

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)
TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN HEMATOKRIT TIKUS
JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI
NATRIUM NITRIT**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains*



**Oleh:
SYAFRINA YUANDRY
NIM. 20032098/2020**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2024**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN HEMATOKRIT TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI NATRIUM NITRIT

Nama : Syafrina Yuandry
NIM : 20032098
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 18 Maret 2024

Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Disetujui Oleh,
Pembimbing



Dr.dr Elsa Yuniarti, S.Ked.,M.Biomed.,AIFO-K
NIP. 19820623 20081 2 2002

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

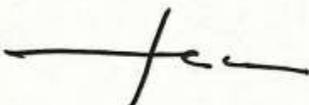
Nama : Syafrina Yuandry
NIM/TM : 20032098/2020
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul **“PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN DAN HEMATOKRIT TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI NATRIUM NITRIT”** adalah benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat dan ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 20 Mei 2024

Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

Saya yang menyatakan,



Syafrina Yuandry
NIM. 20032098

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Syafrina Yuandry
NIM/TM : 20032098/2020
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP
KADAR HEMOGLOBIN DAN HEMATOKRIT TIKUS JANTAN
(*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI NATRIUM NITRIT**

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Departemen
Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 20 Mei 2024

Tim Penguji

Nama

Tanda Tangan

Ketua : Dr. dr. Elsa Yuniarti, S.Ked., M.Biomed., AIFO-K

Anggota : Yusni Atifah, S.Si., M.Si

Anggota : Dr. Helendra, MS.



The image shows three handwritten signatures in black ink, each written above a horizontal line. The first signature is at the top, the second in the middle, and the third at the bottom. The signatures are somewhat stylized and difficult to read.

Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar Hemoglobin dan Hematokrit Tikus Jantan (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Natrium Nitrit

Syafrina Yuandry

ABSTRAK

Darah adalah cairan di dalam tubuh yang memiliki fungsi utama sebagai pengangkut oksigen. Kelainan darah yang sering terjadi adalah anemia. Anemia disebabkan oleh rendahnya zat besi di dalam darah. Salah satu tanaman herbal yang dapat digunakan untuk mengatasi anemia adalah tanaman kelor. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit serta mengetahui dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang paling berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan aplikasi SPSS 25 dan jika nilai probabilitas $< 0,05$ ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji lanjut LSD (*Least Significance Different*) dengan perbedaan signifikan 5%. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2023 sampai Maret 2024 di Rumah Hewan dan Laboratorium Penelitian Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang serta Rumah Sakit Hewan Sumatera Barat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berpengaruh signifikan terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit. Dosis ekstrak daun kelor yang paling berpengaruh dalam meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit yaitu dosis 600 mg/kgBB.

Kata kunci: Anemia, Hematokrit, Hemoglobin, Natrium nitrit, Tanaman Kelor

Effect of Moringa Leaf Extract (*Moringa oleifera*) to Levels on Hemoglobin and Hematocrit of Male Rats (*Rattus Norvegicus*) Induced by Sodium Nitrite

Syafrina Yuandry

ABSTRACT

Blood is a fluid in the body which has the main function of transporting oxygen. The blood disorder that often occurs is anemia. Anemia is caused by low iron in the blood. One herbal plant that can be used to treat anemia is the *Moringa plant*. The aim of this study was to determine the effect of *Moringa oleifera* leaf extract on the hemoglobin and hematocrit levels of male rats (*Rattus norvegicus*) induced by sodium nitrite and to determine the dose of *Moringa oleifera* leaf extract that had the greatest effect on the hemoglobin and hematocrit levels of male rats (*Rattus norvegicus*) induced by sodium nitrite.

This research is an experimental study using a Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 5 replications. The data obtained were analyzed using the ANOVA (Analysis of Variance) test using the SPSS 25 application and if the probability value < 0.05 ($p < 0.05$) then continued with the LSD (Least Significance Different) test with a significant difference of 5%. The research was conducted from December 2023 to March 2024 at the Animal House and Research Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University and the West Sumatra Animal Hospital.

The results showed that *Moringa oleifera* leaf extract had a significant effect on the hemoglobin and hematocrit levels of male rats (*Rattus norvegicus*) which were induced by sodium nitrite. The dose of *Moringa leaf* extract that has the most influence in increasing hemoglobin and hematocrit levels is 600 mg/kgBB.

Keywords: Anemia, Hematocrit, Hemoglobin, Sodium nitrite, Moringa Plants.

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar Hemoglobin dan Hematokrit Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Natrium Nitrit”. Shalawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad Shallallahu ‘alaihi wasallam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. dr. Elsa Yuniarti, S.Ked., M.Biomed., AIFO-K. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk pembimbing dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Helendra, MS. dan Ibu Yusni Atifah, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Prof. Dr. Linda Advinda, M.Kes. selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis hingga sampai saat ini.
4. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed. sebagai ketua Departemen Biologi dan program studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

5. Bapak dan Ibu staf Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
6. Kedua orang tua saya, ayahanda Andri Syafri dan ibunda Yusnelly. Terimakasih untuk segala kerja keras serta kepercayaan yang diberikan kepada penulis, mustahil penulis mampu melewati semua permasalahan yang penulis alami selama ini jika tanpa doa, ridha, dan dukungan dari beliau.
7. Keluarga besar Biologi 2020 yang selalu memberikan doa dan dukungannya. Semoga segala bantuan, bimbingan, dukungan, dan petunjuk yang telah diberikan kepada penulis menjadi amal ibadah dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Semoga skripsi yang penulis selesaikan dapat bermanfaat bagi kita semua dengan mengharap kritik dan saran yang membangun guna kesempurnaan skripsi ini.

Padang, 13 Maret 2024

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Hipotesis Penelitian.....	6
E. Manfaat Penelitian	6
BAB II KERANGKA TEORITIS	7
A. Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	7
B. Darah.....	9
C. Dampak Natrium Nitrit Terhadap Darah	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	15
A. Jenis Penelitian.....	15
B. Waktu dan Tempat	15
C. Alat dan Bahan.....	15
D. Populasi dan Sampel	16
E. Rancangan Penelitian	17
F. Prosedur Penelitian.....	17
G. Analisis Data	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. Hasil Penelitian	25
B. Pembahasan.....	30
BAB V PENUTUP	39
A. Kesimpulan	39

B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Tanaman Kelor	8
2. Molekul Hemoglobin	11
3. Kerangka Berpikir.....	14
4. Bagan Persiapan Ekstrak Daun Kelor	23
5. Bagan Pelaksanaan Penelitian.....	24
6. Kadar Hemoglobin Tikus Jantan Setelah Pemberian Natrium Nitrit dan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Kelor	28
7. Persentase Hematokrit Tikus Jantan Setelah Pemberian Natrium Nitrit dan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Kelor	28

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Nilai Peningkatan Hemoglobin Setelah Pemberian Ekstrak Daun Kelor	27
2. Nilai Peningkatan Hematokrit Setelah Pemberian Ekstrak Daun Kelor	29

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Data Berat Badan Tikus	46
2. Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Kelor	46
3. Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin Tikus Jantan	49
4. Hasil Pengukuran Persentase Hematokrit Tikus Jantan.....	50
5. Hasil <i>One Way Anova</i> Hemoglobin Setelah Induksi Natrium Nitrit	51
6. Hasil <i>One Way Anova</i> Hemoglobin Setelah Induksi Ekstrak Daun Kelor.....	53
7. Hasil <i>One Way Anova</i> Hematokrit Setelah Induksi Natrium Nitrit	55
8. Hasil <i>One Way Anova</i> Hematokrit Setelah Induksi Ekstrak Daun Kelor	57
9. Keterangan Layak Etik Hewan Coba	59
10. Dokumentasi Penelitian	60

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Anemia menjadi salah satu permasalahan kesehatan dunia yang saat ini marak terjadi baik di negara berkembang maupun di negara maju seperti Indonesia. Anemia merupakan suatu kondisi yang ditandai dengan jumlah sel darah merah pada tubuh yang rendah sehingga mengakibatkan terjadinya *oxygen-carrying capacity* yang tidak mencukupi untuk memenuhi kebutuhan fisiologis tubuh manusia dalam keadaan normalnya (Reni, 2018). Anemia dapat disebabkan oleh berbagai faktor, di antaranya yaitu terjadi peningkatan kebutuhan zat besi di dalam tubuh, kurangnya asupan zat besi, infeksi, dan pendarahan pada saluran cerna yang dapat menimbulkan berbagai gejala seperti lemah, keadaan hiperdinamik, nadi yang berdenyut lebih cepat, dan jantung berdebar (Fitriany dan Intan, 2018).

Anemia ditandai dengan berkurangnya kadar hemoglobin dan diikuti dengan penurunan persentase hematokrit di dalam tubuh, penurunan hematokrit ini disebabkan oleh berbagai faktor seperti gizi buruk, kekurangan vitamin B, kekurangan vitamin C serta kondisi dehidrasi dan hipovolemia sedangkan peningkatannya dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti makanan yang bergizi serta gaya hidup dimana peningkatan persentase hematokrit ini akan sejalan dengan peningkatan jumlah hemoglobin di dalam darah (Syuhada *et al.*, 2020).

Hemoglobin merupakan kompleks protein pigmen berwarna merah yang di dalamnya mengandung besi ferro serta empat rantai globin (Sartika *et al.*, 2022). Hemoglobin memiliki fungsi utama sebagai pengangkut oksigen dan karbon dioksida ke seluruh jaringan tubuh dan komponen penting dalam pembentukannya

adalah zat besi (Furqonita, 2007). Zat besi di dalam tubuh manusia memiliki kebutuhan yang berbeda per harinya karena dipengaruhi oleh berbagai kondisi fisiologis, seperti menstruasi, menyusui, kehamilan, dan masa pertumbuhan (Kurniati, 2020).

Zat besi merupakan mikroelemen esensial bagi tubuh yang diperlukan dalam pembentukan molekul hemoglobin, apabila jumlah simpanan zat besi pada tubuh tercukupi maka pembentukan hemoglobin juga akan terpenuhi, sebaliknya jika simpanan zat besi tidak tercukupi maka akan terjadi ketidakseimbangan zat besi pada tubuh (Sundari dan Nuryanto, 2016). Zat besi memiliki beberapa peran penting di dalam tubuh, diantaranya yaitu mendistribusikan oksigen ke seluruh sel tubuh manusia, membentuk kolagen serta sebagai komponen utama dalam pengikatan oksigen yang terdapat di dalam hemoglobin pada tubuh, sehingga apabila tubuh mengalami kekurangan zat besi hal ini akan menyebabkan terganggunya pembentukan hemoglobin, dan selanjutnya akan menyebabkan terjadinya anemia (Taufiq, 2020).

Selain karena kurangnya zat besi di dalam tubuh, anemia juga dapat terjadinya karena adanya oksidasi hemoglobin di dalam tubuh yang disebabkan oleh zat kimia tertentu yang dapat dijumpai pada bahan pengawet makanan. Bahan pengawet makanan ini umumnya digunakan untuk mengawetkan berbagai jenis makanan yang memiliki sifat mudah rusak (Suryani *et al.*, 2017), salah satu contoh zat kimia tersebut adalah natrium nitrit.

Natrium nitrit merupakan salah satu jenis zat kimia yang sering digunakan dalam pengawetan berbagai jenis daging olahan seperti nugget, sosis, dan kornet hal ini karena natrium nitrit memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan

bakteri *Clostridium botulinum* yang ada pada produk daging olahan tersebut (Habibah *et al.*, 2018). Natrium nitrit dengan kandungan yang tinggi dalam berbagai produk makanan yang saat ini sering dikonsumsi dapat menimbulkan berbagai dampak buruk yang membahayakan bagi kesehatan manusia, salah satunya yaitu terjadinya *stress oxidative* pada tubuh yang dapat menyebabkan teroksidasi nya hemoglobin pada darah dimana hal ini akan mengakibatkan anemia karena terjadinya penurunan kadar hemoglobin di dalam darah (Rini, 2012).

Anemia dapat diatasi dengan dua cara yaitu secara kimia dan alami, penyembuhan anemia dengan cara kimia dapat dilakukan dengan mengkonsumsi obat tambah darah, namun penggunaan obat kimia memiliki beberapa efek samping bagi tubuh seperti memiliki resistensi yang tinggi dan terakumulasi di dalam tubuh (Pertiwi *et al.*, 2020), selain itu pengkonsumsian obat kimia dalam jangka panjang juga memiliki efek samping yang berbahaya terhadap ginjal dan hati (Amanda dan Atifah, 2022) oleh karena itu, banyak penelitian menganjurkan untuk memilih obat alami, salah satu contoh tanaman yang dapat dikonsumsi sebagai alternatif obat alami bagi penderita anemia adalah tanaman kelor.

Tanaman kelor merupakan tanaman yang biasanya dimanfaatkan sebagai sayuran dan tanaman obat, hampir semua bagian dari tanaman kelor dapat dijadikan sebagai sumber makanan dan pengobatan penyakit tertentu (Hendarto, 2019). Tanaman kelor memiliki kandungan vitamin A dan C yang cukup tinggi, selain itu tanaman kelor juga mengandung gizi yang sangat banyak, yang terdiri dari phytochemical, yaitu senyawa kimia atau nutrisi alami yang terdapat pada tumbuhan yang bermanfaat untuk melindungi tubuh dari serangan bakteri dan virus, vitamin, mineral, protein, asam amino, kalsium (Ca), fosfor dan zat besi (Fe) yang

tinggi (Nadjib, 2019). Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Zaddana *et al.* (2022) yang menyebutkan bahwa daun kelor memiliki kandungan zat besi yang tinggi, dimana dalam formulasi 40% tepung daun kelor di dalamnya terdapat kandungan zat besi sebanyak 31,51 mg/kg, dan dari hasil pengujian parameter zat besi tersebut maka dinyatakan bahwa daun kelor dapat dijadikan sebagai salah satu pangan fungsional yang digunakan untuk penambahan asupan zat besi harian yang diperlukan oleh tubuh.

Tanaman kelor dapat dijadikan sebagai bahan alami untuk meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit dalam darah pada penderita anemia karena pengonsumsi daun kelor secara teratur dapat meningkatkan kadar hemoglobin di dalam tubuh, jika kadar hemoglobin di dalam tubuh tercukupi maka anemia akan teratasi (Sulasmi *et al.*, 2023). Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fauziandari (2019) yang menunjukkan bahwa rerata kadar hemoglobin setelah mengonsumsi ekstrak daun kelor lebih tinggi daripada rata-rata kadar hemoglobin sebelum mengonsumsi ekstrak daun kelor. Penelitian Anwar *et al.* (2020) juga telah membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun kelor dalam bentuk kapsul dapat memberikan pengaruh dalam peningkatan kadar hemoglobin dalam darah setelah 2 bulan intervensi dengan peningkatan dapat mencapai 40% - 46.6%.

Tanaman kelor dalam pemanfaatannya sebaiknya diubah dalam bentuk ekstrak untuk menjaga kandungan gizi dan manfaatnya, hal ini karena tanaman yang sudah di olah dalam bentuk ekstrak akan lebih mudah terserap oleh tubuh karena telah melalui berbagai proses, dimana hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hartati dan Sunarsih (2021) yang menyebutkan bahwa kandungan

gizi yang terdapat dalam daun kelor segar akan lebih terjaga kandungannya apabila dikonsumsi setelah dikeringkan dan dihaluskan dalam bentuk serbuk atau tepung. Kandungan zat besi di dalam 100 gram daun kelor yang sudah dikeringkan memiliki kandungan yang lebih tinggi yaitu 28,2 gram dibandingkan daun kelor segar yang memiliki kandungan zat besi 0,85 gram (United States Departement of Agriculture dalam Angelina *et al.*, 2021).

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan, ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berpotensi untuk dijadikan obat dalam meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit. Berdasarkan hal tersebut penelitian tentang pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit perlu dilakukan.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit?
2. Berapakah dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang paling berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit.

2. Mengetahui jumlah dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang paling berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit.

D. Hipotesis Penelitian

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berpengaruh terhadap kadar hemoglobin dan hematokrit tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi natrium nitrit.

E. Manfaat Penelitian

1. Dapat digunakan sebagai referensi pengetahuan dan menambah referensi kepustakaan.
2. Sebagai data awal untuk penelitian selanjutnya.
3. Menambah pengetahuan mengenai pemanfaatan daun kelor dalam meningkatkan kadar hemoglobin dan hematokrit
4. Menambah wawasan pengetahuan di bidang fisiologi hewan.