

Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) Dan Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L.*) Tunggal Dan Kombinasi Terhadap Kenaikan Kadar Hemoglobin Pada Mencit Anemia Defisiensi Besi

Hasya Nurhafizah Syahkina¹, Rastria Meilanda², Shinta Sari Dewi³

^{1,2,3}Institut Kesehatan Mitra Bunda

email: nurhafizahhasya@gmail.com¹, rastria.m@gmail.com², shintasaridewi@gmail.com³

ABSTRAK

Anemia defisiensi besi menyebabkan penurunan kadar hemoglobin dan sering diatasi dengan tablet tambah darah yang memiliki efek samping. Bit merah (*Beta vulgaris L.*) dan bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) mengandung zat besi, asam folat, vitamin C, dan antioksidan yang berpotensi meningkatkan hemoglobin. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak etanol bit merah, bayam merah, dan kombinasinya terhadap peningkatan kadar hemoglobin pada mencit (*Mus musculus*) anemia defisiensi besi. Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan *Post-Test Only Control Group Design* dengan 25 mencit jantan yang dibagi menjadi lima kelompok: kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak bit merah, ekstrak bayam merah, dan kombinasi keduanya. Dosis ekstrak tunggal diberikan sebesar 130 mg/kgBB, sedangkan dosis kombinasi terdiri atas masing-masing 65 mg/kgBB ekstrak bayam merah dan 65 mg/kgBB ekstrak bit merah. Perlakuan dilakukan selama tujuh hari. Data dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan *Post Hoc Bonferroni*. Hasil menunjukkan semua perlakuan meningkatkan kadar hemoglobin secara signifikan dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). Kombinasi ekstrak memberikan peningkatan tertinggi dan efektivitas setara dengan kontrol positif. Kesimpulan: Ekstrak etanol bit merah dan bayam merah, baik tunggal maupun kombinasi (65 mg/kgBB + 65 mg/kgBB), efektif meningkatkan kadar hemoglobin dan berpotensi menjadi alternatif alami pengganti tablet tambah darah.

Kata Kunci: Anemia Defisiensi Besi, Hemoglobin, *Beta Vulgaris L.*, *Amaranthus Tricolor L.*, *Mus Musculus*.

ABSTRACT

*Iron deficiency anemia causes a decrease in hemoglobin levels and is often treated with iron supplements that have side effects. Red beet (*Beta vulgaris L.*) and red spinach (*Amaranthus tricolor L.*) contain iron, folic acid, vitamin C, and antioxidants that have the potential to increase hemoglobin. This study aims to determine the effect of ethanol extracts of red beet, red spinach, and their combination on increasing hemoglobin levels in mice (*Mus musculus*) with iron deficiency anemia. This experimental study used a *Post-Test Only Control Group Design* with 25 male mice divided into five groups: negative control, positive control, red beet extract, red spinach extract, and a combination of both. The single extract dose was given at 130 mg/kgBW, while the combination dose consisted of 65 mg/kgBW of red spinach extract and 65 mg/kgBW of red beet extract, respectively. The treatment was carried out for seven days. Data were analyzed using *One-Way ANOVA* and *Post Hoc Bonferroni* tests. The results showed that*

all treatments significantly increased hemoglobin levels compared to the negative control ($p < 0.05$). The combination of extracts provided the highest increase and equivalent effectiveness to the positive control. Conclusion: Ethanol extracts of red beet and red spinach, either alone or in combination (65 mg/kgBW + 65 mg/kgBW), effectively increased hemoglobin levels and have the potential to be a natural alternative to iron supplements.

Keywords: Iron Deficiency Anemia, Hemoglobin, Beta Vulgaris L, Amaranthus Tricolor L., Mus Musculus.

PENDAHULUAN

Anemia merupakan kondisi menurunnya jumlah sel darah merah (eritrosit) dalam tubuh, yang menyebabkan berkurangnya kadar hemoglobin sebagai pengangkut oksigen ke seluruh jaringan (Nagao & Hirokawa, 2017). Berdasarkan data Survei Kesehatan Indonesia (SKI) tahun 2023, prevalensi anemia pada remaja usia 15–24 tahun tercatat sebesar 15,5%, terdiri atas 18% pada remaja putri dan 14,4% pada remaja laki-laki. Meskipun terjadi penurunan dibandingkan lima tahun sebelumnya, angka tersebut masih tergolong tinggi. Menurut WHO, prevalensi anemia di atas 10% pada populasi sudah termasuk kategori tinggi (Kemenkes, 2023). Di Indonesia sendiri, data spesifik mengenai prevalensi anemia di wilayah seperti Kota Batam masih terbatas, namun permasalahan ini menjadi perhatian penting karena berdampak pada kualitas hidup masyarakat.

Salah satu bentuk anemia yang paling umum adalah anemia defisiensi besi (ADB), yaitu anemia akibat kekurangan zat besi dalam tubuh. Kondisi ini menghambat proses sintesis hemoglobin dan menimbulkan gejala seperti kelelahan, gangguan konsentrasi, serta penurunan produktivitas (Harahap, 2018). Di Indonesia, ADB masih menjadi masalah gizi utama selain defisiensi vitamin A, yodium, dan protein, yang banyak dipengaruhi oleh rendahnya asupan protein hewani dan tingginya infeksi parasit (Nurbadriyah, 2019).

Pengobatan anemia umumnya dilakukan dengan terapi konvensional berupa pemberian suplemen zat besi seperti *ferrous fumarat* dalam bentuk tablet tambah darah. Namun, penggunaan suplemen tersebut dapat menimbulkan efek samping seperti gangguan saluran cerna, sembelit, mual, muntah, serta nyeri ulu hati (Ningrum *et al.*, 2022). Seiring meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap pengobatan alami, penggunaan tanaman herbal menjadi alternatif yang diminati karena lebih aman, ekonomis, dan memiliki efek samping minimal (Rizki, 2021). Berbagai tanaman seperti madu, bawang putih, jeruk lemon, dan apel

telah terbukti secara empiris dan ilmiah memiliki potensi meningkatkan kadar hemoglobin (Alhidayah, 2018).

Salah satu tanaman yang banyak diteliti sebagai sumber zat besi alami adalah bit merah (*Beta vulgaris* L.). Tanaman ini kaya akan zat gizi seperti vitamin, mineral, dan antioksidan yang berperan penting dalam proses pembentukan serta pematangan sel darah merah (Mudhofir *et al.*, 2024). Penelitian Dewita *et al.* (2023) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bit merah dosis 450 mg/kgBB secara oral mampu meningkatkan kadar hemoglobin secara signifikan pada tikus bunting anemia yang diinduksi *phenylhydrazine*.

Selain itu, bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) juga memiliki potensi sebagai tanaman antianemia. Penelitian Basuki *et al.* (2023) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah dengan dosis 0,6 mg/kgBB efektif meningkatkan kadar eritrosit pada mencit yang diinduksi *NaNO₂*. Kandungan zat besi, vitamin C, dan senyawa polifenol di dalamnya berfungsi meningkatkan penyerapan zat besi dan melindungi sel darah merah dari kerusakan oksidatif (Anggraini *et al.*, 2015). Dengan demikian, kombinasi bit merah dan bayam merah diperkirakan memberikan efek sinergis dalam meningkatkan kadar hemoglobin melalui mekanisme peningkatan ketersediaan zat besi dan stimulasi eritropoiesis.

Penelitian sebelumnya oleh Dewita *et al.* (2023) dan Basuki *et al.* (2023) telah membuktikan efektivitas ekstrak tunggal masing-masing tanaman terhadap peningkatan hemoglobin, namun belum ada penelitian yang secara langsung membandingkan efek kombinasi kedua tanaman tersebut pada model hewan anemia defisiensi besi. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki kebaruan (*novelty*) berupa eksplorasi efektivitas kombinasi ekstrak etanol bit merah dan bayam merah sebagai alternatif terapi alami peningkat hemoglobin dengan efek yang lebih optimal dibandingkan pemberian tunggal.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol bit merah dan bayam merah, baik secara tunggal maupun kombinasi, terhadap peningkatan kadar hemoglobin pada mencit yang diinduksi anemia defisiensi besi. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam bidang farmakologi memperkaya literatur tentang tanaman lokal berpotensi antianemia.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah wadah kaca, gelas ukur (*Pyrex*), *beaker glass* (*Pyrex*), corong kaca (*Iwaki*), batang pengaduk, timbangan analitik (*Biobase*), aluminium foil, *rotary evaporator* (*Heidolph*), *waterbath* (*Innotech*), *Hot plate* (*Maspion*), lumpang dan alu, kaca arloji, *easy touch Hb*, strip Hb, Spuit 1 cc, sonde oral, masker, *handscoon*, *cutter*, kandang mencit, tempat makan dan minum mencit.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah bit merah (*Beta vulgaris* L.), bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.), etanol 96%, aquadest, *Aqua Pro Injection* (API), Natrii Carboxymethyl Cellulosum (Na CMC), tablet tambah darah, aluminium sulfat (Tawas), pakan dan minum mencit.

3. Jalannya Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental secara *in vivo* yang bertujuan menilai efektivitas ekstrak etanol bit merah dan bayam merah, baik secara tunggal maupun kombinasi, dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada mencit yang mengalami anemia defisiensi besi. Sebanyak 25 mencit dibagi ke dalam lima kelompok, kemudian diberikan perlakuan selama tujuh hari dengan dosis 130 mg/kgBB untuk ekstrak tunggal dan 65 mg/kgBB per ekstrak untuk kombinasi setelah dilakukan induksi anemia menggunakan aluminium sulfat. Setelah perlakuan, kadar hemoglobin diukur dan dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* serta dilanjutkan dengan *Post Hoc Bonferroni*.

4. Ekstraksi Bayam Merah dan Bit Merah

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 5 kg bit merah segar dan 3 kg bayam merah segar masing-masing dipotong kecil untuk memperluas permukaan kontak dengan pelarut (Pratiwi & Nurmaliza, 2020). Bahan kemudian direndam dalam wadah kaca berisi etanol 96% hingga seluruh bagian terendam dan dimaserasi selama tiga hari dengan pengadukan setiap hari. Setelah itu, filtrat disaring dan ampasnya dimaserasi ulang sebanyak tiga kali dengan pelarut yang sama. Seluruh hasil maserat digabung, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental bit merah dan bayam merah (Hainil *et al.*, 2022).

5. Karakterisasi Ekstrak Bayam Merah dan Bit Merah

Uji karakterisasi pada ekstrak yang dilakukan hanya penetapan kadar abu total dengan menimbang sebanyak 2 gram ekstrak kental dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah dipanaskan sebelumnya pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditimbang. Selanjutnya, krus dimasukkan ke dalam furnace dan dipijarkan pada suhu 600°C selama 7 jam. Setelah proses pemijaran selesai, krus dikeluarkan, didinginkan dalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang kembali (Febriyenti *et al.*, 2018).

$$\text{Kadar Abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Berat krus porselin kosong yang telah dipijar

B : Berat krus porselin + simplisia

C : Berat krus porselin + abu

6. Uji Aktivitas Kenaikan Kadar Hemoglobin Pada Mencit

Pada penelitian ini mencit yang digunakan sebanyak 25 ekor dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Kelompok pengujian terdiri dari kelompok kontrol negatif (Na-CMC 1%), kelompok kontrol positif (tablet tambah darah), kelompok ekstrak tunggal bayam merah dan bit merah dengan dosis 130 mg/kgBB, dan kelompok kombinasi ekstrak bit merah dan bayam merah dengan dosis masing-masing 65 mg/kgBB.

Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari untuk beradaptasi dengan lingkungan baru dan meminimalisir stres yang dapat memengaruhi metabolisme. Selama aklimatisasi, mencit diberi makan, minum, dan ditimbang rutin. Mencit ditempatkan dalam kandang plastik bersekat dengan kawat penutup, setiap kandang berisi 4 ekor mencit dengan bobot seragam, kemudian diberi label sesuai kelompok perlakuan.

Mencit putih jantan yang akan digunakan pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kadar Hb dengan mengambil sedikit darah pada bagian ekor mencit. Pengambilan darah tersebut dilakukan dengan cara ekor disayat tipis hingga mengeluarkan darah kemudian diukur kadar Hb dengan menggunakan alat GCHb.

Setelah itu mencit dibuat menjadi anemia dengan menginjeksi larutan aluminium sulfat secara intramuskular, aluminium sulfat diberikan sebanyak 0,05 ml 1 kali sehari selama 7 hari berturut-turut. Pada hari ke-8 mencit diambil lagi darahnya untuk dilakukan pemeriksaan Hb, setelah itu pada hari yang sama pula semua mencit mulai diberikan perlakuan secara oral sesuai dengan kelompoknya yaitu; kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak tunggal bit merah dan bayam merah dengan masing-masing dosis 130 mg/kgBB, serta kombinasi antara kedua ekstrak dengan dosis masing-masing 65 mg/kgBB. Perlakuan tersebut dilakukan setiap 1 kali sehari selama 7 hari. Kemudian mencit dilakukan pemeriksaan kadar Hemoglobin kembali di hari ke-15

7. Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Jika nilai signifikan ($p > 0,05$), maka data dianggap terdistribusi normal dan analisis dilanjutkan menggunakan uji *One-Way* ANOVA. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji lanjutan (*post hoc*) menggunakan metode *Bonferroni* untuk mengindektifikasi perbedaan antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tumbuhan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bit merah dan bayam. Dimana bit merah diperoleh di kebun daerah Perumahan Setiabudi Regency, Kota Bandung, Jawa Barat. Sedangkan pengambilan bayam merah dilakukan di kebun daerah Bareleng, Kota Batam, Kepulauan Riau yang telah dilakukan determinasi di Laboratorium Fakultas FMIPA Universitas Andalas, Padang dengan nomor identitas bit merah yaitu 186/K-ID/ANDA/III/2025 dan bayam merah 326/K-ID/ANDA/VII/2025. Adapun hasil determinasi tanaman menyatakan bahwa benar merupakan tanaman bit merah (*Beta vulgaris* L.) dan bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.).

2. Pembuatan Ekstrak Bit Merah dan Bayam Merah

Pada penelitian ini digunakan metode maserasi sebagai teknik ekstraksi. Metode ini dipilih karena tergolong sederhana, mudah diaplikasikan, serta termasuk ke dalam metode ekstraksi cara dingin (*cold extraction*). Keunggulan utama maserasi dengan cara dingin yaitu

mampu menjaga kestabilan senyawa aktif dalam tanaman yang umumnya sensitif terhadap panas, sehingga struktur kimianya tidak mudah rusak.

Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan untuk memaksimalkan proses perolehan senyawa bioaktif. Pelarut yang digunakan adalah etanol, karena memiliki kemampuan melarutkan berbagai senyawa polar maupun semi-polar, relatif aman, dan sering digunakan dalam penelitian bahan alam. Etanol juga bersifat selektif terhadap senyawa metabolit sekunder penting, seperti flavanoid, tanin, alkaloid, dan senyawa fenolik, yang berperan dalam aktivitas farmakologi tanaman.

Setelah proses maserasi selesai, cairan hasil ekstraksi (maserat) dikumpulkan dan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Alat ini bekerja dengan prinsip penguapan pada tekanan rendah, sehingga pelarut dapat dipisahkan tanpa merusak senyawa aktif akibat panas berlebih. Dari proses ini diperoleh ekstrak kental dari bit merah dan bayam merah.

Tabel 1. Hasil Uji Rendemen Ekstrak

Ekstrak	Bobot Sampel	Bobot Ekstrak	Rendemen
Bayam merah	1.500 gram	81,580 gram	5,43%
Bit merah	3.000 gram	144,115 gram	4,80%

Berdasarkan Tabel 1. diperoleh simplisia sebanyak 1.500 gram bayam merah dan 3.000 gram bit merah. Ekstraksi dengan etanol menghasilkan ekstrak bayam merah seberat 81,580 gram dan bit merah 144,115 gram. Persentase rendemen yang didapat adalah 5,43% untuk bayam merah dan 4,80% untuk bit merah. Nilai tersebut tidak sesuai dengan standar karena menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017), rendemen dinyatakan baik apabila tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Abu

Sampel	% Kadar Abu
Ekstrak etanol bayam merah	7,2%
Ekstrak etanol bit merah	8,1%

Berdasarkan Tabel 2. kadar abu ekstrak etanol bayam merah sebesar 7,2% dan ekstrak etanol bit merah sebesar 8,1%, keduanya masih berada di bawah batas maksimum 10% sesuai

standar Farmakope Herbal Indonesia (2017). Hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak memiliki kemurnian yang baik dan rendah kandungan zat anorganik. Jika kadar abu melebihi 10%, hal tersebut menandakan adanya kontaminasi atau ketidakmurnian akibat kotoran, debu, atau residu logam yang dapat menurunkan kandungan zat aktif dan efektivitas ekstrak. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak bayam merah dan bit merah memenuhi standar mutu ekstrak herbal yang baik dan layak digunakan untuk penelitian lebih lanjut (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

3. Pengujian Aktivitas Ekstrak Bit Tanaman Pada Hewan Uji

Penelitian mengenai efektivitas ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan bit merah (*Beta vulgaris* L.) terhadap peningkatan kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan hewan uji berupa mencit putih jantan dengan berat badan 20–40 gram sebanyak 25 ekor. Seluruh mencit dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, di mana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Sebelum diberikan perlakuan utama, mencit menjalani masa aklimatisasi selama 7 hari dengan kondisi pemeliharaan yang seragam. Tahap aklimatisasi ini penting untuk memberikan kesempatan kepada mencit beradaptasi dengan lingkungan barunya, sehingga dapat mengurangi risiko stres akibat perubahan lingkungan. Stres pada hewan uji dapat memengaruhi proses metabolisme dan berpotensi menimbulkan bias terhadap hasil penelitian, sehingga aklimatisasi diperlukan untuk menjaga validitas data yang diperoleh (Maulina *et al.*, 2018).

Setelah melewati masa aklimatisasi, dilakukan pengukuran kadar hemoglobin awal pada mencit dengan cara mengambil sampel darah dari pembuluh darah vena pada ekor. Prosedur dilakukan dengan menyayat ekor mencit yang sebelumnya telah dibersihkan menggunakan kapas alkohol. Darah yang keluar kemudian diteteskan pada strip Hb yang terpasang pada alat pengukur, dan hasil yang terbaca dicatat sebagai kadar hemoglobin awal. Selanjutnya, mencit diberi perlakuan berupa induksi menggunakan aluminium sulfat melalui rute intramuskular selama 7 hari berturut-turut dengan tujuan menurunkan kadar hemoglobin (Adyani *et al.*, 2018). Aluminium sulfat digunakan karena dapat mengakibatkan gangguannya terhadap metabolisme zat besi (Fe), yang berperan vital dalam pembentukan hemoglobin dan transport oksigen. Ion Al^{3+} dapat menggantikan posisi Fe^{3+} dalam sistem biokimia tubuh, sehingga menghambat penyerapan dan distribusi zat besi ke jaringan, termasuk sumsum tulang yang bertanggung jawab atas produksi sel darah merah. Kondisi ini dapat menyebabkan penurunan

kadar hemoglobin dan mengarah pada anemia, terutama anemia defisiensi besi (Mailloux *et al.*, 2011). Model mencit anemia yang diinduksi aluminium sulfat sudah pernah digunakan pada penelitian yang dilakukan oleh (Adyani *et al.*, 2018) Mencit dianggap mengalami anemia jika kadar hemoglobin dalam darah mencapai angka <13 mg/dL.

Pada penelitian ini didapatkan kondisi mencit mengalami anemia setelah pemberian aluminium sulfat selama 7 hari melalui injeksi intramuskular. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa aluminium sulfat terbukti menimbulkan efek hematologis yang nyata, ditandai dengan penurunan kadar hemoglobin serta nilai hematokrit secara signifikan (Ganchev *et al.*, 1998). Setelah proses induksi selesai, mencit kemudian diperlakukan sesuai dengan pembagian kelompok uji. Pada kelompok I yang berfungsi sebagai kontrol negatif, hewan coba hanya memperoleh suspensi Na-CMC 1%. Kelompok II sebagai kontrol positif diberikan perlakuan berupa tablet tambah darah. Sementara itu, kelompok III mendapatkan perlakuan dengan ekstrak bayam merah pada dosis 130 mg/kgBB, kelompok IV menerima ekstrak bit merah dengan dosis yang sama yaitu 130 mg/kgBB, dan kelompok V menerima kombinasi antara ekstrak bayam merah dan bit merah dengan dosis masing-masing 65 mg/kgBB.

Tabel 2. Rata-Rata Kenaikan Kadar Hemoglobin

Perlakuan	Kadar Hb awal (mg/dL)	Kadar Hb setelah diberikan aluminium sulfat (mg/dL) \pm SD	Kadar Hb setelah diberikan terapi (mg/dL)	
		Hari ke-8	Hari ke-11	Hari ke-15
Kontrol Negatif	14,82 \pm 0,88	8,80 \pm 1,68	9,52 \pm 1,38	10,62 \pm 1,64
Kontrol Positif	15,46 \pm 2,03	7,22 \pm 2,27	15,56 \pm 1,15	15,70 \pm 0,78
Ekstrak bayam	13,60 \pm 1,74	8,10 \pm 3,23	12,44 \pm 2,79	14,58 \pm 0,48

merah 130 mg/kgBB				
Ekstrak bit merah 130 mg/kgBB	15,00 ± 1,23	5,94 ± 2,10	14,50 ± 1,77	16,08 ± 2,36
Kombinasi Ekstrak dosis 65 mg/kgBB perekstrak	13,70 ± 1,40	6,70 ± 0,52	16,16 ± 0,56	18,06 ± 0,44

Berdasarkan Tabel 3. dapat diamati bahwa rata-rata kadar hemoglobin mencit mengalami penurunan pada hari ke-8 pengamatan, yaitu tepat setelah hewan coba mendapat perlakuan induksi selama 7 hari berturut-turut. Kondisi ini menunjukkan bahwa proses induksi berhasil memicu terjadinya anemia defisiensi besi pada mencit, sehingga kadar hemoglobin menurun dibandingkan kondisi awal. Penurunan ini sekaligus menjadi bukti bahwa tubuh mencit memberikan respon fisiologis terhadap paparan induksi.

Tabel 3. Rata-Rata Selisih Kenaikan Kadar Hemoglobin

Perlakuan	Kenaikan Kadar Hemoglobin (mg/dL)		Selisih Kenaikan Kadar Hemoglobin (mg/dL)
	Hari ke-8	Hari ke-15	
Kontrol Negatif	8,80	10,62	1,82
Kontrol Positif	7,22	15,70	8,48
Ekstrak Bayam Merah	8,10	14,58	6,48
Ekstrak Bit Merah	5,94	16,08	10,14
Kombinasi Ekstrak	6,70	18,06	11,36

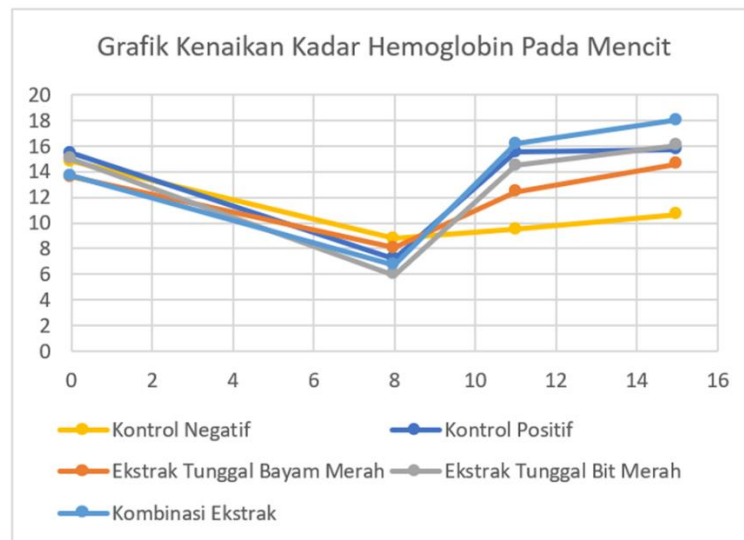
Berdasarkan Tabel 4. dapat dilihat bahwa kadar hemoglobin pada kelompok kontrol negatif hanya meningkat sedikit, yaitu sebesar 1,82 mg/dL dari hari ke-8 hingga hari ke-15.

Hal ini menunjukkan bahwa tanpa adanya pemberian terapi, mencit anemia tidak mampu memperbaiki kadar hemoglobinnya secara optimal. Sebaliknya, kelompok kontrol positif yang diberikan tablet tambah darah menunjukkan peningkatan kadar hemoglobin sebesar 8,48 mg/dL, menandakan efektivitas zat besi sebagai terapi standar dalam membantu pembentukan sel darah merah dan memperbaiki kondisi anemia.

Kelompok yang diberikan ekstrak etanol bayam merah 130 mg/kgBB juga mengalami peningkatan kadar hemoglobin sebesar 6,48 mg/dL. Walaupun nilainya sedikit lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif, hasil ini tetap menunjukkan bahwa bayam merah memiliki potensi dalam memperbaiki kadar hemoglobin. Kandungan zat besi, vitamin C, dan flavonoid di dalam bayam merah berperan penting dalam meningkatkan penyerapan zat besi dan melindungi sel darah merah dari kerusakan oksidatif (Anggraini *et al.*, 2015).

Sementara itu, kelompok ekstrak etanol bit merah 130 mg/kgBB menunjukkan peningkatan kadar hemoglobin sebesar 10,14 mg/dL, yang bahkan lebih tinggi dibanding kelompok kontrol positif. Hal ini mengindikasikan bahwa bit merah memiliki efektivitas yang baik dalam memperbaiki anemia defisiensi besi. Kandungan betasianin, zat besi, asam folat, serta vitamin B kompleks dan vitamin C pada bit merah bekerja sinergis dalam merangsang pembentukan sel darah merah serta meningkatkan kadar hemoglobin (Saula *et al.*, 2020).

Peningkatan paling tinggi terlihat pada kelompok kombinasi ekstrak bayam merah dan bit merah (65 mg/kgBB : 65 mg/kgBB) dengan selisih kenaikan hemoglobin sebesar 11,36 mg/dL. Hasil ini menunjukkan adanya efek sinergis antara kedua ekstrak, di mana kombinasi zat aktif dari bayam merah dan bit merah mampu memberikan hasil yang lebih baik dibanding pemberian tunggal. Kombinasi ini diduga memperkuat proses hematopoiesis melalui peningkatan ketersediaan zat besi, asam folat, dan vitamin pendukung pembentukan hemoglobin.



Grafik 1. Grafik Kenaikan Kadar Hemoglobin

Grafik 1. menunjukkan bahwa pada hari ke-8, kadar hemoglobin seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan, dengan nilai terendah terlihat pada kelompok ekstrak tunggal bit merah. Namun, pada hari ke-15 terjadi peningkatan yang signifikan, terutama pada kelompok kombinasi ekstrak bayam merah dan bit merah yang menunjukkan kadar hemoglobin tertinggi dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini menandakan bahwa kombinasi kedua ekstrak memberikan efek sinergis dan respons fisiologis yang lebih optimal dalam meningkatkan kadar hemoglobin serta memperbaiki kondisi anemia defisiensi besi pada mencit.

Berdasarkan hasil uji normalitas yang dilakukan, seluruh data dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak bayam merah, ekstrak bit merah, serta kelompok kombinasi (ekstrak bayam merah dan bit merah) menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa data dari setiap kelompok terdistribusi normal. Distribusi yang normal ini mengindikasikan bahwa respon kadar hemoglobin pada masing-masing kelompok cenderung homogen dan tidak terdapat nilai ekstrem yang memengaruhi hasil uji statistik. Dengan demikian, analisis lanjutan dapat menggunakan uji parametrik seperti ANOVA untuk melihat perbedaan antar perlakuan.

Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). Artinya, data dari tiap kelompok memiliki variasi yang sama atau bersifat homogen. Kondisi ini penting karena

menunjukkan bahwa variasi antar kelompok perlakuan bukan disebabkan oleh perbedaan sifat dasar data, melainkan karena pengaruh perlakuan yang diberikan. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, maka analisis perbandingan dapat dilanjutkan menggunakan uji statistik parametrik seperti *One-way ANOVA*.

Hasil uji *One-way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap peningkatan kadar hemoglobin pada mencit anemia defisiensi besi, dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bayam merah, ekstrak bit merah, serta kombinasi keduanya memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan kadar hemoglobin dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Hasil uji lanjutan (*Post Hoc Test*) memberikan gambaran yang lebih detail mengenai kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan.

Tabel 4.4 Kontrol Negatif dan Semua Perlakuan Lain

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Signifikansi ($p < 0,05$)
Negatif	Positif	-6.66000*	0.000
	Bayam	-4.66000*	0.015
	Bit	-8.32000*	0.000
	Kombinasi	-9.54000*	0.000

Pada Tabel 5. perbandingan antara kelompok kontrol negatif dengan seluruh kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Hasil uji *Post Hoc* memperlihatkan bahwa kontrol negatif dibandingkan kontrol positif memiliki perbedaan signifikan ($p = 0,000$), kontrol negatif dibandingkan kelompok ekstrak bayam merah juga signifikan ($p = 0,015$), kontrol negatif dibandingkan kelompok ekstrak bit merah menunjukkan perbedaan sangat signifikan ($p = 0,000$), begitu pula dengan kelompok kombinasi ekstrak yang memiliki nilai signifikansi paling tinggi ($p = 0,000$).

Temuan ini menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan, baik kontrol positif, ekstrak tunggal bayam merah, ekstrak tunggal bit merah, maupun kombinasi keduanya, mampu meningkatkan kadar hemoglobin secara signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (kontrol negatif). Dengan kata lain, mencit yang tidak mendapatkan terapi tetap mengalami kondisi anemia, sedangkan kelompok yang mendapat perlakuan menunjukkan

perbaiki kadar hemoglobin. Peningkatan paling besar terlihat pada kelompok kombinasi ekstrak, menandakan adanya efek sinergis antara kandungan zat besi dan antioksidan pada bayam merah serta bit merah dalam mempercepat pembentukan hemoglobin. Hal ini memperkuat potensi kombinasi kedua ekstrak sebagai alternatif terapi alami anemia defisiensi besi.

Tabel 5. Kontrol Positif dan Ekstrak Bayam Merah/Bit Merah

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Signifikansi (p<0,05)
Positif	Bayam	2.00000	1.000
	Bit	-1.66600	1.000
	Kombinasi	-2.88000	0.338

Pada Tabel 6. perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan ekstrak bayam merah, ekstrak bit merah, dan kombinasi ekstrak bayam merah-bit merah menunjukkan nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Nilai signifikansi untuk perbandingan kontrol positif dengan ekstrak bayam merah sebesar $p = 1,000$, dengan ekstrak bit merah sebesar $p = 1,000$, dan dengan kombinasi ekstrak bayam merah-bit merah sebesar $p = 0,338$.

Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif (tablet tambah darah) dengan ketiga perlakuan ekstrak tersebut dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada mencit anemia defisiensi besi. Artinya, baik pemberian ekstrak bayam merah, ekstrak bit merah, maupun kombinasi keduanya memiliki efek yang sebanding dengan pemberian tablet tambah darah dalam membantu meningkatkan kadar hemoglobin.

Meskipun tidak berbeda secara signifikan, nilai *mean difference* menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar hemoglobin pada kelompok perlakuan. Kombinasi ekstrak bayam merah dan bit merah memiliki selisih nilai rata-rata tertinggi dibandingkan dengan kontrol positif, yang menunjukkan bahwa kombinasi keduanya berpotensi memberikan efek yang lebih baik walaupun belum mencapai perbedaan signifikan secara statistik.

Efektivitas yang relatif sama antara kelompok perlakuan dan kontrol positif dapat dijelaskan melalui kandungan zat gizi yang terdapat pada kedua tanaman. Bit merah (*Beta vulgaris* L.) mengandung zat besi, asam folat, dan pigmen betalain yang berperan dalam

pembentukan hemoglobin, sementara bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) mengandung zat besi, vitamin C, dan antioksidan yang membantu penyerapan zat besi di dalam tubuh. Kombinasi keduanya memungkinkan terjadinya efek sinergis antara zat besi dan vitamin C, yang mempercepat proses pembentukan sel darah merah.

Tabel 6. Ekstrak Bayam Merah dan Bit Merah

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Signifikansi (p<0,05)
Bayam	Bit	-3.66000	0.089
	Kombinasi	-4.88000*	0.010

Pada Tabel 7. perbandingan antara kelompok perlakuan ekstrak bayam merah dengan ekstrak bit merah menunjukkan nilai signifikansi sebesar $p = 0,089$ ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua perlakuan tersebut terhadap peningkatan kadar hemoglobin pada mencit anemia defisiensi besi. Dengan demikian, pemberian ekstrak bayam merah dan ekstrak bit merah memiliki efek yang relatif sama dalam meningkatkan kadar hemoglobin.

Namun, pada perbandingan antara ekstrak bayam merah dengan kombinasi ekstrak bayam merah-bit merah diperoleh nilai signifikansi sebesar $p = 0,010$ ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Nilai *mean difference* sebesar -4,880 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bayam merah dan bit merah memberikan peningkatan kadar hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian ekstrak bayam merah secara tunggal.

Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh adanya efek sinergis dari kombinasi kedua bahan tersebut. Bit merah (*Beta vulgaris* L.) mengandung zat besi, asam folat, dan pigmen betalain yang berperan dalam pembentukan sel darah merah dan peningkatan kadar hemoglobin. Sementara itu, bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) kaya akan zat besi, vitamin C, dan senyawa antioksidan yang dapat membantu penyerapan zat besi di usus serta mempercepat proses pembentukan hemoglobin. Ketika kedua ekstrak ini dikombinasikan, kandungan nutrisinya saling melengkapi, sehingga efektivitasnya dalam meningkatkan kadar hemoglobin menjadi lebih optimal.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak bayam merah dan bit merah memiliki kemampuan yang sama dalam meningkatkan kadar hemoglobin, kombinasi keduanya memberikan hasil yang lebih baik dan signifikan secara statistik. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan kombinasi ekstrak bayam merah dan bit merah berpotensi menjadi alternatif alami yang lebih efektif dalam mengatasi anemia defisiensi besi dibandingkan penggunaan salah satu ekstrak saja.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (Dewita *et al.*, 2023) yang melaporkan bahwa bit merah dapat meningkatkan kadar hemoglobin karena kandungan zat besinya yang tinggi dan mudah diserap tubuh. Demikian pula, bayam merah telah terbukti berperan dalam memperbaiki status hemoglobin melalui kontribusi zat besi dan vitamin C yang meningkatkan ketersediaan hayati zat besi non-heme (Basuki *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol bit merah, bayam merah, maupun kombinasi keduanya mampu meningkatkan kadar hemoglobin secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif, sehingga ketiga perlakuan memiliki efektivitas sebagai agen antianemia alami. Selain itu, kombinasi kedua ekstrak memberikan peningkatan kadar hemoglobin yang lebih tinggi daripada ekstrak tunggal dan menunjukkan efektivitas yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif, mengindikasikan adanya efek sinergis antara kandungan zat besi, asam folat, betalain, vitamin C, dan antioksidan dari kedua tanaman tersebut dalam mendukung pembentukan hemoglobin.

DAFTAR PUSTAKA

- Adyani, K., Anwar, A. D., & Rohmawaty, E. (2018). Peningkatan Kadar Hemoglobin dengan Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp*) pada Tikus Model Anemia Defisiensi Besi. *Majalah Kedokteran Bandung*, 50(3), 167–172. <https://doi.org/10.15395/mkb.v50n3.1390>
- Alhidayah, N. (2018). Pengaruh Pemberian Herbal *Medicine* Terhadap Kadar Hemoglobin Mahasiswi Akademi Kebidanan Syekh Yusuf Gowa Di Kec. Somba Opu Kab. Gowa. *Voice of Midwifery*, 6(08), 64–70. <https://doi.org/10.35906/vom.v6i08.25>

- Anggraini, L., Lestariana, W., & Susetyowati, S. (2015). Asupan gizi dan status gizi vegetarian pada komunitas vegetarian di Yogyakarta. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 11(4), 143. <https://doi.org/10.22146/ijcn.22986>
- Basuki, D. R., Prihardini, & Hesturini, R. J. (2023). Aktivitas Antianemia Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus Tricolor* L.) Pada Mencit Yang Diinduksi NaNO₂. *Jurnal Sintesis*, 4(1), 16–25.
- Dewita, D., Prihatin, N. S., & Jasmiati, J. (2023). Peningkatan Kadar Hemoglobin Dengan Ekstrak Bit Merah (*Beta vulgaris* L.) Pada Tikus *Rattus Norvegicus* Bunting Anemia. *Jurnal Ilmiah Kebidanan Imelda*, 9(1), 33–38. <https://doi.org/10.52943/jikebi.v9i1.1182>
- Farmakope Herbal Indonesia, 2017. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II 2017. *Pills and the Public Purse*, 97–103. <https://doi.org/10.2307/jj.2430657.12>
- Febriyenti, Suharti, N., Lucida, H., Husni, E., & Sedona, O. (2018). Karakterisasi dan Studi Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Sains Farmasi Dan Klinis*, 5(1), 23–27.
- Hainil, S., Sammulia, S. F., & Adella, A. (2022). Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* Ekstrak Metanol Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*). *Jurnal Surya Medika*, 7(2), 86–95. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i2.3210>
- Harahap, N. R. (2018). Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Anemia Pada Remaja Putri. *Nursing Arts*, 12(2). <https://doi.org/10.52742/jgkp.v4i2.177>
- Kemendes. (2023). Survei Kesehatan Indonesia (SKI) Dalam Angka.
- Mailloux, R. J., Lemire, J., & Appanna, V. D. (2011). *Hepatic response to aluminum toxicity: Dyslipidemia and liver diseases*. *Experimental Cell Research*, 317(16), 2231–2238. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.07.009>
- Maulina, N., Amalasari, G., Strain, M. L., & Ditsch, D. (2018). Perbandingan Efektivitas Madu dengan Ekstrak Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.) Strain Double Ditsch Webster. *Comparison of Honey with Bit Fruit Extract (Beta vulgaris L.) Effe*. *Jurnal Umsu*, 1(3), 167–178.
- Mudhofir, L. M. F., Purwanti, A. S., & Sulistiyah. (2024). Pengaruh Pemberian Jus Buah Bit Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Remaja Putri dengan Anemia Ringan di SMP Terpadu Ponorogo. 6(2), 732–744.

- Nagao, T., & Hirokawa, M. (2017). *Diagnosis and treatment of macrocytic anemias in adults. Journal of General and Family Medicine, 18(5), 200–204.*
<https://doi.org/10.1002/jgf2.31>
- Ningrum, N., Setiadi, D., & Sari, M. (2022). Diagnosis Dan Tatalaksana Anemia Defisiensi Besi Pada Anak Usia 0 – 18. *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti, 8(1), 99–111.* <https://doi.org/10.25105/pdk.v8i1.15079>
- Nurbadriyah, W. D. (2019). *Anemia Defisiensi Besi.* Cv Budi Utama.
<https://ipusnas2.perpusnas.go.id/read-book>
- Pratiwi, D., & Nurmaliza. (2020). Pembuatan Lipstik Herbal Dari Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L*), Kunyit (*Curcuma Domestica*) Dan Umbi Buah Bit (*Beta Vulgaris L*) Sebagai Pewarna Alami. *Jurnal Farmasi Higea, 12(2), 153–161.*
- Rizki, M. I. (2021). Review: *Phytotherapy In Anemia (Phytotherapy of Anemia: A Review).* *J. Curr. Pharm. Sci, 5(1), 454–463.*
- Saula, L. S., Hermawan, K., Hasna, V. L., Lubis, C. F., Putri, G. K., & Andini, S. D. (2020). Artikel: Buah Bit (*Beta vulgaris L.*) Sebaga Antianemia. *Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Singaperbangsa Karawang, 53(9), 14–16.*
- T, G., E, D., R, Z., I, P., M, V., & B, K. (1998). *Influence of aluminium on erythropoiesis, iron metabolism and some functional characteristics of erythrocytes in rats. Acta Physiol Pharmacol Bulg., 23(1), 27–31.* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10347617/>