

**EFEK HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) PADA TIKUS *Sprague Dawley* YANG DIINDUKSI 7,12-DIMETILBENZ( $\alpha$ )ANTRASEN: KAJIAN AKTIVITAS SGPT, SGOT, ALP, DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF EXTRACT ETHANOLIC OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.) CALYX ON 7,12-DIMETHYLBENZ( $\alpha$ )ANTRACENE INDUCED *Sprague Dawley* RATS: STUDY ON SGPT, SGOT, ALT ACTIVITY AND LIVER HISTOPATHOLOGY**

**MUHAMMAD RYAN RADIX RAHARDHIAN, MULYADI, NURKHASANAH**  
Fakultas Pascasarjana Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

**INTISARI**

Hati merupakan pusat dari metabolisme tubuh. Radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan hati seperti 7,12-dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) memiliki aktivitas sebagai penghambat radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanol kelopak bunga rosella (EEKBR) terhadap aktivitas *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT), *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan Alkalin fosfatase (ALP) serta gambaran Histopatologi hati tikus putih galur *Sprague Dawley* (SD) yang diinduksi DMBA.

Tikus putih betina galur SD umur 4 minggu sejumlah 45 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok diinduksi DMBA dosis 15 mg/ekor *single dose*, serta kelompok diinduksi DMBA dosis 15 mg/ekor *single dose* dan (EEKBR) masing-masing dengan dosis 10, 50 dan 100 mg/Kg BB/hari. Gewan dipuaskan selama 16 jam sebelum *sampling*. Kemudian hewan dikorbankan dan organ diamati menggunakan pengecatan hematoksin and eosin, selanjutnya diukur aktivitas SGPT, SGOT dan ALP. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Anova, *Least Significant Difference*, *Kruskal-wallis* dan *Mann-whitney*. Penetapan kadar Polifenol dan Flavonoid menggunakan perbandingan masing-masing Asam galat dan Kuersetin.

Efek Hepatoprotektor pada tikus SD yang diinduksi DMBA ditunjukkan dengan penurunan aktivitas SGPT pemberian EEKBR dosis 100 mg/kgBB ( $43 \pm 9,3$ ) dibandingkan pemberian DMBA ( $57 \pm 9,7$ ) ( $p < 0,05$ ) pada perlakuan hari ke 7 dan dosis 100 mg/kgBB ( $35 \pm 4,4$ ) dibandingkan pemberian DMBA ( $52 \pm 2,2$ ) ( $p < 0,05$ ) pada perlakuan hari ke 34; menurunkan aktivitas SGOT pada pemberian EEKBR dosis 10, 50 dan 100 mg/kgBB ( $132 \pm 7,1$ ), ( $130 \pm 26$ ) dan ( $155 \pm 18$ ) dibandingkan pemberian DMBA ( $196 \pm 18$ ) ( $p < 0,05$ ) pada perlakuan hari ke 7, EEKBR dosis 50 dan 100 mg/kgBB ( $117 \pm 6,7$ ) dan ( $91 \pm 15$ ) ( $p < 0,05$ ) pada perlakuan hari ke 34; menurunkan aktivitas ALP pada pemberian EEKBR dosis 10, 50 dan 100 mg/kgBB ( $3,3 \pm 0,5$ ), ( $8,8 \pm 5,2$ ) dan ( $3 \pm 1$ ) dibandingkan pemberian DMBA ( $37 \pm 4,7$ ) ( $p < 0,05$ ) pada perlakuan hari ke 7.

Lama perlakuan ekstrak pada hari ke 7 dan hari ke 34 menunjukkan perbedaan yang signifikan pada dosis 50mg/kgBB pada aktivitas SGPT; dosis 100 mg/kgBB pada aktivitas SGOT; dosis 10 mg/kgBB dan 100mg/kgBB pada aktivitas Alkalin fosfatase. Gambaran Histopatologi hati tikus SD pada perlakuan hari ke 7 menunjukkan degradasi melemak sebesar 25% pada dosis 100 mg/kgBB; perlakuan hari ke 34 menunjukkan degradasi melemak sebesar 20% pada dosis 10 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan degradasi melemak sebesar 0% pada dosis 50 mg/kgBB.

Kata Kunci :Hepatoprotektor, Rosella,DMBA, SGPT, SGOT, ALP, Histopatologi hepar.

**ABSTRACT**

Liver is the center of the body's metabolism. Free radical include 7,12-dimethylbenz ( $\alpha$ ) anthracene (DMBA) could damage the liver. Previous studing reported free scavenging of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.). The aim of this study was to investigate the effect of ethanolic extract from Roselle Calyx (EEKBR) on activity of Glutamic Pyruvic Transaminase Serum (SGPT), Glutamic Oxaloacetic Transaminase Serum (SGOT) and Alkaline phospatase (ALP) and liver histopathologic profile of *Sprague Dawley* (SD) rats induced by (DMBA).

Forty-five SD rats age of 4 weeks were divided into 5 groups: Normal, control (DMBA dose of 15 mg/rat single dose), DMBA dose 15 mg/rat single dose and EEKBR 10, 50, 100mg/kg BW. On day 7 (total of 4 test animals) and at day 34 (by 5 test animals). Animal were fasted for 16 hours before sampling. after that, the animal were sacrificed and organ were observed using hematoxylin and eosin staining, measured SGPT, SGOT, ALP activity. Data were analyzed using Anova, Least Significant Difference, Kruskal-wallis and Mann-whitney. Content of Polifenol dan Flavonoid use standard gallic acid and quercetin.

Hepatoprotective activity showed to reduce the activity of SGPT in EEKBR administration at a dose of 100 mg/kg BW ( $43 \pm 9.3$ ) compared the activity of DMBA ( $57 \pm 9.7$ ) ( $p < 0.05$ ) on 7 days treatment and dose 100 mg/kg BW ( $35 \pm 4.4$ ) compared the activity of DMBA ( $52 \pm 2,2$ ) ( $p < 0.05$ ) on 34 days treatment; decrease the activity of SGOT in EEKBR administration at a dose of 10, 50 and 100 mg/kg BW in respectively ( $132 \pm 7.1$ ), ( $130 \pm 26$ ) and ( $155 \pm 18$ ) compared the activity of DMBA ( $196 \pm 18$ ) ( $p < 0.05$ ) on 7 days treatment and dose 50 and 100 mg/kg BW respectively ( $117 \pm 6.7$ ), and ( $91 \pm 15$ ) ( $p < 0.05$ ) on days 34 treatment; decrease the activity of ALP activity in EEKBR giving a dose of 10, 50 and 100 mg/kg BW in respectively ( $3.3 \pm 0.5$ ), ( $8.8 \pm 5.2$ ) and ( $3 \pm 1$ ) compared the activity of DMBA ( $37 \pm 4.7$ ) ( $p < 0,05$ ) on 7 days treatment.

Treatment duration extract on day 7 and day 34 showed a significant difference in the dose of 50 mg/kgBW on SGPT activity; a dose of 100 mg/kgBW on the activity of SGOT activity; a dose of 10 mg/kgBB and 100 mg/kgBB on Alkaline phospatase. Histopathology liver of rat SD on 7 day treatment shows lipid degradation 25% at a dose of 100 mg/kgBW; on 34 day treatment to show lipid degradation 20% at a dose of 10 mg/kgBW, 100 mg/kg BW and lipid degradation 0% at a dose of 50 mg/kgBW.

Key Word :Hepatoprotective, Roselle, DMBA, SGPT, SGOT, ALP, Liver Histopathology.

## Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif karena kehilangan satu atau lebih elektron yang bermuatan listrik, dan untuk mengembalikan keseimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Dalimartha & Soedibyo, 1998).

Salah satu radikal bebas adalah senyawa 7,12-dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen (DMBA) yang banyak terdapat pada asap rokok, asap kendaraan bermotor dan asap dapur (Farombi *et al.*, 2004). DMBA merupakan karsinogen sekunder (prokarsinogen), sehingga harus mengalami aktivasi metabolisme (biotransformasi) untuk

menghasilkan karsinogen aktif. Proses metabolisme menghasilkan DMBA menjadi senyawa yang lebih toksik. Alur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P<sub>450</sub> menjadi intermediate reaktif yang dapat merusak DNA. Enzim sitokrom P<sub>450</sub> CYP1A1 atau CYP1B1 dan enzim mikrosomal hidrolase pada metabolisme fase 1 merubah DMBA menjadi DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida (DMBA-DE). DMBA-DE dan senyawa *xenobiotic* PAH lainnya mengakibatkan pembentukan radikal reaktif yang bersifat destruktif, imunotoksik dan hepatotoksik (Gao *et al.*, 2007).

Banyaknya paparan radikal bebas yang terdapat di lingkungan sehingga sangat besar kemungkinan radikal bebas tersebut berikatan dengan sel di dalam tubuh kita. DMBA dimetabolisme di hati dan akan menjadi senyawa yang reaktif setelah mengalami

metabolisme, hal ini kemungkinan dapat menyebabkan kerusakan hati. Sel hati atau hepatosit mengandung berbagai enzim, beberapa diantaranya penting untuk diagnostik kerusakan hati karena enzim tersebut dialirkan ke pembuluh darah. Aktivitasnya dapat diukur sehingga dapat menunjukkan adanya penyakit hati. Enzim hati yang dapat dijadikan pertanda kerusakan hati antara lain aminotransferase (transaminase) dan Alkaline fosfatase (ALP) (Sari, 2008). Golongan enzim aminotransferase adalah *serum alanine amino transferase* (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase atau SGPT) dan *serum aspartate aminotransferase* (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase atau SGOT). Enzim-enzim tersebut merupakan indikator yang spesifik untuk menentukan kerusakan sel hati. Alkaline fosfatase (ALP) merupakan kelompok enzim yang bekerja menghidrolisis ester fosfat pada suasana Alkaline. Kadar ALP tertinggi di dalam tubuh terdapat pada sel-sel yang mengalami pembelahan dengan cepat seperti epitel usus, jaringan sel tubulus proksimal ginjal dan plasenta. Peningkatan kadar enzim-enzim ini mencerminkan adanya kerusakan sel-sel hati.

Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik maka antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih (Rohdiana, 2001). Antioksidan alami yang telah diteliti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi salah satunya adalah Rosella. Rosella secara tradisional digunakan untuk pengobatan hipertensi (Faraji dan Tarkhani, 1999), inflamasi (Dafallah dan al-Mustafa, 1996), dan mutagenik (Chewonarin *et al.*, 1999). Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) mengandung senyawa fenolik yaitu antosianin pada kelopak bunganya. Gossypetin, antosianin, vitamin C, vitamin D, vitamin B. Ekstrak larut air dari rosella memiliki aktivitas antioksidan seperti *protocatechuic acid* (Liu *et al.*, 2002) dan *anthocyanins* (Ali *et al.*, 2003) yang mana dapat melindungi kerusakan hati yang diinduksi CCL<sub>4</sub> (Myara *et al.*, 1987). Pada penelitian ini ada 2 lama perlakuan yang diberikan yaitu perlakuan jangka pendek selama 6 hari untuk mengetahui efek akut dan perlakuan jangka panjang selama 33 hari untuk mengetahui efek sub kronis.

Berdasarkan uraian diatas serta didukung penelitian yang sebelumnya maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol kelopak bunga rosella (EEKBR) sebagai antioksidan yang potensial untuk melindungi hati tikus *Sprague Dawley* (SD) dari kerusakan yang disebabkan oleh induksi DMBA, dengan mengukur aktivitas SGPT, SGOT dan ALP serta gambaran Histopatologi hati tikus SD.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Timbangan analitik, gelas ukur, beaker glass, batang pengaduk, corong *Buchner*, labu, kertas saring, kompor listrik, alat penggilingan, ayakan mesh 10, labu takar, *erlenmeyer*, kandang tikus, botol air minum, spuit injeksi untuk DMBA 1,0 ml, spuit oral ukuran 5 ml, spuit untuk mengambil darah ukuran 5 ml (Terumo), alat bedah, Pengukuran aktivitas SGPT, SGOT dan ALP : spektrofotometer.

### Bahan

Rosella, Etanol, asam gallat standar, reagen folin, Mencit, Pakan, DMBA, *Corn Oil*, Tween 20, NaCl 0,9%, aquadest, kloroform, Formalin 10 %, Zat warna (hematoksin dan eosin), reagen kit SGPT-SGOT Dyasis® yang terdiri dari: Reagen SGPT (reagen I) Tris, L-alanin, laktat dehidrogenase, reagen SGPT (reagen II) 2-oksoglutarat, NADH. Reagen SGOT (reagen I) Tris, L-aspartat, malat dehidrogenase, laktat dehidrogenase, reagen SGOT (reagen II) 2-oksoglutarat, NADH, dan reagen kit Dyasis® ALP yang terdiri dari (reagen 1) *diethanolamine* pH 9,8 1,2 mmol/L dan *magnesium chloride* 0,6 mmol/L; (reagen 2) *p-nitrophenylphosphate* 50 mmol/L.

### Ekstraksi

Seribu lima ratus gram serbuk kelopak bunga rosella diekstraksi dengan pelarut etanol 70% 6000 mL (1:4) menggunakan metode maserasi dengan pengadukan selama kurang lebih 3 jam, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 60 °C dan dipekatkan diatas *waterbath* dengan suhu 60-70 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol kelopak bunga rosella ditimbang dan dihitung rendemennya (Anonim, 2004).

### **Penetapan kadar flavonoid**

Penetapan kadar total flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen aluminium klorida sesuai prosedur Chang. Menimbang 50 mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol 50 ml di encerkan hingga garis batas. Larutan tersebut sebagai larutan induk yang selanjutnya di encerkan dengan etanol sehingga diperoleh minimal 7 konsentrasi yang berbeda. Tiap konsentrasi di pipet sebanyak 2 mL larutan kemudian ditambahkan dengan 0,1 ml aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) 10% yang telah dilarutkan dengan etanol, 0,1 ml Na Asetat, 2,8 ml aquadest kemudian divortex, inkubasi campuran larutan pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 430 nm dengan menggunakan larutan blangko.

### **Penetapan Kadar Fenolik Total**

Penetapan kadar polifenol pada sampel dibuat dengan menimbang sebanyak 50,0 mg ekstrak etanol kelopak merah bunga rosella dilarutkan sampai volume 50,0 ml dengan campuran etanol : aquades (1:1). Larutan ekstrak yang diperoleh dipipet 300  $\mu$ l dan ditambah 1,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 ml larutan  $Na_2CO_3$  7,5% dan didiamkan lagi pada range *operating time* pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum,

### **Perlakuan hewan uji**

Hewan uji yang dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ml/tikus tikus SD dengan lama waktu percobaan 6 hari dan 5 ml/tikus tikus SD dengan lama waktu percobaan 33 hari, pengelompokkan hewan uji sebagai berikut:

Kelompok I Normal (*Base line*), tidak diberi perlakuan, hanya diberi pakan standar dan minum aquadest. Kelompok II merupakan kelompok yang diberi DMBA 15 mg/ml/tikus melalui *intragastric* secara *single dose* dan pelarut *corn oil* yang diberikan selama perlakuan.

Kelompok III, IV dan V merupakan kelompok perlakuan yang di beri DMBA, pelarut *corn oil* dan ekstrak dengan masing-masing dosis pemberian 10 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB ekstrak etanol kelopak bunga rosella (EEKBR). Tikus

ditimbang setiap minggu untuk mengetahui perkembangan berat badan.

### **Penetapan aktivitas SGOT**

Penetapan aktivitas SGOT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen kit Dyasis® SGOT (R1) TRIS pH 7,65 sebanyak 110 mmol/L, *L-aspartate* 320 mmol/L, MDH (*malate dehidrogenase*)  $\geq$  800 U/L dan LDH (*laktate dehidrogenase*)  $\geq$  1200 U/L; reagen SGOT (R2) 2-*oksoglutarate* 65 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran R1 dan R2 dengan perbandingan 4 : 1. Sebanyak 600  $\mu$ l reagen kit SGOT direaksikan dengan 60  $\mu$ l sampel, *divortex* dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Prosedur penetapan aktivitas SGOT berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®.

### **Penetapan aktivitas SGPT**

Penetapan aktivitas SGPT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen kit Dyasis® SGPT (reagen I) TRIS pH 7,15 sebanyak 140 mmol/L, *L-alanine* 700 mmol/L dan LDH (*laktate dehidrogenase*)  $\geq$  2300 U/L; reagen SGPT (reagen II) 2-*oksoglutarate* 85 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran reagen I dan reagen 2 dengan perbandingan 4 : 1. Sebanyak 600  $\mu$ l reagen kit SGPT direaksikan dengan 60  $\mu$ l sampel, *divortex* dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Prosedur penetapan aktivitas SGPT berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®.

### **Pemeriksaan Alkalin Fosfatase (ALP)**

Penetapan aktivitas ALP ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatik menggunakan reagen kit Dyasis® ALP yang terdiri dari (reagen 1) *diethanolamine* pH 9,8 sebanyak 1,2 mmol/L dan *magnesium chloride* 0,6 mmol/L; (reagen 2) *p-nitrophenylphosphate* 50 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran reagen I dan reagen 2 dengan perbandingan 4 : 1. Sebanyak 600  $\mu$ l reagen kit ALP direaksikan dengan 12  $\mu$ l sampel, *divortex* dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 405 nm. Prosedur penetapan

aktivitas ALP berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®.

### **Pemeriksaan Histopatologi**

Organ hati yang telah diambil kemudian dicuci dengan NaCl 0,9% selanjutnya dimasukkan dalam pot ditimbang bobot heparnya kemudian dimasukkan dalam larutan formalin 10% dan organ hepar diperiksa. Jaringan yang telah difiksasi kemudian didehidrasi dengan alkohol mulai dari konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% masing-masing selama 24 jam dilanjutkan dengan alkohol 100% selama 1 jam yang diulang tiga kali. Setelah dehidrasi dilanjutkan dengan penjernihan dengan menggunakan xilol sebanyak tiga kali masing-masing selama satu jam, dilanjutkan dengan infiltrasi parafin. Jaringan kemudian ditanam dalam media parafin. Berikutnya dilakukan penyayatan dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil sayatan dilekatkan pada kaca objek, kemudian diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Pemeriksaan Histopatologi berdasarkan prosedur kerja yang diterapkan di laboratorium Patologi Anatomi Kedokteran Hewan UGM.

### **Analisis Data**

Analisis data SGPT, SGOT dan Alkalin fosfatase untuk membandingkan antar kelompok perlakuan dilakukan dengan menguji data normalitas dan homogenitas data dengan taraf kepercayaan 95 %. Uji normalitas dilakukan dengan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas yaitu uji Levene untuk mengetahui homogenitas data. Data dikatakan terdistribusi normal dan homogen jika nilai signifikansi lebih dari 0,05. Apabila data homogen dan terdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan uji uji Anova yang dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Jika data homogen dan tidak terdistribusi normal atau sebaliknya dan atau keduanya maka dilanjutkan uji Kurskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Data dikatakan berbeda bermakna jika nilai signifikansi kurang dari 0,05.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Analisis kadar Fenolik**

Prinsip reaksi fenolik ini adalah adanya reaksi reduksi dari gugus fenolik terhadap asam heteropoli (fosfomolibdat-

fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi Folin-Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat diukur serapannya dengan spektrofotometer visibel. Untuk menciptakan suasana basa digunakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5 % (natrium karbonat). Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat

Hasil penetapan kandungan fenolik total diperoleh  $y = 0,003x + 0,098$  dan  $r = 0,9994$ , dimana  $x =$  konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan  $y =$  absorbansi. Kandungan fenolik total rata-rata EEKBR yang diperoleh kadar sebesar 6,03 g GAE/100 g ekstrak. Satuan yang digunakan adalah GAE (*Galic Acid Equivalent*). Pada penelitian (Apsari, 2011), kandungan fenolik total rata-rata ekstrak etanol kelopak bunga rosella yang diperoleh kadar sebesar 2,757 g GAE/100 g ekstrak. Kadar fenolik total pada lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Apsari. Hal ini disebabkan kandungan senyawa fenolik seperti tanin, flavonoid, dan antosianin lebih tinggi. Perbedaan hasil penelitian kemungkinan disebabkan pelarut yang digunakan dalam percobaan etanol 70% (lebih semi polar) sedangkan penelitian apsari menggunakan pelarut etanol 96 % (lebih non polar). Senyawa flavonoid yang banyak tersari pada kelopak bunga rosella kemungkinan flavonoid polihidroksi contohnya kuersetin yang bersifat lebih semi polar dari pada flavonoid polimetoksi contohnya rutin yang bersifat lebih non polar.

### **Analisis kadar Flavonoid**

Pada penetapan kadar flavonoid EEKBR ditambahkan  $\text{AlCl}_3$  dengan tujuan membentuk kompleks dengan gugus orto hidroksi, sehingga memberikan warna kuning yang intensif selanjutnya ditambahkan Na asetat dengan tujuan agar kompleks warna yang terbentuk stabil dan dapat dibaca serapannya.

Hasil penetapan kandungan flavonoid diperoleh  $y = 0,007x + 0,26$  dan  $r = 0,9771$  dimana  $x =$  konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan  $y =$  absorbansi.

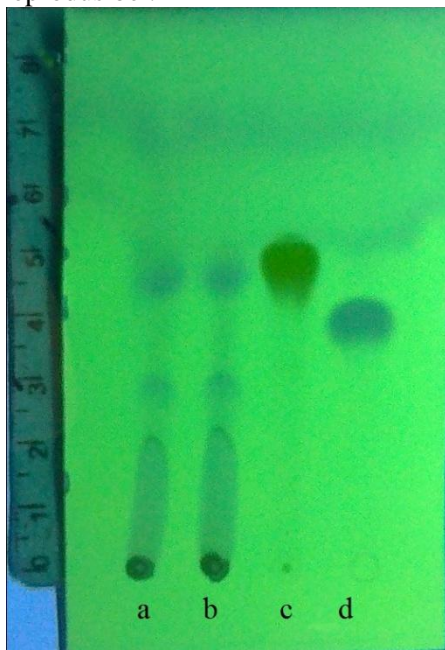
Kandungan flavonoid total rata-rata EEKBR yang diperoleh kadar sebesar 2,465  $\mu\text{g/mL}$ . Flavonoid diketahui mempunyai

aktivitas hepatoprotektor (Sumastuti dan Sulinmar, 2002).

### Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Uji kualitatif dilakukan untuk membuktikan bahwa EEKBR mengandung senyawa kuersetin. Pengujian senyawa kuerstn dilakukan dengan cara menotolkan pada silika gel F<sub>254</sub> dengan menggunakan pipa kapiler 5µl. Totolan dielusi dengan fase gerak Toluena : Aseton : asam Formiat (6:6:1). Hasil penelitian menunjukkan sampel dan standar berfluoresensi biru pada UV<sub>254nm</sub>. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa sampel memiliki Rf yang mendekati dengan Rf kuersetin yakni 0,56 untuk sampel dan 0,56 untuk kuersetin dan Rf standar asam galat 0,5

Rf menyatakan derajat retensi suatu komponen dalam fase diam. Semakin besar Rf dari sampel, maka semakin besar pula jarak Bergeraknya senyawa tersebut pada KLT. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa sampel memiliki Rf yang sama dengan Rf kuersetin, sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut mempunyai karakteristik yang sama, dan dapat disimpulkan bahwa sampel positif mengandung kuersetin. Harga Rf merupakan parameter karakteristik kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis. Harga ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram dan pada kondisi konstan merupakan besaran karakteristik dan reproduksibel.



Gambar 1. Profil Kromatografi Lapis Tipis, (a) dan (b) EEKBR (c)Standar Quersetin dan (d) standar Asam Galat

### Penetapan aktivitas SGPT, SGOT dan ALP

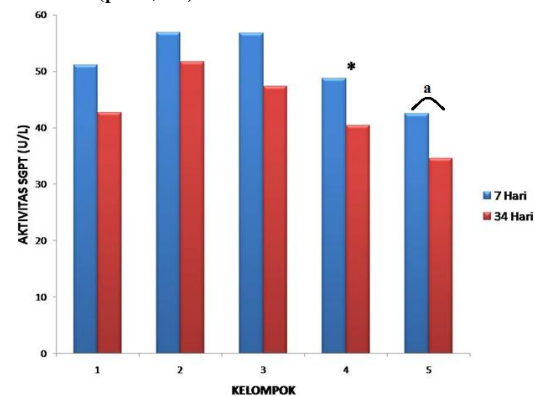
Penetapan aktivitas SGOT hari ke 7 dan hari ke 34

Pengukuran aktivitas SGPT dilakukan pada hari ke 7 dan ke 34 setelah induksi DMBA. Hasil pengukuran SGPT secara rinci dapat dilihat pada tabel I dan disajikan pada gambar 2.

Tabel I. Aktivitas SGPT tikus SD yang diinduksi DMBA pada hari ke 7 dan 34 (rerata ± sd).

Kelompok	SGPT (U/L)	SGPT (U/L)
	Hari ke 7	Hari ke 34
Normal	51 ± 6,5	43 ± 2,9
DMBA	57 ± 9,7	52 ± 2,2
EEKBR dosis 10 mg/kgBB	57 ± 6,5	47 ± 5,8
EEKBR dosis 50 mg/kgBB	49 ± 1,2	40 ± 2,1
EEKBR dosis 100 mg/kgBB	43 ± 9,3a	35 ± 4,4 a

Ket : <sup>a</sup> berbeda signifikan dengan kelompok DMBA (p<0,05)



Gambar 2. Grafik aktivitas SGPT tikus SD yang diinduksi DMBA pada hari ke 7 dan 34 (\*) berbeda bermakna antara hari ke 7 dan hari ke 34 (a) berbeda signifikan dengan kelompok DMBA (p<0,05).

Aktivitas SGPT hari ke 7

Kelompok normal memiliki aktivitas SGPT (51 ± 6,5) lebih rendah jika dibandingkan dengan DMBA (57 ± 9,7). Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemberian DMBA dosis 15 mg/ml/tikus dapat menimbulkan kerusakan hati yang ditandai dengan peningkatan aktivitas SGPT. Akan tetapi kerusakan hati yang ditimbulkan tidak berbeda signifikan (p>0,05).

Hasil Analisis data SGPT pada kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (57 ± 6,5) tidak berbeda signifikan (p>0,05) dengan kelompok DMBA (57 ± 9,7). Hal ini menunjukkan bahwa EEKBR dosis 10 mg/kgBB tidak memiliki aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini kemungkinan terjadi karena dosis EEKBR

dosis 10 mg/kgBB terlalu kecil sehingga belum memiliki aktivitas terhadap perlindungan kerusakan hati.

Kelompok EEKBR dosis 50 mg/kgBB ( $49 \pm 1,2$ ) dapat menurunkan aktivitas SGPT dari tikus SD jika dibandingkan dengan kelompok DMBA ( $57 \pm 9,7$ ). Akan tetapi penurunan aktivitas SGPT tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kelompok ( $57 \pm 9,7$ ). Hal ini menunjukkan bahwa EEKBR dosis 50 mg/kgBB ( $49 \pm 1,2$ ) dapat menurunkan aktivitas SGPT tetapi belum mampu melindungi kerusakan hati.

Pada Tabel IV terlihat bahwa pada kelompok EEKBR dosis 100 mg/kgBB ( $43 \pm 9,3$ ) dapat menurunkan aktivitas SGPT secara signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok DMBA ( $57 \pm 9,7$ ) yang artinya kelompok perlakuan EEKBR (100 mg/kgBB) mempunyai efek perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini dilihat dari aktivitas SGPT yang menurun dibanding DMBA.

Aktivitas SGPT hari ke 34

Perlakuan selama 33 hari yang diinduksi DMBA selanjutnya dilakukan pemeriksaan pada hari ke 34 pada tikus SD dapat meningkatkan aktivitas SGPT sedangkan dengan pemberian EEKBR pada tikus SD dapat menurunkan aktivitas SGPT.

Kelompok normal memiliki aktivitas SGPT ( $43 \pm 2,9$ ) lebih rendah jika dibandingkan dengan DMBA ( $52 \pm 2,2$ ). Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemberian DMBA dosis 15 mg/ml/tikus dapat menimbulkan kerusakan hati yang ditandai dengan peningkatan aktivitas SGPT. Akan tetapi peningkatan aktivitas SGPT tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal ( $p > 0,05$ ).

Hasil Analisis data SGPT pada kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB ( $47 \pm 5,8$ ) dan 50 mg/kgBB ( $40 \pm 2,1$ ) mampu menurunkan kadar SGPT tetapi penurunannya tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok DMBA ( $52 \pm 2,2$ ). Hal ini menunjukkan bahwa EEKBR dosis 10 dan 50 mg/kgBB hanya dapat menurunkan aktivitas SGPT tapi tidak memiliki aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini kemungkinan terjadi karena dosis EEKBR dosis 10 dan 50 mg/kgBB terlalu kecil sehingga belum memiliki aktivitas terhadap perlindungan kerusakan hati.

Pada tabel IV terlihat bahwa pada kelompok EEKBR dosis 100 mg/kgBB ( $35 \pm 4,4$ ) dapat

menurunkan aktivitas SGPT secara signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok DMBA ( $52 \pm 2,2$ ) yang artinya kelompok perlakuan EEKBR (100 mg/kgBB) mempunyai efek perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini dilihat dari aktivitas SGPT yang menurun dibanding DMBA.

Enzim SGPT merupakan indikator terbaik dalam melihat kerusakan hati. Pada gangguan sel hati yang ringan maka enzim sitoplasma akan merembes ke dalam serum terutama enzim SGPT. Oleh karena itu, kadar enzim SGPT bersifat khas dan spesifik terhadap kerusakan sel hati sehingga sangat cocok sebagai tes untuk menentukan adanya gangguan fungsi hati walaupun dalam derajat ringan. Pada manusia, nilai normal kadar enzim SGPT berkisar antara 5 hingga 25 U/L, dan SGOT antara 5 hingga 35 U/L (Baron 1992). Sedangkan pada tikus, nilai normal kadar enzim SGPT berkisar antara 19,3 hingga 68,9 U/L dan SGOT antara 29,8 hingga 77,0 U/L.

Pada penelitian ini aktivitas SGPT dan SGOT kelompok normal lebih besar dari yang ditetapkan oleh (Baron, 1992) perbedaan hasil analisis tersebut mungkin disebabkan oleh beberapa faktor stres yang dapat terjadi melalui peningkatan aktivitas syaraf simpatik perifer (Arakawa *et al.*, 1996). Selain itu perbedaan bobot tikus, hemolisis, keadaan fisiologis dan makroenzim yang berbeda, alat dan metode analisis yang digunakan, bahkan perbedaan kit reagen yang digunakan juga dapat mempengaruhi hasil analisis.

Antosianin yang terdapat pada fraksi *Hibiscus rosasinensis* dapat menurunkan SGPT pada tikus galur wistar yang di induksi CCl<sub>4</sub> (Oyesom *et al.*, 2008). Ekstrak kering rosella dapat menurunkan aktivitas SGPT pada tikus wistar yang di induksi CCl<sub>4</sub> dengan menghambat pembentukan peroksida lipid dan perlindungan Histopatologi hati tikus secara signifikan (Liu, 2006).

Pemberian infusa rosella 20 dan 40% dapat menurunkan SGPT secara signifikan  $388.8 \pm 18.79$  (67.74%) and  $172.2 \pm 87.48$  U/L (85.55%). Infusa memiliki aktivitas hepatoprotektif akibat pemberian paracetamol (Sujono *et al.*, 2012). Pada penelitian (Yerizal, *et al.*, 1998) didapat hasil pemberian flavonoid daun sambiloto 100 mg/kgBB menyebabkan penurunan aktivitas enzim SGPT dengan menghambat kerusakan hepar tikus akibat pemberian CCl<sub>4</sub>.

Penetapan aktivitas SGOT hari ke 7 dan hari ke 34

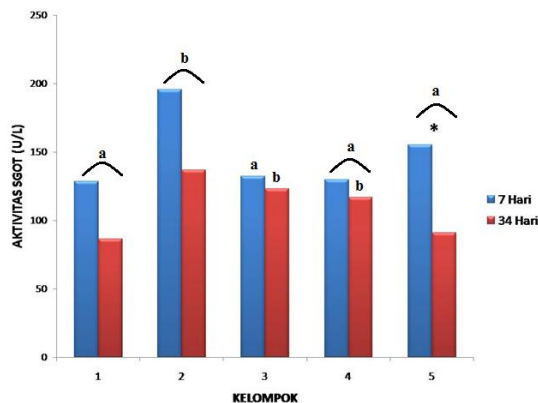
Pengukuran aktivitas SGOT dilakukan pada hari ke 7 dan ke 34 setelah induksi DMBA. Hasil pengukuran SGOT secara rinci dapat dilihat pada tabel II dan disajikan pada gambar 3.

**Tabel II. Aktivitas SGOT tikus SD yang diinduksi DMBA pada hari ke 7 dan 34 (rerata  $\pm$  sd).**

Kelompok	SGOT (U/L) Hari ke 7	SGOT (U/L) Hari ke 34
Normal	128 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	86 $\pm$ 10 <sup>a</sup>
DMBA	196 $\pm$ 18 <sup>b</sup>	137 $\pm$ 15 <sup>b</sup>
EEKBR dosis 10 mg/kgBB	132 $\pm$ 7,1 <sup>a</sup>	123 $\pm$ 5 <sup>b</sup>
EEKBR dosis 50 mg/kgBB	130 $\pm$ 26 <sup>a</sup>	117 $\pm$ 6,7 <sup>a,b</sup>
EEKBR dosis 100 mg/kgBB	155 $\pm$ 18 <sup>a</sup>	91 $\pm$ 15 <sup>a</sup>

Ket : <sup>a</sup> berbeda signifikan dengan kelompok DMBA ( $p < 0,05$ )

<sup>b</sup> berbeda signifikan dengan kelompok Normal ( $p < 0,05$ )



**Gambar 3. Grafik aktivitas SGOT tikus SD yang diinduksi DMBA pada hari ke 7 dan 34 (\*) berbeda bermakna antara hari ke 7 dan hari ke 34 (a) berbeda signifikan dengan kelompok DMBA ( $p < 0,05$ ) (b) berbeda signifikan dengan kelompok normal ( $p < 0,05$ ).**

Aktivitas SGOT hari ke 7

Pada kelompok DMBA (196  $\pm$  18) dapat meningkatkan aktivitas SGPT secara signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok normal (128  $\pm$  14) yang artinya kelompok DMBA (196  $\pm$  18) mempunyai kemampuan dalam merusak hati. Hal ini dilihat dari aktivitas DMBA meningkat dibandingkan kelompok normal.

Hasil Analisis data SGOT pada kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (132  $\pm$  7,1), EEKBR dosis 50 mg/kgBB (130  $\pm$  26), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (155  $\pm$  18)

berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok DMBA (196  $\pm$  18). Hal ini menunjukkan bahwa EEKBR dosis 10 mg/kgBB, EEKBR dosis 50 mg/kgBB (130  $\pm$  26), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (155  $\pm$  18) memiliki aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini ditandai dengan penurunan aktivitas SGOT yang signifikan pada kelompok perlakuan EEKBR dosis 10 mg/kgBB (132  $\pm$  7,1), EEKBR dosis 50 mg/kgBB (130  $\pm$  26), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (155  $\pm$  18) dibandingkan dengan kelompok DMBA (196  $\pm$  18).

Aktivitas SGOT hari ke 34

Pada kelompok DMBA (137  $\pm$  15) dapat meningkatkan aktivitas SGPT secara signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok normal (86  $\pm$  10) yang artinya kelompok DMBA (137  $\pm$  15) mempunyai aktivitas terhadap kerusakan hati. Hal ini dilihat dari aktivitas DMBA meningkat dibandingkan kelompok normal.

Hasil Analisis data SGPT pada kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (123  $\pm$  5) mampu menurunkan kadar SGPT tetapi penurunannya tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok DMBA (137  $\pm$  15). Hal ini menunjukkan bahwa EEKBR dosis 10 mg/kgBB tidak memiliki aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini kemungkinan terjadi karena dosis EEKBR dosis 10 dan 50 mg/kgBB terlalu kecil sehingga belum memiliki aktivitas terhadap perlindungan kerusakan hati.

Hasil Analisis data SGOT pada kelompok EEKBR dosis 50 mg/kgBB (117  $\pm$  6,7), dan dosis 100 mg/kgBB (91  $\pm$  15) berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok DMBA (137  $\pm$  15). Hal ini menunjukkan bahwa EEKBR dosis 50 mg/kgBB (117  $\pm$  6,7), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (91  $\pm$  15) memiliki aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati ditandai dengan penurunan aktivitas SGOT yang signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok DMBA (137  $\pm$  15).

Rosella memiliki aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif pada ikan yang diinduksi CCl<sub>4</sub> secara signifikan dengan mekanisme menurunkan *lactate dehydrogenase* (LDH), *glutamate oxalate transaminase* (GOT), *malondialdehyde* (MDA), *superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroxidase* (GSH-Px) (Yin, 2011). Tanaman keluarga *Hibiscus* yang telah diteliti memiliki aktivitas



hepatoprotektor adalah *Hibiscus esculentus* L yang disebut Okra pada tikus yang di induksi CCl<sub>4</sub>. Ekstrak etanol okra pada dosis 250 dan 500 mg/kgBB secara signifikan menurunkan SGOT, kolesterol, trigliserida, malondialdehyde (MDA), non-protein *sulphydryls* (NP-SH) dan total protein (TP) pada jaringan hati (Alqasoumi, 2012). Penelitian mengungkapkan bahwa aktivitas SGOT tikus DM mengalami penurunan setelah pemberian ekstrak air daun ceplikan. Penurunan maksimal pada ekstrak kadar 3,2 mg.

Bila sistem imun terpapar pada zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi, yaitu respon imun nonspesifik dan respon imun spesifik. Sistem imun nonspesifik merupakan garis pertahanan pertama melawan invasi organisme asing, sedangkan sistem imun spesifik merupakan garis pertahanan kedua dan juga dapat memberikan perlindungan dalam melawan invasi ulang dari patogen yang sama (Mayer 2008).

Penetapan aktivitas ALP hari ke 7 dan hari ke 34

Pengukuran aktivitas ALP dilakukan pada hari ke 7 dan ke 34 setelah induksi DMBA. Hasil pengukuran ALP secara rinci dapat dilihat pada tabel III dan disajikan pada gambar 4.

**Tabel III. Aktivitas ALP tikus SD yang diinduksi DMBA pada hari ke 7 dan 34 (rerata ± sd).**

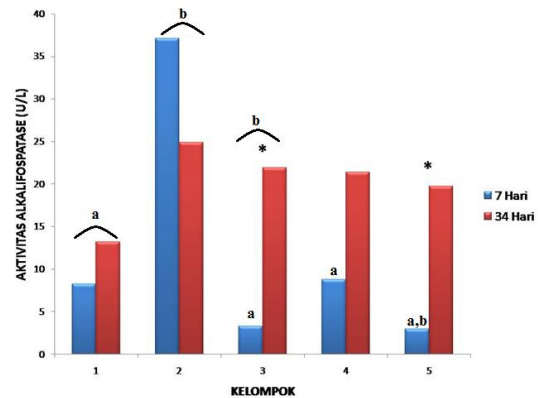
Kelompok	ALP (U/L)	
	Hari ke 7	Hari ke 34
Normal	8,3 ± 1,4 <sup>a</sup>	13 ± 6,9 <sup>a</sup>
DMBA	37 ± 4,7 <sup>b</sup>	25 ± 12 <sup>b</sup>
EEKBR dosis 10 mg/kgBB	3,3 ± 0,5 <sup>a,b</sup>	22 ± 7,1 <sup>b</sup>
EEKBR dosis 50 mg/kgBB	8,8 ± 5,2 <sup>a</sup>	21 ± 11
EEKBR dosis 100 mg/kgBB	3 ± 1 <sup>a,b</sup>	20 ± 3,4

Ket : <sup>a</sup> berbeda signifikan dengan kelompok DMBA (p<0,05)

<sup>b</sup> berbeda signifikan dengan kelompok Normal (p<0,05)

Aktivitas ALP hari ke 7

Kelompok DMBA (37 ± 4,7) dapat meningkatkan aktivitas ALP secara signifikan (p < 0,05) terhadap kelompok normal (37 ± 4,7) yang artinya kelompok DMBA (37 ± 4,7) mempunyai kemampuan dalam menimbulkan kerusakan hati. Hal ini dilihat dari aktivitas DMBA meningkat dibandingkan kelompok normal.



**Gambar 4. Grafik aktivitas Alkalin fosfatase tikus SD yang diinduksi DMBA pada hari ke 7 dan 34 (\*) berbeda bermakna antara hari ke 7 dan hari ke 34 (a) berbeda signifikan dengan kelompok DMBA (p<0,05) (b) berbeda signifikan dengan kelompok normal (p<0,05).**

Dari tabel VI terlihat bahwa pada kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (3,3 ± 0,5), EEKBR dosis 50 mg/kgBB (8,8 ± 5,2), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (3 ± 1) berbeda signifikan (p<0,05) dengan kelompok DMBA (37 ± 4,7). dengan menurunkan aktivitas ALP secara signifikan (p < 0,05) terhadap kelompok DMBA (37 ± 4,7) hal ini berarti kelompok perlakuan kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (3,3 ± 0,5), EEKBR dosis 50 mg/kgBB (8,8 ± 5,2), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (3 ± 1) mempunyai aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati yang dilihat dari aktivitas ALP kelompok perlakuan yang menurun dibanding DMBA.

Aktivitas ALP hari ke 34

Kelompok DMBA (25 ± 12) dapat meningkatkan aktivitas ALP secara signifikan (p < 0,05) terhadap kelompok normal (13 ± 6,9) yang artinya kelompok DMBA (37 ± 4,7) mempunyai aktivitas terhadap kerusakan hati. Hal ini dilihat dari aktivitas DMBA meningkat dibandingkan kelompok normal.

Dari tabel IV terlihat bahwa pada kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (22 ± 7,1), EEKBR dosis 50 mg/kgBB (21 ± 11), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (20 ± 3,4) mampu menurunkan kadar ALP tetapi penurunan tidak berbeda signifikan (p>0,05) dengan kelompok DMBA (25 ± 12). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok EEKBR dosis 10 mg/kgBB (22 ± 7,1), EEKBR dosis 50 mg/kgBB (21 ± 11), dan EEKBR dosis 100 mg/kgBB (20 ± 3,4) tidak mempunyai aktivitas perlindungan terhadap kerusakan hati. Hal ini dilihat

dari aktivitas ALP kelompok perlakuan yang menurun tidak berbeda signifikan ( $p>0,05$ ) dibanding DMBA. Hal ini dimungkinkan karena kerusakan hati yang ditandai dengan peningkatan aktivitas ALP plasma tidak terdistribusi terhadap kerusakan empedu.

Pemberian oral ekstrak etanol air (1:1) dari kelopak bunga rosella yang diinduksi  $\text{CCl}_4$  pada tikus dapat menyembuhkan kerusakan hati tikus dengan menurunkan serum SGPT, SGOT, dan ALP (Dahiru., *et al.*, 2003). Kemampuan perlindungan dari ekstrak tersebut karena rosella kaya akan vitamin C (Akanya, 1997), dan bersifat antioksidan dengan mereduksi radikal  $\alpha$ -tocopheroxyl menjadi  $\alpha$ -tocopherol. Antosianin yang terkandung dalam rosella juga dilaporkan memiliki perlindungan terhadap kerusakan hati yang di induksi *tert-butyl hydroperoxide* (Wang *et al.*, 2000). Ekstrak etanol akar *Hibiscus esculentus* Linn dapat menghambat radikal bebas secara invitro dengan  $\text{IC}_{50}$  620  $\mu\text{g/ml}$ , 2300  $\mu\text{g/ml}$ , 870  $\mu\text{g/ml}$  and 610  $\mu\text{g/ml}$ . Dosis pemberian 250 dan 500  $\text{mg/kgBB}$  secara signifikan bersifat hepatoprotektor dengan menurunkan aktivitas Alkaline phosphatase (ALP). Hasil tersebut dibandingkan dengan standar obat silymarin (20  $\text{mg/kg}$ , P.O.) (Sunilson, *et al.*, 2008). Ekstrak etanol *Hibiscus hispidissimus* Griff yang diinduksikan paracetamol dan  $\text{CCL}_4$  pada tikus galur wistar secara signifikan dapat menurunkan serum *Alkaline phosphatase* (ALP), serum bilirubin dan perlindungan Histopatologi hati dibandingkan dengan kontrol. Ekstrak etanol *Hibiscus hispidissimus* Griff juga secara signifikan memiliki aktivitas penghambatan radikal bebas 1, 1- diphenyl – 2-picryl hydrazyl (DPPH) (Krishnakumar. *et al.*, 2008).

Pada penelitian lain flavonoid yang terkandung di dalam tapak liman dan sambiloto dapat menurunkan ALP serta perlindungan Histopatologi hati tikus yang diinduksi  $\text{CCl}_4$  pada pemberian kombinasi dosis 400  $\text{mg}/200$  g BB dan sambiloto 50

$\text{mg}/200$  g BB (Juwita, 2011). Kerusakan yang terjadi pada lobus hati menyebabkan enzim plasma seperti ALP meningkat dalam plasma (Murray, 2009).

Pemberian oral kombinasi dari *tephrosia purpurea* Linn. 500  $\text{mg/kgBB}$  dan *Tecomella undulata* 1000  $\text{mg/kgBB}$  diperoleh hasil secara signifikan dapat menurunkan serum ALP,  $\gamma$ -GT, bilirubin total, LPO dan perlindungan pada GSH dibandingkan dengan TAA kerusakan hari pada tikus (Khatri *et al.*, 2009)

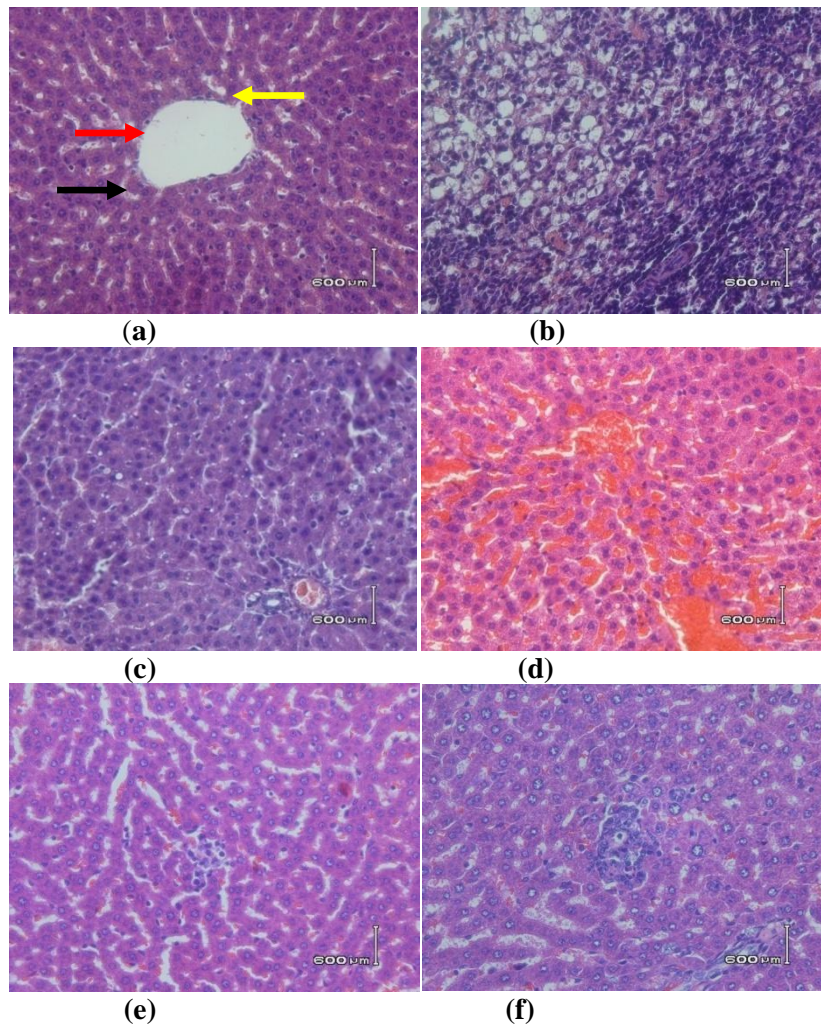
#### **Analisis Histopatologi hati tikus SD**

Data histopatologi dan gambaran Histopatologi hati tikus disajikan pada tabel IV dan gambar 5.

Tabel IV. Data Histopatologi Hati tikus SD yang diinduksi DMBA.

Perlakuan	Hari ke 7			Hari ke 34		
	Tikus	Hasil Pengamatan	Rasio DM	Tikus	Hasil Pengamatan	Rasio DM
Normal	1	TAP	2/4=50%	1	TAP	0/5=0%
	2	DM		2	K	
	3	TAP		3	TAP	
	4	DM		4	TAP	
				5	TAP	
DMBA	1	-	2/4=50%	1	DM	3/5=60%
	2	-		2	TAP	
	3	DM		3	DM	
	4	DM		4	DM	
				5	R	
DMBA + EEKBR dosis 10 mg/kgBB	1	DM	2/4=50%	1	-	1/5=20%
	2	-		2	TAP	
	3	-		3	DM	
	4	DM		4	TAP	
				5	-	
DMBA + EEKBR dosis 50 mg/kgBB	1	DM	4/4=100%	1	TAP	0/5=0%
	2	DM		2	TAP	
	3	DM		3	FN	
	4	DM		4	TAP	
				5	TAP	
DMBA + EEKBR dosis 100 mg/kgBB	1	DM	1/4=25%	1	DM	1/5=20%
	2	TAP		2	TAP	
	3	-		3	TAP	
	4	-		4	TAP	
				5	TAP	

Ket : TAP = Tidak ada perubahan patologi spesifik  
DM = Degradasi melemak  
K = Kongesti, ada peningkatan volume darah pada pembuluh darah  
R = Radang, ditandai adanya infiltrasi sel radang (limfosit) di hati  
FN = Foki nekrotik, kematian sel pada satu daerah hati yang ditandai inti hepatosit menjadi piknotik disertai infiltrasi limfosit  
- = Tidak ditemukan organ yang dimaksud.



**Gambar 5.** Histopatologi hati tikus SD yang diinduksi DMBA (a) Kelompok normal, tanda panah hitam menunjukkan vena sentralis, panah kuning sinusoid, panah merah hepatosit (inti sel hati) (b) Kelompok DMBA ditandai degradasi lemak yang ditandai adanya vakuola-vakuola berbagai ukuran dengan batas yang jelas dan beberapa inti terdesak ke tepi di beberapa area (c) Kelompok EEKBR dosis 100 mg/kgBB kembali normal ditandai tidak ada perubahan patologik spesifik (d) Kelompok EEKBR dosis 100 mg/kgBB yang mengalami kongesti, ada peningkatan volume darah pada pembuluh darah (e) Kelompok DMBA yang mengalami peradangan, ditandai adanya infiltrasi sel radang (limfosit) di hati (f) Kelompok EEKBR dosis 50 mg/kgBB mengalami foki nekrotik, kematian sel pada satu daerah hati yang ditandai inti hepatosit menjadi piknotik disertai infiltrasi limfosit (Pembesaran 40x dengan pengecatan HE).

### Kesimpulan

Ekstrak etanol kelopak bunga rosella memiliki aktivitas dalam perlindungan kerusakan hati yang ditunjukkan dengan penurunan aktivitas SGPT, SGOT dan Alkalin fosfatase.

Pemberian EEKBR dosis 10 mg/kgBB memiliki aktivitas dalam menurunkan SGOT dan Alkalin fosfatase secara signifikan pada perlakuan hari ke 7, dosis 50 mg/kgBB memiliki aktivitas

dalam menurunkan SGOT secara signifikan pada perlakuan hari ke 7 dan 34 serta menurunkan aktivitas Alkalin fosfatase pada hari ke 7, dan dosis 100 mg/kgBB memiliki aktivitas dalam menurunkan SGPT, SGOT dan Alkalin fosfatase secara signifikan pada perlakuan hari ke 7 dan 34 dibandingkan dengan kelompok DMBA 15mg/ml/tikus. Gambaran histopatologi hati tikus SD dosis 100 mg/kgBB yang menimbulkan

degradasi melemak sebesar 25% pada perlakuan 7 hari dan pada dosis 10 mg/kgBB, 100 mg/kgBB menimbulkan degradasi melemak sebesar 20% dan dosis 50 mg/kgBB menimbulkan degradasi melemak sebesar 0% pada perlakuan hari ke 34 dilihat dari gambaran Histopatologi hati SD yang diinduksi 7,12-dimetilbenz( $\alpha$ )antrasen.

Lama perlakuan ekstrak pada hari ke 7 dan hari ke 34 pada dosis 10 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan pada aktivitas Alkalin fosfatase, dosis 50 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan pada aktivitas SGPT dan dosis 100mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan pada aktivitas SGOT dan Alkalin fosfatase.

Kadar flavonoid total ekstrak etanol kelopak bunga Rosella sebesar 2,465  $\mu$ g/ml sedangkan kadar Polifenol ekstrak etanol kelopak bunga Rosella sebesar 6,03 GAE/100 gram ekstrak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abukar, M. G., Ukwuani, A. N., Shehu, R. A., 2008, Phytochemical screening and antibacterial activity of *Tamarindus Indica* pulp extract. *Asian J Biochem*, 3: 134-138.
- Adikusuma, W., 2011. Efek Hepatoprotektif Serbuk Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Dilihat Dari Aktivitas SGPT-SGOT Tikus Jantan Yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Akanya, H.O., Oyeleke, S.B, Jigam, A.A., Lawal, F.F. 1997 Analysis of sorrel drink (Soborodo). *Nig. J. Biochem.Mol. Biol.*12:77-82.
- Ali, B.H., Mousa, H.M., El-Mougy, S., 2003. The effect of a water extract and anthocyanins of *Hibiscus Sabdariffa* L. on paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Phytother. Res.* 17 (1), 56–59.
- Alqasoumi 2012. 'Okra' *Hibiscus esculentus* L.: A study of its hepatoprotective activity. *Saudi Pharm J.* 20(2):135-41.
- Anonim, 2004, *Ekstrak Tumbuhan Indonesia*, Volume 2, Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Anonim, 2008a. Si Bunga Merah untuk Anti-TBC [http://radioppidunia.com/PKM%20ROSELLA\\_new.pdf](http://radioppidunia.com/PKM%20ROSELLA_new.pdf). Diakses tanggal 10 April 2013.
- Apsari, P.D., 2011, Perbandingan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak merah dan ungu bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) secara spektrofotometri, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Arakawa H, Kodama H, Matsouka N, Yamaguchi I. 1996. Stress increases plasma activity in rats: differential effects of adrenergic and cholinergic blockades. *J Pharmacol Exp Ther.* 280: 1296-1303.
- Arnelia. 2002. *Fitokimia Komponen Ajaib Cegah Penyakit Jantung Koroner, Diabetes Melitus dan Kanker*.
- Ayuningtyas, D. 2011. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Ekstrak Etanol Kelopak Merah Dan Ungu Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*, Linn) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikirlhidrazil). *Skripsi*. UAD. Yogyakarta.
- Baron D.N. 1992. Kapita Selekt Patologi Klinik. Ed ke-4. Andrianto P dan Gunawan J; penerjemah. Terjemahan dari: *A Short Textbook of Chemical Pathology*, EGC, pp 113-231. Jakarta.
- Baron, D.N. 1990. alih bahasa : P. Andrianto, J. Gunawan, *Kapita Selekt Patologi Klinik, Edisi 4*, EGC. Jakarta.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wenm H. M, and Chern, J. C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal*, 10 (3), 178-182.
- Chen, C. C., Hsu, J. D., Wang, S. F., Chiang, H. C., Yang, M. Y., Kao, E. S., et al. (2003). *Hibiscus Sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J. Agricul. Food Chem*, 51, 5472–5477.
- Chewonarin, T., Kinouchi, T., Kataoka, K., Arimochi, H., Kuwahara, T., Vinitketkumnuen, U., Ohnishi, Y., 1999. Effects of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* Linn.), a Thai medicinal plant, on the mutagenicity of various known mutagens in Salmonella typhimurium and on formation of aberrant crypt foci induced by the colon carcinogens azoxymethane and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 37 (6),591–601.
- Dafallah, A.A., al-Mustafa, Z., 1996. Investigation of the antiinflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus Sabdariffa*. *Am. J. Chin. Med.* 24 (1), 263–269.
- Dahiru D, Obi OL, Umaru H. 2003. Effect of hibiscus sabdarifa calyx extract on carbon tetrachloride induced liver damaged. *Biochem*, 15:27-33.
- Dahliani, S. P., 2011. Efek Hepatoprotektif Serbuk Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Jantan Yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Dalimartha S and Soedibyo M. 1998. *Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen*. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Hepatitis*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Datta S, Sinha S, Bhattacharyya P. 1999, Hepatoprotective activity of a herbal protein CL-1, purified from *Cajanus indicus* against beta-galactosamine HCl toxicity in isolated rat hepatocytes. *India Phytoter Res*, 35: 168-172.
- Dhanabal SP, yamala G, Satish Kumar MN, Suresh B. 2006, Hepatoprotective activity of the indian medicinal plat *Polygala arvensis* on D-galactosamine induced hepatic injury in rat. *Fitoter.* 77: 472-474.
- Duke, J. A., & Atchley, A. A. (1984). *Proximate analysis*. In B. R. Christie (Ed.), *The handbook of plant science in agriculture*. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc.
- Dyasis®, 2009, *Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of alkaline phosphatase (ALP) in serum or plasma on photometric systems*. Diagnostic System. Germany.
- Dyatmiko W, MH Santosa, and AF Hafid. 2000. Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dalam Sistem Molekuler dan Seluler Sari Air Rimpang Tanaman Obat *Zingiberaceae*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Pusat Penelitian Obat Tradisional Univ. Airlangga. Surabaya.
- Ekawati, F., 2013. Efek Hepatoprotektif Kombinasi Serbuk Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Faraji, H.M., Tarkhani, H.A., 1999. The effect of sour tea (*Hibiscus Sabdariffa*) on essential hypertension. *J. Ethnopharmacol.*65 (3), 231–236.
- Farombi, E. O., Moller, P., Dragsted, L.O., 2004, Ex-vivo and in vivo protective effect of kolaviron againts oxygen-derived radical-induced DNA damaged and oxidative stress in human lymphocytes and rat liver cells, *Cell Biol Toxicol.* 20(2): 71-82.

- Ganong F. 2002. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi ke-20. penerjemah Djauhari H.M., Terjemahan dari: *Review of Medical Physiology*. EGC. Jakarta.
- Gao, J., Lauer, F.T., Mitchaell, L.A., Burchiel, S.W., 2007. Microsomal epoxide hydrolase is required for 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced immunotoxicity in mice. *Toxicol Sci.* 98(1):137-44
- Lara G., Pinti M., Nasi M., Montagna J. P., Biasi S D., Roat E., Bertoncetti L., Edwin L. Cooper, and Cossarizza A. 2011. Quercetin And Cancer Chemoprevention. *Hindawi Pub Coop Evedence-Based Complem Alter Med* :10.1093.
- Gibson GG, Sket P. 1991. Pengantar Metabolisme Obat. penerjemah. Aisyah BI, Terjemahan dari: *Drugs Metabolism*. UI Press. Jakarta.
- Geissman, T. A., 1962, *The Chemistry of Flavonoid Counpound*, Pergamon Press, Oxford. Hal. 51.
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Terbitan Ke-2*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB, Bandung. Hal 58-94.
- Hernani, Raharjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadya.
- Hirunpanich, V., Anocha U., Noppawan P.M., Nuntavan B., Hitoshi S., Angkana H., dan Chuthamane S., 2005, Antioxidant effects of aqueous extracts from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (roselle) in vitro using rat low-density lipoprotein (LDL). *Biol. Pharm. Bull.*, 28(3) 481-484.
- Hsieh, B.C., Ritaro M., Hironori M., Richie L.C.C., Tomoko S., dan Hiroyuki U., 2008, characterization of superoxide anion scavenging compounds in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract by electron spin resonance and LC/MS, *Food Sci. Technol. Res.*, 14(4): 383-388
- Hudson, B.JF. 1990. Food Antioxidants. *Elsevier Applied Science*. New York.
- Husadha, Y., 1996, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi 3 dalam Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimia Hati*, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, hal 224-227.
- Istichomah, L., 2013, Efek Hepatoprotektif Kombinasi Serbuk Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), Meniran (*Phyllanthus niruri* L) Dan Pegagan (*Centella asiatica* L) Terhadap Tikus Galur Wistar Yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Jeon., 2003. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rat. *Toxicology*. 187: 67-73.
- Junquera, L.C., Carneiro, J., Kelly, R.O., 1998, *Histologi Dasar*, diterjemahkan oleh Tambayong., Jan, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. hal 317-326.
- Juwita, I.L , 2011, *efek hepatoprotektif kombinasi infusa akar tapak liman dan daun sambiloto pada tikus yang diinduksi CCl<sub>4</sub>*. Fakultas MIPA Universitas Indonesia, program studi ekstensi farmasi Depok.
- Kahtri A. 2008, Garg A, Agrawal SS. Evaluation hepatoprotective activity studies of herbal formulation. *Int J Green Pharm*. 2: 147-151)
- Kaplan LA, Pesce JA. 1998. *Clinical Chemistry: Theory Analysis and Correlation. Ed 3*. New York: Mosby Year Book.
- Kaslow, J.E., 2011, Alkalin phospatase, [http://www.drkaslow.com/html/lab\\_findings.html](http://www.drkaslow.com/html/lab_findings.html), Diakses tanggal 10 Mei 2013.
- Kee, L.L., 2007, *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik, Edisi 6*, 25-26, EGC, Jakarta.
- Komiyama, K., Okaue, M., Miki, Y., Ohkubo, M., Moro, I., Cooper, E.L., 2004. Nonspecific cellular function of *Eisenia fetida* regulated by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Pedobiologia* 47, 717-723.
- Koolman J. 2001. *Atlas Berwarna Dan Teks Biokimia*. Jakarta: Hipokrates. Hal 272-278.
- Krishnakumar, N. M., Latha, P. G., Suja, S. R., Shine, V. J., Shyamal, S., Anuja, G. I., Sini, S., Pradeep, S., Shikha, P., Unni, Somasekharan, P. K., Rajasekharan, S. 2008. Hepatoprotective effect of *Hibiscus hispidissimus* Griffith, ethanolic extract in paracetamol and CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in Wistar rats. *IJEB* Vol.46(09).
- Kuppaswamy R, Govindaraju A, Velusamy G, Balasbtamanian R, Balasundarm J, Sellamuthu M. Effect of Dried fruits of solanum nigrum Linn against CCl<sub>4</sub> induced hepatic damage in rats. *Biol Phar Bul.* 26: 1618-1619.
- Kurniawan, A., 2012., Uji aktivitas ekstrak n-heksan biji kluwak (*pangium edule .reinw*) terhadap gambaran Histopatologi hepar tikus yang diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. UAD. Yogyakarta
- Kustyawati, M, E., 2008, *Pemanfaatan hasil tanaman hias rosella sebagai bahan minuman*, Prosiding seminar nasional sains dan teknologi, 127-135.
- Laurence, A. K, and Amadeon, J.P (1996). *Clinical chemistry. Theory Analysis, correlation. 3ed*, Mosby year book Inc, Philadelphia 484, 502, 506-516
- Lesson, C. R., Thomas, S.L., dan Paparo, A.A (1996). *Buku ajar histologi. ed VI*. Terjemahan dari *Text book of histology*, oleh Tambayong, Sugito WV. Penerbit Kedokteran EGC, Jakarta :383, 391, 264-266.
- Liu, C.L., Wang, J.M., Chu, C.Y., Cheng, M.T., Tseng, T.H., 2002. In vivo protective effect of protocatechuic acid on tert-butyl hydroperoxide induced rat hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol.* 40 (5), 635-641.
- Liu, J.-Y. 2006. The protective effects of *Hibiscus Sabdariffa* extract on CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in rats. *Food. Chem. Toxicol.* 44. 336-343.
- Lu, F.C. 1995. *Basic Toxicologi Fundamental, Edisi II*, diterjemahkan oleh Edi Nugroho, 1,2,4,67-75, 85-89, UI-Press, Jakarta.
- Maronpot, R.R., 1999. *Pathology of Mouse*. USA: Cache River Press. Hal: 119-117.
- Masruroh. 2009. Struktur hepar, aktivitas SGPT dan bilirubin tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) setelah perlakuan dan parasetamol. *Tesis*. UGM.
- Mayer G. 2008. *Innate (Non-Specific) Immunity. Microbiologi and Biology on line*. The Board of Trustees of the University of South Carolina.
- Meiyanto, E. 2007. Penghambatan Karsinogenesis Kanker Payudara Tikus Terinduksi DMBA pada Fase Post Inisiasi Oleh Ekstrak Etanolik Daun *Gynura procumbens* (Lour), Merr, *MFI*, 18(4).
- Mittal DK, Joshi D, Shukla S. 2012. Hepatoprotective role of herbal plants – A Review. *Int. J. Res. Pharm. Sci*, 3(1), 150-157.
- Moslen, M.T., 1996, Toxic Responses Of The Liver, Casarett And Doull's Toxicology The Basic Science Of Poisons, USA, *McGraw-Hill*. Hal 407.
- Mun'im, A., 2006, Uji hambatan Karsinogenesis Sari Rosella (*Pandanus conoideus* Lam.) Merek N terhadap Tikus Putih Betina yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz[*a*]antrasen (DMBA), *MIK*, Vol. III, No. 3, Hal 153-161.
- Murray RK, Granner DK, Rodwel VW. 2009. *Biokimia Harper. Ed ke-27*. penerjemah Wulandari N., Terjemahan dari: Harper's Illustrated Biochemistry, 27th ed. EGC. Jakarta.
- Murtijaya, J., dan Lim Y.Y., 2007, Antioxidant Properties of *Phyllanthus amarus* Extracts as Affected by Different Drying Methods, *LWT-Food Sci. Technol*, 40, Hal 1664-1669.
- Muthulingam M.2008. Antihepatotoxic effects of boerhaavia difusa L. on antituberculosis drug, rifampicin induced liver injury in rat. *J Pharmacol Toxicol*, 3: 75-83.
- Myara, I., Miech, G., Fabre, M., Mangeot, M., Lemonnier, A., 1987. Changes in prolinase and prolidase activity during CCl<sub>4</sub> administration inducing liver cytolysis and fibrosis in rat. *Br. J. Exp. Pathol.* 68 (1), 7-13.
- Nguyen, T., Nioi, P., Pickett, C. B., 2009. The Nrf2-antioxidant respons element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *J Biol Chem*. 284: 13291-13295.
- Noer, S., Waspadji, S., Rachman, A.M., Lesmana, A., Widodo, D dan Isbagio H., 1996, *Buku ajar ilmu penyakit dalam*,

- Jilid II, edisi 3*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Olaleye, M.T. ., Joa'o Rocha, B.T. (2008). Acetaminophen-induced liver damage in mice: Effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. *Exp Toxicol Pathol* 59. 319–327.
- Onyesom. I., Mordi. J., Opajobi. A. O., Esume. C. O. 2008. Hepatoprotective Potentials Of Hibiscus rosasinensis Petal anthocyanin Extracts Against Carbon tetrachloride-Induced Acute Liver Damage in Wistar Rats. *Sudan J. Med. Scie.* Vol. 3 (1) 2008: pp. 33-36.
- Paliwal R, Sharma V, Pracheta, Sharma SH. 2011. Hepatoprotective and Antioxidant Potential of *Moringa oleifera* Pods against DMBA Induced Hepatocarcinogenesis in Male Mice. *Int. J. Drug Develop. Res.* Vol. 3. 0975-9344.
- Permana, D. A. S., 2012. Efek Hepatoprotektif Ekstrak n-Heksan Biji Kluwak (*Pangium edule* Reinw) Dilihat Dari Aktivitas SGPT Dan SGOT Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Pitot, H., C., and Dragan, Y., P., 2001, *Chemical Carcinogenesis*, in Curtis D Klaasen and Doulls : *Toxicologi, The Basic Science of Poisons*, 6<sup>th</sup> ed, Mc. Graw Hill, Medical Publishing Division, New York.
- Pratiwi N. 2011. Efek infusa biji kemrungsi (Caesalpinia crista L.) Terhadap kadar Glukosa Darah dan SGPT, serta struktur Histologis hati dan ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus* berkenhout, 1769) hiperglikemik. *Tesis*. UGM.
- Price, S.A., Wilson, L.M., 2005, *Patofisiologi*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. hal 472-476.
- Puspita, C. A., 2013. Efek Hepatoprotektif Kombinasi Serbuk Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness), Meniran (*Phyllanthus niruri*), dan Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Tikus Galur Wistar yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Skripsi*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Richterich, R and Colombo, J. P (1981) clinical chemistry, Theory, Practice and interpretation, *John wiley & sons, chichester*, 606-687.
- Robbins, S., Cotran, R. S., Kumar, V., 1999, *Buku Dasar Patologi Penyakit, edisi 5* diterjemahkan oleh Tjarta A., Himawan S., Kurniawan A. N., Kedokteran EGC, Jakarta. Hal: 389
- Rohdiana, D., 2001, Radical Scavengers Activity of Tea Polyphenol, *MFI*, 12(1) : 53 – 58.
- Ruangsi, P., Chumsri, P., Sirichote, A., dan Itharat, A., 2008, Changes in Quality and Bioactive Properties of Concentrated Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Extract, *As. J. Food Ag-Ind.* 1(02), 62-67.
- Sahala, 2011, *Degenerasi dan Nekrosis Sel*, Akper Dharma Insan, Pontianak.
- Salvador Fernández-Arroyo *et al.* (2011). Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus Sabdariffa* aqueous extract. *Food Res Int.* 44, 1490–1495.
- Sari, W. (2008). *Care your self : hepatitis*. Jakarta : penebar plus, 12, 27-28.
- Setiawan, R., 2010, Pengaruh pemberian ekstrak kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Shimada, T., 2006. Xenobiotic-metabolizing enzym involved in activation and detoxification of carcinogen polycyclic aromatic hydrocarbon. *Drug Metab Pharmacocient.* 27(4):257-76.
- Sujono TA and Widiatmoko YW. 2012, Influence Dried Flower of *Hibiscus sabdariffa* Linn Infusion on Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT) Level against Paracetamol Induced Liver Injury in Rats International Conference: Research and Application on Traditional Complementary and Alternative Medicine in Health Care (TCAM), Surakarta, Indonesia.
- Sumastuti dan Solinmar M, 2002. Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan Daun Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) terhadap Sel Hela. <http://www.ixoranet.or.id>. Diakses tanggal Diakses tanggal 1 juli 2013.
- Sunilson. J.A.J., Jayaraj. P., Mohan. M. S., Kumari. A. A. G., Varatharajan. R. 2008. Antioxidant and hepatoprotective effect of the roots of Hibiscus esculentus Linn. *Int J Green Pharm* 2:200-3
- Thomas, L., 1998, *Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (APT), 1st ed, TH-Books Verlagsgesellschaft*, Frankfurt, p.55-65.
- Tietz, N. W., Rinker, D., and Shawn L. M., 1983, IFCC Method for Alkalie phosphatase, *J Clin Chem Clin Biochem*, 21 : 731-748
- Ujowandu CO, Lgwe CU, Enemor VHA, Nwaongu LA, Okavor. 2008. Nutrition and anti-nutritive properties of *boerhavia diffusa* and *commelina nudiflora* leaves. *Pak J Nutr.* 7 : 90-92.
- Underwood, J.C.E., 2000. *Patologi Umum dan Sistemik*. Penerbit EGC, Jakarta.
- Valko, M., 2006, Free radical, metal and antioxidant in oxidative stres induced cancer, *J. Chem-Biol*, Rusia, Edisi 160.p. 1-40.
- Wang, C. J., Wang, J. M., Lin, W. L., Chu, C. Y., Chou, F. P., & Tseng, T. H. 2000. Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food. Chem Toxicol*, 38, 411–416.
- Widmann., 1995, *Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Penerbit EGC. Jakarta.
- Winarsi, Hery., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, kanisius, Yogyakarta, hal.11, 77-81.
- Wong, P. K., Yusof, S., Ghazali, H. M., & Che Man, Y. B. (2002). Physico-chemical characteristics of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.). *Nurt Food Scie*, 32, 68–73.
- Yin, G., Cao, L., Jeney, G., Nakao, M. (2001). Hepatoprotective and antioxidant effects of *Hibiscus sabdariffa* extract against carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in *Cyprinus carpio*. *In Vitro Cell Develop Biol - Animal Volume 47, Issue 1* , pp 10-15.