhadap Organ Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster Jantan, **Prosiding Institut Teknologi Bandung**, Bandung.
- Shih, T-S., An-Tsz, H., Guo-Dong, L., Yeong-Hwang and Saous-Hsing, L., 2000, **Haematological and Spermatotoxic Effects of Ethylene Glycol Monomethyl Ether in Copper Clad Laminate Factories**, *Occupational Enviromental Medicine* 57, Hal 348-352.
- Shih, T.S., A-T Hsieh., Y-H Chen., G-D Liao., C-Y Chen., J-S Chou and S-H Liou, 2003, **Follow up Study of Haematological Effect in Workers Exposed 2-Methoxyethanol**, *Occupational Enviromental Medicine* 60, Hal130-135.
- Smith, J.B. dan Mangkoewidjojo, S, 1998. **Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan di Daerah Tropis**, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Sulistiyawati, Y., 2006, **Efek 2-Methoxyethanol Terhadap Jumlah Eritrosit dan Nilai Packed Cell Volume Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**, *Skripsi*, Jurusan Biologi Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Suripto, 1998, **Catatan Kuliah Fisiologi Hewan**, Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Takagi, A., Takayuki, Y., Koji H., Yuusuke, N., Tetsuhito, K., Junki, T., Eiji, S., Gaku, I., Yasuhiro, T., dan Takahashi, M., 2002, **Involvement of Caspase 3 Mediated Apoptosis in Hematopoietic Cytotoxicity of Metabolites of Ethylene Glycol Monomethyl Ether**, *Industrial Health* 40, Hal 371-374.
- Waterbury, Larry. 2001, **Buku Saku Hematologi**, Edisi ke tiga, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Wirawan, R., Rahayuningsih, S., Frans, S.S., Erwin, S., Tonny, L., dan Indika P., 1996, **Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana**, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Indonesia, Jakarta.



Lampiran 1. Data hasil penghitungan eritrosit dan PCV

Kelompok perlakuan	Replikasi	Jumlah eritrosit (juta/ $\mu$ l)	Nilai PCV (%)
K <sub>1</sub>	1	7,250	31
	2	7,335	35
	3	6,750	36
	4	7,650	36
	Rerata $\pm$ SD	7,246 $\pm$ 0,372	34,5 $\pm$ 2,380
K <sub>2</sub>	1	7,095	33
	2	7,105	32
	3	7,000	36
	4	7,230	33
	Rerata $\pm$ SD	7,108 $\pm$ 0,094	33,5 $\pm$ 1,732
K <sub>3</sub>	1	6,900	30
	2	7,400	35
	3	7,800	35
	4	7,300	33
	Rerata $\pm$ SD	7,350 $\pm$ 0,370	33,25 $\pm$ 2,362
K <sub>4</sub>	1	7,480	36
	2	7,455	36
	3	7,435	31
	4	7,340	36
	Rerata $\pm$ SD	7,428 $\pm$ 0,061	34,75 $\pm$ 2,5
P <sub>1</sub>	1	7,100	33
	2	6,895	33
	3	6,850	33
	4	7,400	33
	Rerata $\pm$ SD	7,061 $\pm$ 0,250	33 $\pm$ 0
P <sub>2</sub>	1	5,625	32
	2	5,425	34
	3	5,400	29
	4	5,675	33
	Rerata $\pm$ SD	5,531 $\pm$ 0,140	32 $\pm$ 2,160
P <sub>3</sub>	1	4,580	35
	2	5,240	34
	3	4,450	30
	4	4,595	30
	Rerata $\pm$ SD	4,716 $\pm$ 0,355	32,25 $\pm$ 2,630
P <sub>4</sub>	1	4,575	32
	2	4,600	32
	3	4,555	31
	4	4,265	30
	Rerata $\pm$ SD	4,498 $\pm$ 0,157	31,25 $\pm$ 0,957

Keterangan : K<sub>1</sub> = kelompok kontrol 1 kali/minggu, K<sub>2</sub> = kelompok kontrol 3 kali/minggu, K<sub>3</sub> = kelompok kontrol 6 hari/minggu, K<sub>4</sub> = kelompok kontrol 12 hari/2minggu, P<sub>1</sub> = kelompok perlakuan 1 kali/minggu, P<sub>2</sub> = kelompok perlakuan

3 kali/minggu, P<sub>3</sub> = kelompok perlakuan 6 hari/minggu, P<sub>4</sub> = kelompok perlakuan 12hari/2 minggu

Lampiran 3. Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap kadar hemoglobin pada kelompok kontrol.

## Oneway

### ANOVA

KONTROL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,120	3	4,000E-02	2,667	,095
Within Groups	,180	12	1,500E-02		
Total	,300	15			



Lampiran 4. Hasil uji ANAVA Satu Arah dan BNT terhadap kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan.

## Oneway

### ANOVA

ME

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3,663	3	1,221	8,960	,002
Within Groups	1,635	12	,136		
Total	5,298	15			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: ME

LSD

(I) HARI	(J) HARI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1 hari	3 hari	,4250	,2610	,129	-,1437	,9937
	6 hari/minggu	1,0250*	,2610	,002	,4563	1,5937
	12 hari/2mingg	1,2000*	,2610	,001	,6313	1,7687
3 hari	1 hari	-,4250	,2610	,129	-,9937	,1437
	6 hari/minggu	,6000*	,2610	,040	3,131E-02	1,1687
	12 hari/2mingg	,7750*	,2610	,012	,2063	1,3437
6 hari/minggu	1 hari	-1,0250*	,2610	,002	-1,5937	-,4563
	3 hari	-,6000*	,2610	,040	-1,1687	-3,1313E-02
	12 hari/2mingg	,1750	,2610	,515	-,3937	,7437
12 hari/2mingg	1 hari	-1,2000*	,2610	,001	-1,7687	-,6313
	3 hari	-,7750*	,2610	,012	-1,3437	-,2063
	6 hari/minggu	-,1750	,2610	,515	-,7437	,3937

\*. The mean difference is significant at the .05 level.



Lampiran 5. Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCH pada kelompok kontrol.

## Oneway

### ANOVA

kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,096	3	,365	,654	,596
Within Groups	6,705	12	,559		
Total	7,801	15			



Lampiran 6. Hasil uji ANAVA Satu Arah dan BNT terhadap nilai MCH pada kelompok perlakuan.

## Oneway

### ANOVA

perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	118,322	3	39,441	24,149	,000
Within Groups	19,598	12	1,633		
Total	137,921	15			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: perlakuan

LSD

(I) HARI	(J) HARI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1 kali/minggu	3 kali/minggu	-4,0025*	,9037	,001	-5,9714	-2,0336
	6 hari/minggu	-6,2850*	,9037	,000	-8,2539	-4,3161
	12 hari/2minggu	-6,9575*	,9037	,000	-8,9264	-4,9886
3 kali/minggu	1 kali/minggu	4,0025*	,9037	,001	2,0336	5,9714
	6 hari/minggu	-2,2825*	,9037	,027	-4,2514	-,3136
	12 hari/2minggu	-2,9550*	,9037	,007	-4,9239	-,9861
6 hari/minggu	1 kali/minggu	6,2850*	,9037	,000	4,3161	8,2539
	3 kali/minggu	2,2825*	,9037	,027	,3136	4,2514
	12 hari/2minggu	-,6725	,9037	,471	-2,6414	1,2964
12 hari/2minggu	1 kali/minggu	6,9575*	,9037	,000	4,9886	8,9264
	3 kali/minggu	2,9550*	,9037	,007	,9861	4,9239
	6 hari/minggu	-,6725	,9037	,471	-1,2964	2,6414

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 7. Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCHC pada kelompok kontrol.

## Oneway

### ANOVA

kontrol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5,932	3	1,977	,275	,842
Within Groups	86,235	12	7,186		
Total	92,167	15			



Lampiran 8. Hasil uji ANAVA Satu Arah terhadap nilai MCHC pada kelompok perlakuan.

## Oneway

### ANOVA

perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14,789	3	4,930	,683	,579
Within Groups	86,646	12	7,221		
Total	101,435	15			



Lampiran 2. Hasil perhitungan kadar Hb, nilai MCH dan MCHC

Kelompok perlakuan	Replikasi	Hb (gr/dl)	MCH (pg)	MCHC (%)
K <sub>1</sub>	1	12,2	16,83	39,35
	2	12,3	16,77	35,14
	3	12,3	16,22	34,16
	4	12,2	15,95	33,88
	Rerata ± SD	12,25 ± 0,006	16,94 ± 0,942	35,63 ± 2,532
K <sub>2</sub>	1	12,20	17,29	36,96
	2	12	16,89	37,50
	3	12	17,14	33,33
	4	12	16,60	36,36
	Rerata ± SD	12,05 ± 0,010	16,98 ± 0,302	36,04 ± 1,866
K <sub>3</sub>	1	12,4	17,49	41,33
	2	12,2	16,49	34,85
	3	12,2	15,64	34,85
	4	12,2	16,71	36,96
	Rerata ± SD	12,25 ± 0,100	16,67 ± 1,083	37,00 ± 3,050
K <sub>4</sub>	1	12	16,04	33,33
	2	12,2	16,36	33,89
	3	12,4	16,68	40
	4	12,4	16,62	34,44
	Rerata ± SD	12,25 ± 0,192	16,49 ± 0,292	35,41 ± 3,050
P <sub>1</sub>	1	11,6	15,49	35,15
	2	12	17,4	36,36
	3	11,6	16,93	35,15
	4	11,4	15,41	34,54
	Rerata ± SD	11,65 ± 0,252	16,31 ± 1,009	35,30 ± 0,763
P <sub>2</sub>	1	11	19,56	34,37
	2	11,2	20,65	32,94
	3	11,5	21,30	39,65
	4	11,2	19,74	33,93
	Rerata ± SD	11,23 ± 0,206	20,31 ± 0,809	35,23 ± 3,016
P <sub>3</sub>	1	9,8	21,39	28
	2	11	20,99	32,35
	3	10,7	24,05	35,67
	4	11	23,94	36,67
	Rerata ± SD	10,63 ± 0,568	22,53 ± 1,628	33,17 ± 3,912
P <sub>4</sub>	1	10	21,86	31,25
	2	10,4	22,61	32,50
	3	10,6	23,27	34,19
	4	10,8	25,32	36
	Rerata ± SD	10,45 ± 0,342	26,26 ± 1,486	33,48 ± 1,976

Keterangan :

K<sub>1</sub> = kelompok kontrol 1 kali/minggu, K<sub>2</sub> = kelompok kontrol 3 kali/minggu, K<sub>3</sub> = kelompok kontrol 6 hari/minggu, K<sub>4</sub> = kelompok kontrol 12 hari/2minggu, P<sub>1</sub> = kelompok perlakuan 1 kali/minggu, P<sub>2</sub> = kelompok perlakuan 3 kali/minggu, P<sub>3</sub> = kelompok perlakuan 6 hari/minggu, P<sub>4</sub> = kelompok perlakuan 12hari/2 minggu.



Lampiran 9. Hasil uji T terhadap kadar hemoglobin antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

9.1. Hasil uji T terhadap kadar hemoglobin antar kelompok kontrol 1 kali/minggu ( $K_1$ ) dan kelompok perlakuan 1 kali/minggu ( $P_1$ ).

### T-Test

#### Group Statistics

JENIS		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K1P1	k1	4	12,2500	5,774E-02	2,887E-02
	p1	4	11,6500	,2517	,1258

#### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K1P1: Equal variance assumed	2,778	,147	4,648	6	,004	,6000	,1291	,2841	,9159
Equal variance not assumed			4,648	3,315	,015	,6000	,1291	,2104	,9896

9.2. Hasil uji T terhadap kadar hemoglobin antar kelompok kontrol 3 kali/minggu ( $K_2$ ) dan kelompok perlakuan 3 kali/minggu ( $P_2$ ).

### T-Test

#### Group Statistics

JENIS2		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K2P2	k2	4	12,0500	1,000E-01	5,000E-02
	p2	4	11,2250	,2062	,1031

## Independent Samples Test

	Levene's Test for quality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K2P2 Equal varianc assumed	,789	,408	7,201	6	,000	,8250	,1146	,5447	1,1053
Equal varianc not assumed			7,201	4,338	,001	,8250	,1146	,5165	1,1335

9.3. Hasil uji T terhadap kadar hemoglobin antar kelompok kontrol 6 hari/minggu (K<sub>3</sub>) dan kelompok perlakuan 6 hari/minggu (P<sub>3</sub>).

## T-Test

## Group Statistics

JENIS3	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K3P3 k3	4	12,2500	,1000	5,000E-02
p3	4	10,6250	,5679	,2839

## Independent Samples Test

	Levene's Test for quality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K3P3 Equal varianc assumed	4,643	,075	5,636	6	,001	1,6250	,2883	,9195	2,3305
Equal varianc not assumed			5,636	3,186	,009	1,6250	,2883	,7370	2,5130

9.4. Hasil uji T terhadap kadar hemoglobin antar kelompok kontrol 12 kali/2 minggu (K<sub>4</sub>) dan kelompok perlakuan 12 kali/2 minggu (P<sub>4</sub>).

## T-Test

## Group Statistics

JENIS4	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K4P4 k4	4	12,2500	,1915	9,574E-02
p4	4	10,4500	,3416	,1708

## Independent Samples Test

	Levene's Test for quality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K4P4 Equal varianc assumed	1,000	,356	9,194	6	,000	1,8000	,1958	1,3209	2,2791
Equal varianc not assumed			9,194	4,716	,000	1,8000	,1958	1,2875	2,3125



Lampiran 10. Hasil uji T terhadap nilai MCH antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

10.1. Hasil uji T terhadap nilai MCH antar kelompok kontrol 1 kali/minggu ( $K_1$ ) dan kelompok perlakuan 1 kali/minggu ( $P_1$ ).

### T-Test

#### Group Statistics

JENIS		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K1P1	k1	4	16,9425	,9415	,4708
	p1	4	16,3075	1,0091	,5046

#### Independent Samples Test

	Levene's Test for quality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K1P1/	,503	,505	,920	6	,393	,6350	,6901	-1,0535	2,3235
Equal varian assumed									
Equal varian not assumed			,920	5,971	,393	,6350	,6901	-1,0555	2,3255

10.2. Hasil uji T terhadap nilai MCH antar kelompok kontrol 3 kali/minggu ( $K_2$ ) dan kelompok perlakuan 3 kali/minggu ( $P_2$ ).

### T-Test

#### Group Statistics

JENIS2		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K2P2	k2	4	16,9800	,3023	,1512
	p2	4	20,3100	,8090	,4045

## Independent Samples Test

	Levene's Test Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K2P2 Equal variances assumed	7,902	,031	-7,711	6	,000	-3,330	,4318	-4,386	-2,273
Equal variances not assumed			-7,711	3,822	,002	-3,330	,4318	-4,551	-2,108

10.3. Hasil uji T terhadap nilai MCH antar kelompok kontrol 6 hari/minggu (K<sub>3</sub>) dan kelompok perlakuan 6 hari/minggu (P<sub>3</sub>).

## T-Test

## Group Statistics

	JENIS3	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K3P3	k3	4	16,4525	1,0825	,5413
	p3	4	22,5925	1,6283	,8141

## Independent Samples Test

	Levene's Test Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K3P3 Equal variances assumed	3,960	,094	-6,280	6	,001	-6,140	,9777	-8,532	-3,747
Equal variances not assumed			-6,280	5,219	,001	-6,140	,9777	-8,621	-3,658

10.4. Hasil uji T terhadap nilai MCH antar kelompok kontrol 12 kali/2 minggu (K<sub>4</sub>) dan kelompok perlakuan 12hari/2 minggu (P<sub>4</sub>).

## T-Test

## Group Statistics

	JENIS4	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K4P4	k4	4	16,4250	,2918	,1459
	p4	4	23,2650	1,4862	,7431



## Independent Samples Test

	Levene's Test Equality of Vari		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tail)	Mean Differen	Std. Err Differen	95% Confiden e Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K4P4 Equal variances assumed	3,193	,124	-9,033	6	,000	-6,840	,7573	-8,693	-4,987
Equal variances not assumed			-9,033	3,231	,002	-6,840	,7573	-9,155	-4,524



Lampiran 11. Hasil uji T terhadap nilai MCHC antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

11.1. Hasil uji T terhadap nilai MCHC antar kelompok kontrol 1 kali/minggu ( $K_1$ ) dan kelompok perlakuan 1 kali/minggu ( $P_1$ ).

## T-Test

### Group Statistics

	JENIS	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K1P1	k1	4	35,6375	2,5323	1,2661
	p1	4	35,3000	,7629	,3815

### Independent Samples Test

		Levene's Test Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tail)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
K1P1	Equal variances assumed	3,473	,112	,255	6	,807	,3375	1,322	-2,898	3,573
	Equal variances not assumed			,255	3,540	,813	,3375	1,322	-3,529	4,204

11.2. Hasil uji T terhadap nilai MCHC antar kelompok kontrol 3 kali/minggu ( $K_2$ ) dan kelompok perlakuan 3 kali/minggu ( $P_2$ ).

## T-Test

### Group Statistics

	JENIS2	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K2P2	k2	4	36,0400	1,8657	,9329
	p2	4	35,2275	3,0156	1,5078

**Independent Samples Test**

	Levene's Test Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tail)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K2P2 Equal variances assumed	,829	,398	,458	6	,663	,8125	1,773	-3,526	5,151
Equal variances not assumed			,458	5,003	,666	,8125	1,773	-3,744	5,369

11.3. Hasil uji T terhadap nilai MCHC antar kelompok kontrol 6 hari/minggu (K<sub>3</sub>) dan kelompok perlakuan 6 hari/minggu (P<sub>3</sub>).

**T-Test**

**Group Statistics**

JENIS3		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K3P3	k3	4	36,0400	1,8657	,9329
	p3	4	16,4525	1,0825	,5413

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tail)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K3P3 Equal variances assumed	,954	,367	18,16	6	,000	19,587	1,078	16,948	22,226
Equal variances not assumed			18,16	4,814	,000	19,587	1,078	16,782	22,392

11.4. Hasil uji T terhadap nilai MCHC antar kelompok kontrol 12 kali/2 minggu (K<sub>4</sub>) dan kelompok perlakuan 12 kali/2 minggu (P<sub>4</sub>).

**T-Test**

**Group Statistics**

JENIS4		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
K4P4	k4	4	36,0400	1,8657	,9329
	p4	4	33,5475	1,9763	,9881

## Independent Samples Test

	Levene's Test Equality of Variance		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tail)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
K4P4 Equal variances assumed	,085	,781	1,834	6	,116	2,492	1,358	-,832	5,817
Equal variances not assumed			1,834	5,980	,116	2,492	1,358	-,835	5,820

