

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA ROSELLA
(*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP KERUSAKAN SEL-SEL
HEPAR MENCIT (*Mus musculus*) AKIBAT PAPANAN
PARASETAMOL**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**AGNES EFI SUSILOWATI
G0005040**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2009**

Skripsi dengan judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) terhadap Kerusakan Sel-sel Hepar Mencit (*Mus musculus*) akibat Paparan Parasetamol

Agnes Efi Susilowati, NIM/Semester : G0005040/VIII, Tahun 2009

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
Pada Hari Jumat, Tanggal 30 Oktober 2009

Pembimbing Utama

Nama : Suyatmi, dr., M.Biomed.Sci.

NIP : 197201052001122001

Pembimbing Pendamping

Nama : Riza Novierta Pesik, dr., M.Kes

NIP : 196511171997022001

Penguji Utama

Nama : Isdaryanto, dr., MARS

NIP : 195003121976101001

Anggota Penguji

Nama : Ir. Ruben Dharmawan, dr., Ph.D

NIP : 195111201986011001

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Sri Wahjono, dr., M.Kes.
NIP : 19450824197310100

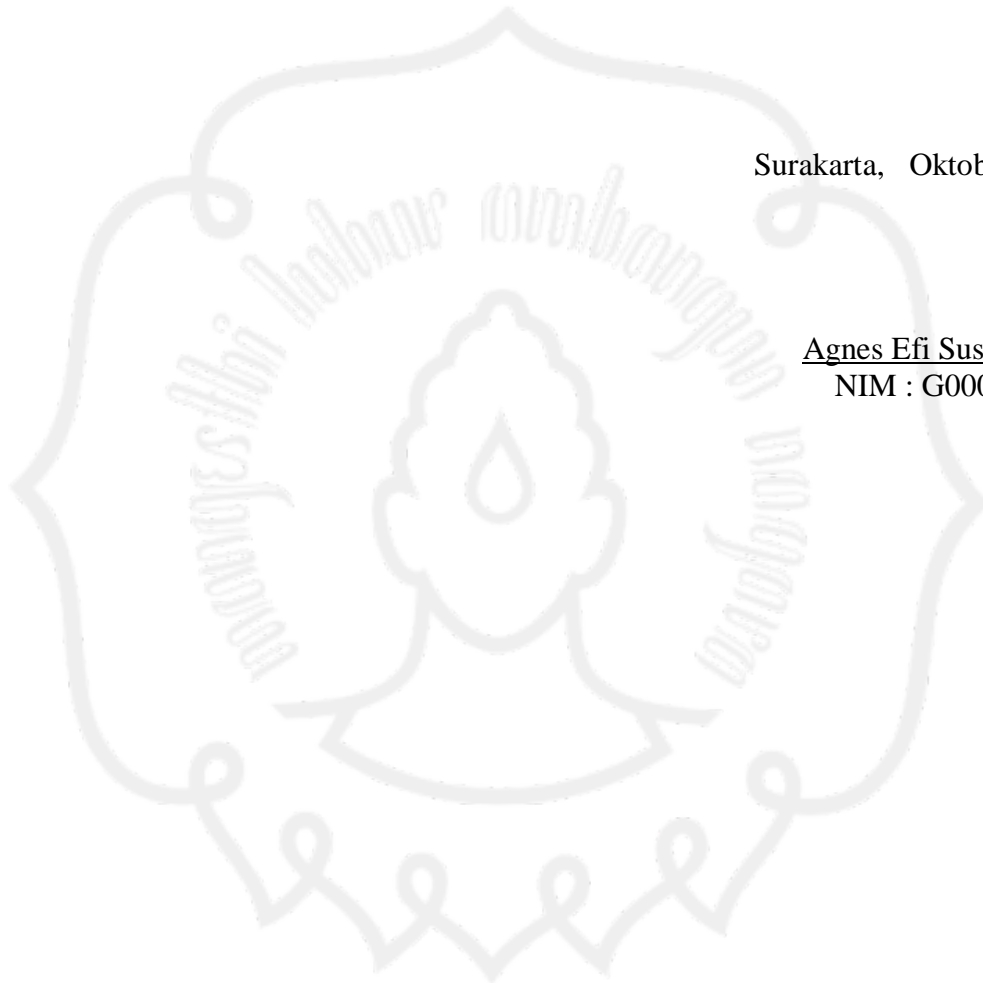
Prof. Dr. A. A. Subijanto, dr., MS.
NIP : 194811071973101003

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka

Surakarta, Oktober 2009

Agnes Efi Susilowati
NIM : G0005040



ABSTRAK

Agnes Efi Susilowati, G0005040, 2009, Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Kerusakan Sel-sel Hepar Mencit (*Mus musculus*) Akibat Paparan Parasetamol.

Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung antosianin sebagai antioksidan yang diketahui bersifat hepatoprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dapat mengurangi kerusakan sel-sel hepar mencit (*Mus musculus*) akibat paparan parasetamol.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *the post test only control group design*. Menggunakan 30 ekor mencit jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan \pm 20 gram. Mencit dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok kontrol (K) diberi diet standar, kelompok PI diberi diet standar dan dosis tunggal parasetamol sebesar 3,38 mg/20g BB mencit peroral pada hari ke-8, ke-9 dan ke-10, dan kelompok PII diberi diet standar, ekstrak bunga rosella dosis 5,6 mg/ 20 g BB mencit selama 10 hari dan dosis tunggal parasetamol sebesar 3,38 mg/ 20g BB mencit peroral pada hari ke-8, ke-9 dan ke-10. Perlakuan diberikan selama 10 hari, pada hari ke-11 semua mencit dikorbankan, kemudian lobus hati kanan diambil untuk dibuat preparat hati dengan pengecatan HE. Pengamatan terhadap jumlah inti sel hati yang mengalami piknosis, korioreksis, dan koriolisis dilakukan dengan perbesaran 400x. Data yang diperoleh kemudian diberi skor dan dibandingkan perbedaannya antara ketiga kelompok dengan uji statistik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD (Least Significant Difference) untuk mengetahui letak perbedaan masing-masing kelompok.

Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara ketiga kelompok perlakuan. Hasil uji LSD memperlihatkan perbedaan bermakna antara kelompok K dan PI, K dan PII, serta PI dan PII.

Simpulan yang diperoleh adalah dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) tidak dapat mengurangi kerusakan sel-sel hepar mencit (*Mus musculus*) akibat paparan parasetamol.

Kata kunci: ekstrak bunga rosella, parasetamol, kerusakan sel hepar

ABSTRACT

Agnes Efi Susilowati, G0005040, 2009. The Effect of Flower Extracts of *Hibiscus sabsariffa* L. to Mice Liver Cell Damage Caused by Paracetamol Induction. Medical Faculty of Sebelas Maret University, Surakarta.

Flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. contains anthocianin as antioxidant that is known as hepatoprotective. The aim of the research is to know about the effect of flower extract of *Hibiscus sabdariffa* L. to mice liver cells damage caused by paracetamol-induced.

This research is laboratory experimental research with post test only control group design. The research used 30 mice, which is age 2-3 months with \pm 20 gram in weight. The mice were divided into three groups, that were control group (K) given standard diet, PI group given standard diet and 3,38 mg/20g mice's weight dose of paracetamol orally in the day 8-10, and PII group given standard diet, 5,6 mg/ 20g mice' weight dose of flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. for 10 days and 3,38 mg/20g mice's weight orally in the day 8-10. the treatment was given for 10 days, at the 11th day all of mice were killed, then their right liver lobe was taken to used as liver preparation with HE dying. The observation toward the number of liver cell undergoing a picnosis, coriorecsis, and coriolisis was done with a 400 times enlargement. The data derived then were scored and compared in term of their differences within three groups through ANOVA statistical test, and it was continued by the LSD (Least Significant Difference) in order to find out the difference of each group.

The ANOVA statistical test showed that there were any significant differences between three treatment groups. The result of LSD test also showed the significant differences toward K group and PI group, K group and PII group, and also PI group and PII group.

From this research, we can conclude that the giving of flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. can not reduce mice liver cells damage caused by paracetamol induction.

Key words: flower extract of *Hibiscus sabdariffa* L., paracetamol, liver cells damage

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah Bapa yang Maha Pengasih karena berkat anugerah-Nya penulisan skripsi dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Kerusakan Sel-sel Hepar Mencit (*Mus musculus*) akibat Paparan Parasetamol" ini dapat diselesaikan.

Segala sesuatu yang telah penulis lakukan dalam upaya menyelesaikan skripsi ini, tentunya tidak terlepas dari bantuan dan dukungan berbagai pihak, untuk itu dengan rasa hormat dan tulus, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. A.A. Subijanto, dr., MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Sri Wahjono, dr., MKes., selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Suyatmi, dr., M.Biomed.Sci., selaku Pembimbing Utama yang dengan sabar dan tulus telah memberikan bimbingan yang berharga kepada penulis.
4. Riza Novierta Pesik, dr., M.Kes., selaku Pembimbing Pendamping yang dengan sabar dan tulus telah memberikan bimbingan yang berharga kepada penulis.
5. Isdaryanto, dr., MARS., selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji serta memberikan saran dalam melengkapi kekurangan penulisan skripsi ini.
6. Ruben Dharmawan, dr., Ir., Ph.D, selaku Anggota Penguji yang telah berkenan menguji serta memberikan saran dalam melengkapi kekurangan penulisan skripsi ini.
7. Bagian skripsi Fakultas Kedokteran UNS yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
8. Segenap Staf Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran UNS, Surakarta yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.
9. Bapak, Ibu, adikku dan seluruh keluarga, untuk kasih, kesabaran, dukungan, dan doa yang selalu ada untuk penulis selama penyusunan skripsi ini.
10. Teman-teman yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam penyelesaian skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Tuhan memberkati.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka kritik dan saran yang membangun dari pembaca sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surakarta, Oktober 2009

Agnes Efi Susilowati

DAFTAR ISI

PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka.....	5
B. Kerangka Pemikiran.....	19
C. Hipotesis.....	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	21
B. Lokasi Penelitian.....	21
C. Subyek Penelitian.....	21
D. Besar Sampel.....	21
E. Teknik Sampling.....	22
F. Variabel Penelitian.....	22
G. Skala Variabel.....	23
H. Definisi Operasional Variabel.....	23
I. Sumber Data.....	25
J. Rencana Penelitian.....	25
K. Alat dan Bahan.....	26
L. Cara Kerja.....	27
M. Teknik Analisis Data.....	30
BAB IV HASIL PENELITIAN	
A. Data Hasil Penelitian.....	31
B. Analisis Data.....	32
BAB V PEMBAHASAN.....	35
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan.....	39
B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan gizi kelopak bunga rosella segar per 100 gram

Tabel 2. Kandungan senyawa kimia dalam kelopak bunga rosella

Tabel 3. Rata-rata skor kerusakan sel hepar dari masing-masing kelompok

Tabel 4. Hasil uji ANOVA antara ketiga kelompok untuk skor kerusakan sel hepar

Tabel 5. Hasil uji LSD antara ketiga kelompok untuk skor kerusakan sel Hepar

Tabel 6. Jumlah inti sel hepar yang mengalami piknotik, korioreksis, dan koriolisis pada kelompok kontrol

Tabel 7. Jumlah inti sel hepar yang mengalami piknotik, korioreksis, dan koriolisis pada kelompok perlakuan I

Tabel 8. Jumlah inti sel hepar yang mengalami piknotik, korioreksis, dan koriolisis pada kelompok perlakuan II

Tabel 9. Tabel konversi dosis manusia dan hewan

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1.** Gambar skematis hepar
- Gambar 2.** Grafik rata-rata skor kerusakan sel hati dari masing-masing kelompok
- Gambar 3.** Gambaran inti sel hepar mencit pada kelompok kontrol dengan perbesaran 400X
- Gambar 4.** Gambaran inti sel hepar mencit pada kelompok perlakuan I dengan perbesaran 400X
- Gambar 5.** Gambaran inti sel hepar mencit pada kelompok perlakuan II dengan perbesaran 400X

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran A** Data hasil pengamatan mikroskopis
- Lampiran B** Hasil analisis data SPSS
- Lampiran C** Konversi Dosis untuk Manusia dan Hewan
- Lampiran D** Gambaran Histologis Inti Sel Hepar Mencit setelah Perlakuan
- Lampiran E** Surat Ijin Pembuatan Ekstrak



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obat-obat yang dapat diperoleh dengan mudah di toko obat atau di kedai-kedai di desa atau apotik tanpa resep dokter, dikenal sebagai obat bebas atau disebut juga golongan obat OTC (*Over the Counter Drug*). Obat bebas yang paling banyak digunakan masyarakat adalah obat analgetika (penghilang rasa sakit) (Arifin, 2008). Acetaminofen (N-acetyl-p-aminophenol; APAP; parasetamol) telah menjadi analgetik-antipiretik yang paling banyak digunakan secara luas. Parasetamol merupakan salah satu dari ratusan obat bebas dan obat yang diresepkan yang telah digunakan diseluruh dunia. Meskipun obat ini sesungguhnya aman bila digunakan pada dosis terapi, overdosis parasetamol telah dikenal sebagai penyebab nekrosis hati sejak 1966 (Burns *et al.*, 2008). Keracunan serius bisa terjadi dengan kira-kira sedikitnya 12-20 tablet parasetamol @ 500 mg sekaligus telan, tergantung dari kapasitas individual setiap orang. Jadi, parasetamol merupakan bahan toksis (akut) hanya dalam jumlah yang besar (Darmansjah, 2002).

Sebagian besar obat masuk melalui saluran cerna, dan hati berperan sentral dalam metabolisme obat. Hati merupakan pusat disposisi metabolik dari semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk tubuh. Kejadian jejas hati karena obat

mungkin jarang terjadi, namun akibat yang ditimbulkannya bisa fatal (Bayupurnama, 2006).

Melihat cukup besarnya dampak yang ditimbulkan oleh keracunan parasetamol, maka perlu diketemukan bahan hepatoprotektor baru, yang alami dan sedikit menimbulkan efek samping. Salah satu tanaman yang menarik untuk diteliti sebagai bahan hepatoprotektor baru tersebut, adalah Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.). Rosella dapat tumbuh dengan baik di daerah beriklim tropis dan subtropics. Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) merupakan anggota famili Malvaceae. Tanaman ini mempunyai habitat asli di daerah yang terbentang dari India sampai Malaysia. Selain mengandung vitamin C, kelopak bunga rosella juga mengandung vitamin A dan 18 jenis asam amino yang diperlukan tubuh. Salah satunya arginin yang berperan dalam proses pematangan sel tubuh. Di samping itu rosella juga mengandung protein, kalsium, dan unsur-unsur lain yang berguna bagi tubuh. Kelopak bunga rosella mengandung campuran asam sitrat dan asam malat, serta antosianin yaitu gossipetin (*hydroxyflavone*) dan hibiscin. Suatu hasil penelitian menunjukkan bahwa rosella mengandung 24% antioksidan dan 51% antosianin. Dengan adanya antioksidan, sel-sel radikal bebas yang merusak inti sel dapat dihilangkan, itu sebabnya rosella memiliki efek antikanker (Maryani dan Kristiana, 2005). Adanya antioksidan rosella seperti gossipetin, antosianin, dan glukosida hibiscin memberikan perlindungan terhadap berbagai penyakit degeneratif seperti Jantung Koroner, Kanker, Diabetes Melitus, dan Katarak (Fitriani, 2008).

Di Indonesia, penggunaan rosella di bidang kesehatan memang belum begitu populer dan penelitian empiris tentang efek hepatoprotektif ekstrak bunga rosella belum banyak dilakukan. Namun akhir-akhir ini, minuman berbahan rosella mulai banyak dikenal sebagai minuman kesehatan. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin melihat pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap derajat kerusakan sel-sel hepar mencit akibat paparan parasetamol.

B. Perumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dapat mengurangi kerusakan sel-sel hepar mencit (*Mus musculus*) akibat paparan parasetamol?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efek hepatoprotektor ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap kerusakan sel-sel hepar mencit (*mus musculus*) akibat paparan parasetamol.

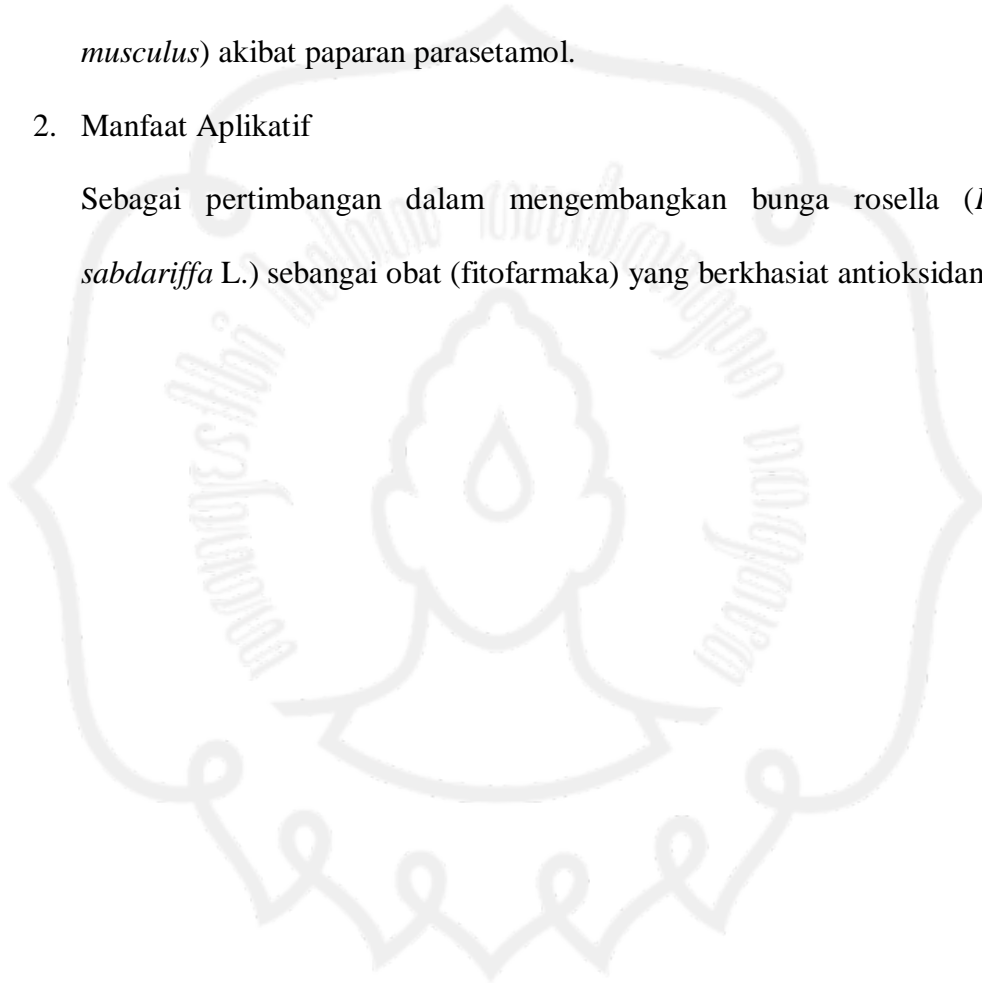
D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek hepatoprotektor bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada mencit (*Mus musculus*) akibat paparan parasetamol.

2. Manfaat Aplikatif

Sebagai pertimbangan dalam mengembangkan bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) sebagai obat (fitofarmaka) yang berkhasiat antioksidan.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Struktur Histologis Hepar

Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh, dengan berat sekitar 1500 gram pada orang dewasa. Hepar terletak di kuadran kanan atas dari rongga abdomen, dengan permukaan atasnya yang membuat sesuai kubah diafragma (Bloom dan Fawcett, 2000). Dalam keadaan normal, konsistensinya kenyal, warnanya merah tua atau merah coklat, warna tersebut terutama disebabkan oleh darah yang amat banyak (Leeson *et al.*, 1989).

a. Lobulus hepar

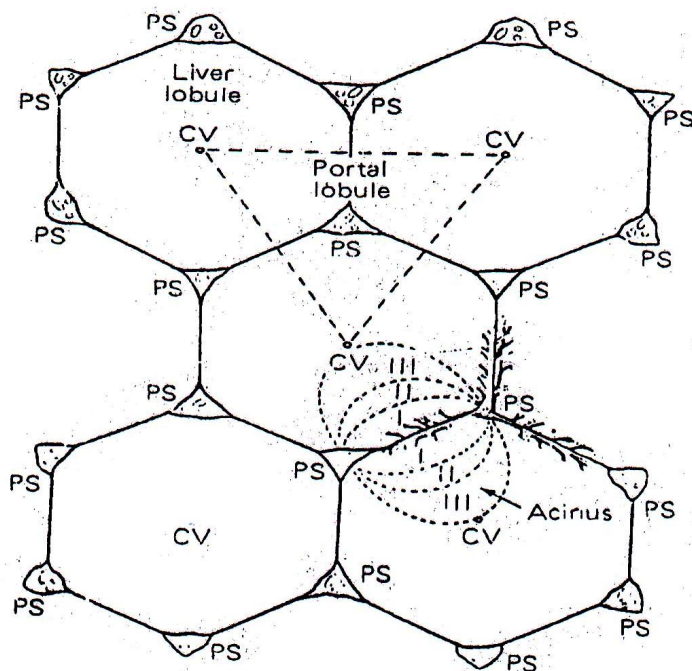
Lobulus hepar merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hepar yang berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis (Price and Wilson, 1997)

Pembagian lobulus hepar sebagai unit fungsional dibagi menjadi tiga zona (Leeson *et al.*, 1989) :

Zona 1 : Zona aktif, sel-selnya paling dekat dengan pembuluh darah yaitu vena porta dan arteri hepatica, akibatnya zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk.

Zona 2 : Zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah.

Zona 3 : Zona pasif, aktifitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhannya meningkat.



Gambar 1. Gambar skematis hepar.

b. Parenkim (sel-sel) hepar

Parenkim atau sel-sel hepar (hepatosit) tersusun lempeng-lempeng atau lembaran-lembaran bercabang-cabang dan beranastomosis membentuk labirin, dengan di antaranya terdapat ruang sinusoid. Sel hepar berbentuk poligonal dengan enam atau lebih permukaan, berukuran 20-35 μm dengan membrane sel yang jelas. Inti bulat atau lonjong dengan

permukaan teratur dan besarnya bervariasi dari sel satu dengan lainnya. Masing-masing inti bentuknya vasikular dengan granula kromatin tampak jelas dan tersebar, dengan satu atau lebih anak inti (Leeson *et al.*, 1998).

c. Sinusoid hepar

Merupakan celah yang terdapat di antara sel-sel hepar. Berbentuk sebagai pembuluh yang melebar tidak teratur yang terdiri atas sel-sel endotel tertingkap yang membentuk lapisan tidak utuh. Sel endotel dipisahkan dengan hepatosit dibawahnya oleh celah subendotel yang disebut *disse*. Di dalam sinusoid juga terdapat sel-sel fagositosis retikuloendotelial yaitu sel *kupffer* (Junquire and Carneiro, 1995).

d. Kanalikuli biliferus

Merupakan celah tubuler yang hanya dibatasi oleh membran plasma hepatosit dan mempunyai sedikit mikrovili pada bagian dalamnya. Kanalikuli biliferus membentuk anastomosis yang kompak di sepanjang lempang-lempeng lobulus hepar dan berakhir dalam daerah porta. Oleh karena itu, empedu mengalir berlawanan arah dengan aliran darah, yaitu dari tengah ke tepi lobulus. Beberapa kanalikuli biliferus membentuk duktulus biliferus yang bermuara dalam duktus biliferus dalam segitiga porta. Duktus biliferus bersatu dan membentuk duktus hepatikus (Junquire and Carneiro, 1995).

e. Triad portal

Merupakan tempat-tempat dimana tiga atau lebih unit lobulus bertemu dimana terdapat akumulasi jaringan pengikat. Triad portal mengandung cabang dari vena porta, arteri hepatica dan duktus biliferus (Junquire and Carneiro, 1995).

f. Daya regenerasi hepar

Hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang mengagumkan. Daya regenerasi hepar setelah mengalami trauma atau mendapat zat-zat toksik sangat tinggi (Leeson *et al.*, 1998). Kehilangan jaringan hepar akibat kerja zat-zat toksik atau pembedahan memacu suatu mekanisme dimana sel-sel hepar mulai membelah dan hal ini terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan semula tercapai (Junquire and Carneiro, 1995).

2. Mikroskopis Kerusakan Hepar

Hepar mempunyai kapasitas cadangan yang sangat besar, kerana hepar merupakan organ tubuh yang paling sering menerima jejas. Kapasitas cadangan hepar dapat habis apabila hati terkena penyakit yang menyerang seluruh parenkim hepar sehingga timbul kerusakan pada hepar. Kerusakan sel hepar dapat berupa kerusakan ringan pada sel hati, dalam bentuk perubahan perlemakan melalui lesi yang sama dengan hepatitis virus, sampai nekrosis hepatic yang massif (Robbins and Kumar, 1995).

Kematian sel dan jaringan pada tubuh yang hidup disebut nekrosis. Secara mikroskopis jaringan nekrosis seluruhnya berwarna kemerahan dan tidak mengambil zat warna hematoksilin, sering pucat. Pada nekrosis perubahan terutama tampak pada inti, perubahan pada inti diantaranya adalah (Saleh, 1979) :

- a. hilangnya gambaran kromatin
- b. inti menjadi keriput, tidak vasikuler lagi
- c. inti tampak lebih padat, warnanya gelap hitam (piknosis)
- d. inti terbagi-bagi atas fragmen-fragmen, robek (karioreksis)
- e. inti tidak lagi mengambil zat warna, karena itu pucat dan tidak nyata (kariolisis).

Umumnya perubahan-perubahan lisis yang terjadi pada sel nekrotik dapat terjadi pada semua bagian sel, tetapi perubahan pada inti sel adalah petunjuk paling jelas pada kematian sel (Price and Wilson, 1997).

3. Parasetamol

Asetaminofen (parasetamol) merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang sama dan telah digunakan sejak tahun 1893. efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen. Asetaminofen ini di Indonesia dikenal dengan nama parasetamol, dan tersedia sebagai obat bebas. Efek analgesic parasetamol yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Parasetamol menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga berdasarkan efek sentral. Efek antiinflamasi

sangat lemah, oleh karena itu tidak digunakan sebagai antireumatik. Parasetamol merupakan penghambat biosintesis prostaglandin yang lemah. Efek iritasi, erosi dan perdarahan lambung tidak terlihat pada obat ini, demikian juga gangguan pernafasan dan keseimbangan asam basa (Wilmana, 1995).

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tinggi dalam plasma dicapai dalam waktu setengah jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam. Dalam plasma 25 % parasetamol terikat protein plasma dan sebagian dimetabolisme enzim mikrosom hati. Sebagian parasetamol (80%) dikonjugasikan dengan asam glukoronat dan sebagian kecil lainnya dengan asam sulfat (Wilmana, 1995).

Pada dosis terapi, 5-15% parasetamol biasanya akan diubah oleh sitokrom P450 menjadi metabolit yang sangat reaktif, N-asetil-p-benzo-quinoneimine (NAPQI). Biasanya NAPQI secara cepat didetoksifikasi oleh cadangan glutathion sel. Glutathion dalam bentuk pereduksi aktifnya mengandung gugus sulfenil yang akan berikatan dengan NAPQI. Reaksi tersebut menghasilkan pembentukan konjugat sistein dan asam merkapturat yang akan diekskresikan dalam urin. Pada saat keracunan parasetamol, jumlah dan kecepatan pembentukan NAPQI dapat melebihi kemampuan hepar untuk mengisi kembali persediaan cadangan glutathion (Chan *et al.*,1994). Depleksi glutathion mengakibatkan NAPQI bebas berikatan secara kovalen dengan gugus sistein pada protein. Target utamanya adalah protein mitokondria, yang

mengakibatkan kerusakan produksi ATP (energi). Disfungsi mitokondria juga akan menghasilkan reaktif oksigen spesies (ROS) yaitu superoksida/ O_2^- dan reaktif nitrogen spesies (RNS) yaitu peroksinitrit (Grypioti, 2006), yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif inilah yang menyebabkan terjadinya hepatotoksisitas (Handajani, 2008). Jenis kerusakan hati karena keracunan parasetamol adalah nekrosis sel hati, yang ditandai dengan pembengkakan sel, kebocoran membran plasma, disintegrasi nukleus, dan masuknya sel-sel radang (Treinen dan Moslen, 2003). Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kg BB) parasetamol. Kerusakan yang timbul berupa nekrosis sentrolobularis (Wilmana, 1995).

4. Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.)

. Rosella dapat tumbuh dengan baik di daerah beriklim tropis dan subtropics. Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) merupakan anggota famili Malvaceae. Tanaman ini mempunyai habitat asli di daerah yang terbentang dari India sampai Malaysia. Rosella merupakan herba tahunan yang bisa mencapai ketinggian 0,5-3 meter. Batangnya bulat, tegak, berkayu, dan berwarna merah. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cm dan lebarnya 5-8 cm. Bunga rosella yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal. Bunga ini mempunyai 8-11 helai kelopak yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan, dan berwarna merah. Bagian

inilah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman. Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helai, panjangnya 3-5 cm. Buahnya berbentuk kotak kerucut, berambut, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal, berbulu, dengan panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Saat masih muda, biji berwarna putih dan setelah tua berubah menjadi abu-abu (Maryani dan Kristiana,2005).

Dalam Taksonomi tumbuhan, rosella diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae
Marga	: Hibiscus
Jenis	: <i>Hibiscus sabdariffa</i>

Beberapa bagian dari rosella termasuk biji, daun, buah dan akar dapat digunakan dalam berbagai makanan. Di antaranya, kelopak bunga segar yang berwarna merah yang paling populer. Tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan wine, jus, selai, jelly, sirup, gelatin, pudding, kue, es krim dan zat perasa. Kelopak bunga rosella dapat juga dikeringkan dan diseduh menjadi teh. Kelopak bunganya mempunyai pektin yang membuat jelly menjadi kokoh. Daunnya yang masih muda dan batangnya yang lunak dapat dimakan mentah sebagai salad atau dimasak sendiri sebagai sayur atau dicampur

dengan sayuran yang lain atau dengan daging (Qi *et al.*,2005). Sementara itu, bijinya dapat dimanfaatkan sebagai pengganti kopi. Cara pembuatan kopi dari biji rosella adalah menyangrai bijinya, kemudian dibuat tepung. Kopi biji rosella ini sudah lama terkenal di Afrika (Maryani dan Kristiana,2005).

Di Indonesia, penggunaan rosella di bidang kesehatan memang belum begitu populer. Namun akhir-akhir ini, minuman berbahan rosella mulai banyak dikenal sebagai minuman kesehatan. Di India, Afrika, dan Meksiko seluruh bagian tanaman rosella berfungsi sebagai obat tradisional. Daun dan kelopak bunga yang direbus dengan air diakui berkhasiat sebagai peluruh kencing dan merangsang keluarnya empedu dari hati (choleretic). Selain itu juga dapat menurunkan tekanan darah (hypotensive), mengurangi kekentalan (viskositas) darah dan meningkatkan peristaltik usus. Khasiat lain tanaman rosella yang dikenal di antaranya sebagai antikejang (antispasmodic), mengobati cacingan, dan sebagai antibakteri. Daun rosella juga bisa mengobati kaki pecah-pecah dan luka bakar ringan. Bijinya pun berkhasiat sebagai diuretic dan tonikum (Maryani dan Kristiana,2005).

Adanya antioksidan rosella seperti gossipetin, antosianin, dan glukosida hibiscin memberikan perlindungan terhadap berbagai penyakit degeneratif seperti jantung Koroner, Kanker, Diabetes Melitus, dan Katarak (Fitriani , 2008)

Selain mengandung vitamin C, kelopak bunga rosella juga mengandung vitamin A dan 18 jenis asam amino yang diperlukan tubuh.

Salah satunya arginin yang berperan dalam proses peremajaan sel tubuh. Di samping itu rosella juga mengandung protein, kalsium, dan unsur-unsur lain yang berguna bagi tubuh. Kandungan gizi dalam 100 g kelopak rosella segar dapat dilihat dalam tabel berikut :

Tabel 1. Kandungan gizi kelopak bunga rosella segar per 100 gram

Nama senyawa	Jumlah
Kalori	44 kal
Air	86,2 %
Protein	1,6 g
Lemak	0,1 g
Karbohidrat	11,1 g
Serat	2,5 g
Abu	1,0 g
Kalsium	160 mg
Fosfor	60 mg
Besi	3,8 mg
Betakarotein	285 mg
Vitamin C	14 mg
Tiamin	0,04 mg
Riboflavin	0,6 mg
Niasin	0,5 mg
Sulfida	-
Nitrogen	-

(Sumber : Maryani dan Kristiana, 2005)

Tabel 2. Kandungan senyawa kimia dalam kelopak bunga rosella

Nama Senyawa	Jumlah
Campuran asam sitrat dan asam malat	13%
Anthocyanin yaitu gossipetin (<i>hydroxyflavone</i>) dan hibiscin	2%
Vitamin C	0,004-0,005%
Protein	
Berat segar	6,7%
Berat kering	7,9%

(Sumber : Maryani dan Kristiana, 2005)

Suatu hasil penelitian menunjukkan bahwa rosella mengandung 24% antioksidan dan 51% antosianin. Dengan adanya antioksidan, sel-sel radikal bebas yang merusak inti sel dapat dihilangkan, itu sebabnya rosella memiliki efek antikanker. Sementara itu, zat antosianin berperan juga menjaga sel dari sinar ultra violet yang diserap tubuh (Maryani dan Kristiana,2005).

Antosianin merupakan pigmen tanaman yang larut air. Antosianin hanya terdapat pada tanaman dengan warna terang pada setiap bagiannya mulai dari bunga, daun dan buah atau sayuran yang dapat dimakan (Gross, 2006). Akhir-akhir ini, ketertarikan pada antosianin semakin meningkat dikarenakan kemungkinan adanya manfaat bagi kesehatan sebagai antioksidan. Antosianin merupakan salah satu jenis senyawa flavonoid. Flavonoid dapat membantu mencegah stroke. Selain dapat menghambat perkembangan tumor, flavonoid juga berfungsi sebagai antikanker. Pigmen

antosianin telah lama digunakan untuk memperbaiki ketajaman mata, mengobati penyakit sirkulasi. Antosianin berkasiat anti-inflamasi, mengobati diabetes dan ulcus dan dapat juga sebagai antiviral dan antimikroba (Wrolstad, 2001). Sebagai antioksidan, antosianin dapat mengurangi kerusakan oksidatif DNA, meningkatkan cadangan glutation, dan meningkatkan ekspresi protein *glutathione S-transferase* P1 (hGSTP1) pada leukosit. hGSTP1 ditampilkan untuk mencegah kerusakan DNA dan mutagenesis (Corredor, 2007).

Vitamin C sebagai sumber antioksidan memiliki manfaat bagi tubuh antara lain membantu menjaga kesehatan sel, meningkatkan penyerapan asupan zat besi, dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh. Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi untuk mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi atau sebagai *oxygen scavenger* (Kumalaningsih, 2007). Menurut Jansen dan Erika, vitamin C dapat mengikat berbagai oksigen reaktif seperti super oksida, radikal hidroperoksil, oksigen singlet dan radikal nitrit oksida, dengan demikian secara efektif melindungi substansi lain dari kerusakan oksidatif. Pemberian sejumlah vitamin C juga dapat mencegah proses glikogenolisis selama fase oksidatif (Argapay, 2008). Sebagai anti oksidan, peranan utama vitamin C adalah menetralsir radikal bebas. Radikal bebas akan mencari sebuah elektron untuk mencapai kembali kestabilannya. Vitamin C merupakan sumber elektron yang sangat baik, maka, vitamin C dapat mendonorkan elektron untuk radikal bebas dan menghilangkan

kereaktifan mereka. Vitamin C juga bekerja sama dengan glutathione peroxidase (enzim utama untuk melawan radikal bebas) untuk menguatkan kembali vitamin E, antioksidan yang larut dalam lemak (Null, 1993).

5. Mekanisme perlindungan ekstrak bunga rosella terhadap kerusakan sel hepar akibat paparan parasetamol

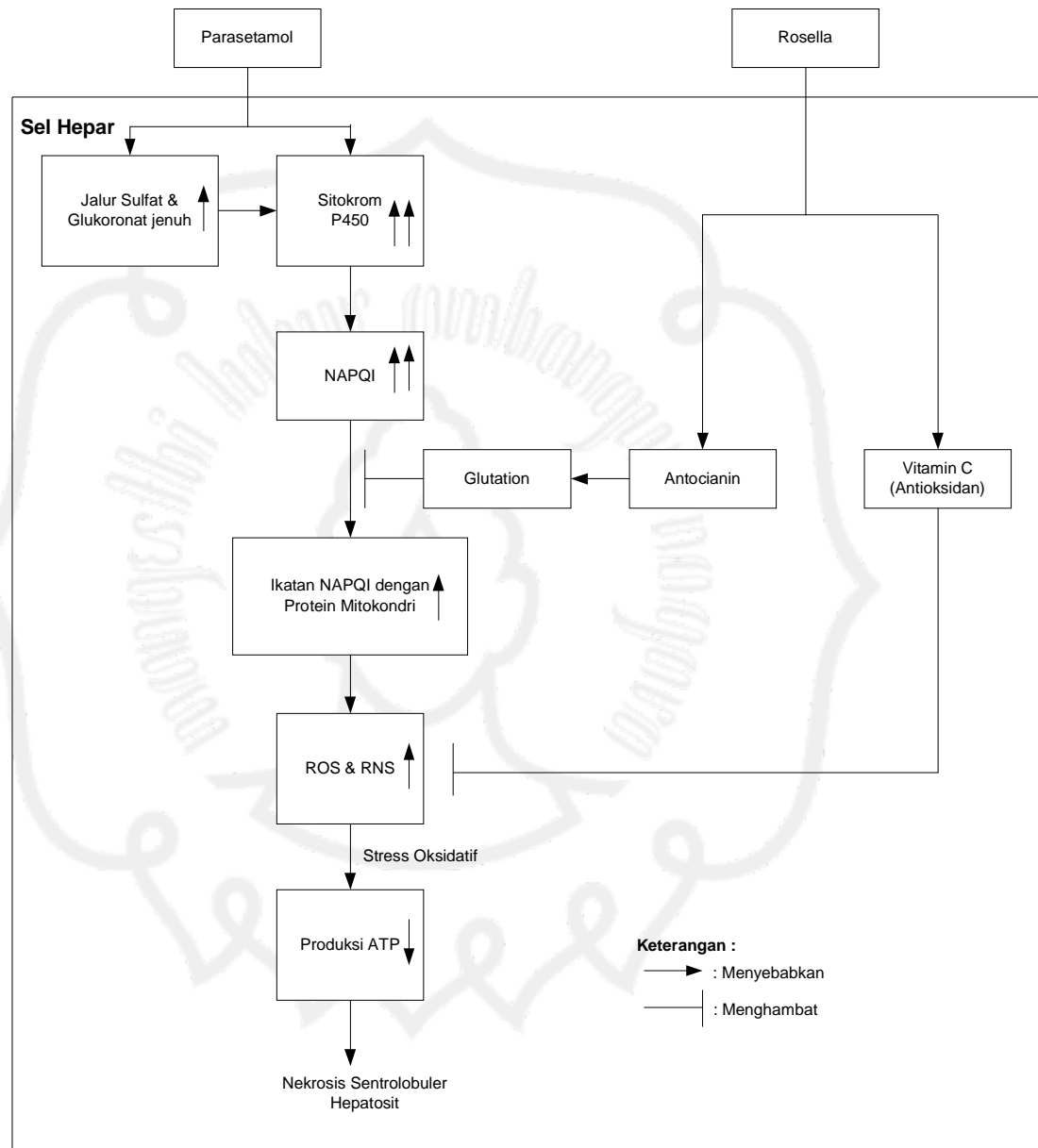
Pada kondisi normal, sebagian besar parasetamol dikonjugasikan dengan sulfat dan glukoronat dan sebagian kecil akan dioksidasi oleh sitokrom P450 menjadi metabolit reaktif N-asetil-p-benzo-quinon (NAPQI) yang kemudian oleh glutathione hati akan didetosifikasi menjadi konjugat non toksik yang akan dikeluarkan melalui ginjal. Pada pemberian parasetamol yang besar, jalur sulfat dan glukoronat menjadi jenuh dan dialihkan ke sitokrom P450 untuk membentuk NAPQI. Jumlah NAPQI yang besar menyebabkan deplesi glutathione dan NAPQI bebas berikatan dengan protein mitokondria. Akibatnya akan terjadi kerusakan produksi ATP (energi) yang akan menyebabkan kerusakan sel yang mengarah pada nekrosis. Selain itu disfungsi mitokondria akan menghasilkan ROS dan RNS yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif inilah yang menyebabkan terjadinya hepatotoksisitas. Jenis kerusakan hepar karena keracunan parasetamol adalah nekrosis sel hati, yang ditandai dengan pembengkakan sel, kebocoran membran plasma, disintegrasi nukleus, dan masuknya sel-sel radang.

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang mengandung antosianin diharapkan mampu melindungi hepar dari kerusakan akibat paparan

parasetamol dengan cara menaikkan cadangan glutathion dan mengurangi kerusakan oksidatif, sedangkan vitamin C sebagai antioksidan diharapkan dapat mencegah kondisi stress oksidatif dengan menyumbangkan salah satu elektronnya kepada radikal bebas ROS dan RNS sehingga kerusakan sel hepar dapat dikurangi.



B. Kerangka Pemikiran



C. Hipotesis

Pemberian ekstrak bunga rosella dapat mengurangi kerusakan sel hepar mencit akibat paparan parasetamol.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik, dengan *posttest only controlled group design*.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

C. Subyek Penelitian

Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit berjenis kelamin jantan berusia 2-3 bulan, berat ± 20 gram sebanyak 30 ekor.

D. Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini adalah 30 mencit dari populasi yang sudah ditetapkan kriterianya. Populasi mencit yang telah memenuhi kriteria tersebut diatas kemudian diambil 30 ekor kemudian dikelompokkan ke dalam 3 kelompok perlakuan sehingga masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 10 ekor mencit.

Jumlah sampel ini ditetapkan berdasarkan rumus federer :

$$= (n-1)(t-1) > 15$$

Keterangan:

n : jumlah sampel yang akan dicari

t : jumlah kelompok yang akan diteliti

Jumlah kelompok yang diteliti dalam penelitian ini adalah 3

Jadi $t = 3$, maka perhitungannya : $(n-1)(t-1) > 15$

$$(n-1)(3-1) > 15$$

$$(n-1) 2 > 15$$

$$2n - 2 > 15$$

$$2n > 17$$

$$n > 8,5$$

Menurut perhitungan, jumlah sampel harus lebih dari 8,5 ekor per kelompok. Sehingga pada penelitian ini, peneliti menetapkan jumlah sampel 10 ekor per kelompok.

E. Teknik Sampling

Penentuan sampel dilakukan dengan cara *purposive sampling* (Murthi, 1994)

F. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Dosis ekstrak bunga rosella
2. Variabel terikat : Kerusakan sel hepar
3. Variabel luar :
 - a. Variabel luar yang terkontrol :
makanan, genetik, jenis kelamin, umur, berat badan, suhu udara, iklim penyimpanan.

b. Variabel luar yang tidak terkendali :

- 1) Kondisi psikologis hewan percobaan.
- 2) Patogenesis suatu zat yang dapat merusak hepar selain radikal bebas
yaitu : hipersensivitas (alergi)
- 3) Daya regenerasi sel hepar dari masing-masing binatang percobaan
- 4) Imunitas dari masing-masing binatang percobaan
- 5) Keadaan awal hepar mencit sebelum dilakukan perlakuan

G. Skala Variabel

1. Dosis ekstrak bunga rosella : skala rasio.
2. Kerusakan sel hepar : skala rasio

H. Definisi Operasional Variabel

1. Variabel Bebas: Ekstrak Bunga Rosella

Yang dimaksud ekstrak bunga rosella pada penelitian ini adalah ekstrak bunga rosella yang diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu, yang dibuat dengan metode ekstraksi perkolasi dengan menggunakan cairan pencari etanol. Pemberian ekstrak bunga rosella dilakukan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung dalam dosis tunggal.

Dari hasil penelitian sebelumnya didapatkan bahwa pemberian rosella pada tikus dengan dosis 200mg/kg BB secara signifikan meningkatkan fungsi lever yang diinduksi parasetamol (Maryani dan Kristiana, 2005). Dosis

tersebut diubah menjadi dosis untuk mencit dengan faktor konversi 0,14 menggunakan tabel konversi Ngatidjan, 1991.

- a. Dosis hepatoprotektif rosella pada tikus dengan berat badan 200g = 200 mg/kg BB x 200 g = 40 mg
- b. Dosis hepatoprotektif rosella pada mencit dengan berat badan 20g = 0,14 X 40 mg = 5,6 mg/ 20 g BB mencit

Rosella yang diberikan berupa larutan rosella yang diperoleh dari pelarutan ekstrak rosella dalam 0,1 ml larutan aquades, hal ini disesuaikan dengan kapasitas maksimal volume lambung mencit 20g yaitu 1ml (Ngatidjan, 1991) sehingga pemberian bahan uji tidak melebihi kapasitas maksimal lambung mencit.

2. Variabel Terikat: Kerusakan Sel Hepar

Yang dimaksud dengan kerusakan sel hepar pada penelitian ini adalah gambaran mikroskopis sel hepar yang terpapar parasetamol setelah diberi ekstrak bunga rosella. Kerusakan sel hepar dievaluasi dari perubahan inti sel hepar berupa inti piknotik, korioreksis dan koriolisis. Sel yang mengalami piknotik intinya kisut dan bertambah basofil, berwarna gelap batasnya tidak teratur. Sel yang mengalami korioreksis intinya mengalami fragmentasi atau hancur dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Sel yang mengalami koriolisis yaitu kromatin basofil menjadi

pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja.

Pengamatan preparat jaringan hepar dengan perbesaran 100 kali untuk mengamati seluruh lapang pandang, kemudian ditentukan daerah yang mengalami kerusakan terberat. Jumlah sel hepar yang berinti piknotik, korioreksis, dan koriolisis dihitung tiap 100 sel pada daerah yang mengalami kerusakan terberat dengan perbesaran 400 kali. Hasil perhitungan inti piknotik, inti korioreksis dan inti koriolisis yang diperoleh kemudian dihitung skornya dengan menggunakan rumus skor kerusakan sel hepar.

Skor kerusakan sel hepar dihitung dengan rumus (Alfiansyah, 2008):

$$\text{SKH} = (\sum \text{Sel Piknotik} \times 1) + (\sum \text{Sel Korioreksis} \times 2) + (\sum \text{Sel Koriolisis} \times 3)$$

Keterangan :

SKH : skor kerusakan sel hepar

1 : nilai untuk setiap inti piknotik

2 : nilai untuk setiap inti korioreksis

3 : nilai untuk setiap inti koriolisis

\sum Sel Piknotik : Jumlah inti piknotik perlapang pandang

\sum Sel Karioreksis : Jumlah inti sel karioreksis perlapang pandang

\sum Sel Kariolisis : Jumlah inti sel kariolisis perlapang pandang

3. Variabel Luar

a. Variabel Luar yang Terkendali

1) Makanan

Makanan yang diberikan berupa pellet dan minuman dari air PAM

2) Genetik

Jenis hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) dengan galur *Swiss webster*

3) Jenis Kelamin

Jenis kelamin mencit yang digunakan adalah jantan.

4) Umur

Umur mencit pada penelitian ini adalah 2-3 bulan.

5) Berat Badan

Berat badan hewan percobaan ± 20 g.

6) Suhu udara

Hewan percobaan diletakkan dalam ruangan dengan suhu udara berkisar antara 25-28⁰ C.

b. Variabel Luar yang Tidak Terkendali

1) Kondisi psikologis hewan percobaan

Kondisi psikologis mencit dipengaruhi oleh lingkungan sekitar. Lingkungan yang terlalu ramai, pemberian perlakuan yang berulang kali, dan perkelahian antar mencit dapat mempengaruhi kondisi psikologis mencit.

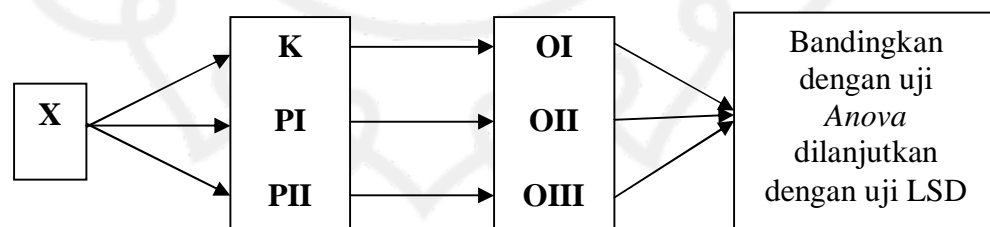
- 2) Patogenesis suatu zat yang dapat merusak hepar selain radikal bebas yaitu: hipersensitivitas (alergi)
- 3) Daya regenerasi sel hepar dari masing-masing binatang percobaan.
- 4) Imunitas dari masing-masing binatang percobaan
- 5) Keadaan awal sel hepar sebelum dilakukan perlakuan

Keadaan awal sel hepar mencit tidak diperiksa pada penelitian ini sehingga mungkin saja ada mencit yang sebelum perlakuan heparnya sudah mengalami kelainan.

I. Sumber Data

Sumber data diperoleh dari hasil pengamatan terhadap sampel yang dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

J. Rencana Penelitian



X = subyek

K = kelompok kontrol yang diberi diet standar

- PI = kelompok perlakuan I yang diberi diet standar, dan dosis tunggal parasetamol sebesar 3,38 mg/20g BB mencit peroral pada hari ke-8, ke-9 dan ke-10
- PII = kelompok perlakuan II yang diberi diet standar, ekstrak bunga rosella dosis 5,6 mg/ 20 g BB mencit selama 10 hari dan dosis tunggal parasetamol sebesar 3,38 mg/ 20g BB mencit peroral pada hari ke-8, ke-9 dan ke-10
- OI = hasil pengamatan mikroskopis kerusakan sel hepar pada kelompok kontrol.
- OII = hasil pengamatan mikroskopis kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan I.
- OIII = hasil pengamatan mikroskopis kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan II.

K. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian
 - a. Kandang hewan percobaan (mencit)
 - b. Timbangan hewan
 - c. Sonde lambung
 - d. Alat bedah hewan percobaan (*scalpel*, pinset, gunting, jarum, meja lilin)
 - e. Alat untuk pembuatan preparat histologi
 - f. Mikroskop cahaya medan terang
 - g. Gelas ukur dan pengaduk

- h. Gelas beker
- i. Lampu spiritus

2. Bahan Penelitian

- a. Makanan hewan percobaan
- b. Aquaadest
- c. Bahan pembuat preparat histologi
- d. Bunga rosella
- e. Parasetamol

L. Cara Kerja

1. Persiapan percobaan

a. Sampel

Sampel mencit 30 ekor dilakukan pengelompokan secara random menjadi 3 kelompok dimana masing-masing kelompok 10 mencit. Sampel diadaptasikan di laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta selama 7 hari. Kemudian dilakukan penimbangan dan penandaan untuk menentukan dosis.

b. Ekstrak bunga Rosella

Ekstrak bunga rosella diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu. Dalam penelitian ini bunga rosella yang digunakan adalah bunga rosella segar sebab kadar senyawa berkasiat yang terkandung dalam bunga rosella berada pada tingkat tertinggi. Pemberian ekstrak bunga rosella dilakukan peroral

dengan menggunakan sonde lambung dalam dosis 5,6 mg /20 g BB mencit. Pemberian ekstrak dilakukan sekali sehari selama 10 hari. Rosella yang diberikan berupa larutan rosella yang diperoleh dari pelarutan ekstrak rosella dalam 0,1 ml larutan aquades, hal ini disesuaikan dengan kapasitas maksimal volume lambung mencit 20g yaitu 1ml (Ngatidjan, 1991) sehingga pemberian bahan uji tidak melebihi kapasitas maksimal lambung mencit.

c. Parasetamol

LD-50 untuk mencit secara peroral adalah 338mg/ kg BB (Genome Alberta, 2006). Maka diberikan setengah dari LD-50 sehari selama tiga hari yaitu hari ke-8, ke-9 dan ke-10 selang 1 jam setelah pemberian ekstrak bunga rosella. Dosis yang digunakan adalah :

$$338\text{mg} / \text{kg BB} \times 0,5 = 169\text{mg} / \text{kg BB} = 3,38\text{mg} / 20\text{g BB}$$

Parasetamol 500mg diencerkan dengan 15ml aquades maka pemberian dosis untuk mencit 0,1ml /20 g BB mencit /hari. Dihitung dengan rumus :

$$\begin{aligned} \frac{500 \text{ mg}}{15 \text{ ml}} &= \frac{3,38 \text{ mg}}{0,1 \text{ ml}} \\ X &= 14,793 \text{ ml} \approx 15 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Pelaksanaan percobaan

Percobaan mulai dilakukan setelah dilakukan adaptasi selama 7 hari dan percobaan berlangsung selama 10 hari.

Pengelompokan subjek:

K : sebagai kelompok kontrol, terdiri dari 10 mencit yang diberikan diet standar selama 10 hari.

PI : sebagai kelompok perlakuan I, terdiri dari 10 ekor mencit yang diberi diet standar selama 10 hari dan parasetamol dengan dosis 3,38 mg/ 20g BB mencit / hari pada hari ke-8, ke-9 dan ke-10.

PII : sebagai kelompok perlakuan II, terdiri dari 10 ekor mencit yang diberi diet standard dan ekstrak bunga rosella dengan dosis 5,6 mg/20g BB mencit /hari selama 10 hari, dimana pada hari ke-8, ke-9 dan ke-10 diberikan parasetamol dosis 3,38 mg/ 29g BB mencit / hari setelah 1 jam pemberian ekstrak bunga rosella.

3. Pengukuran hasil

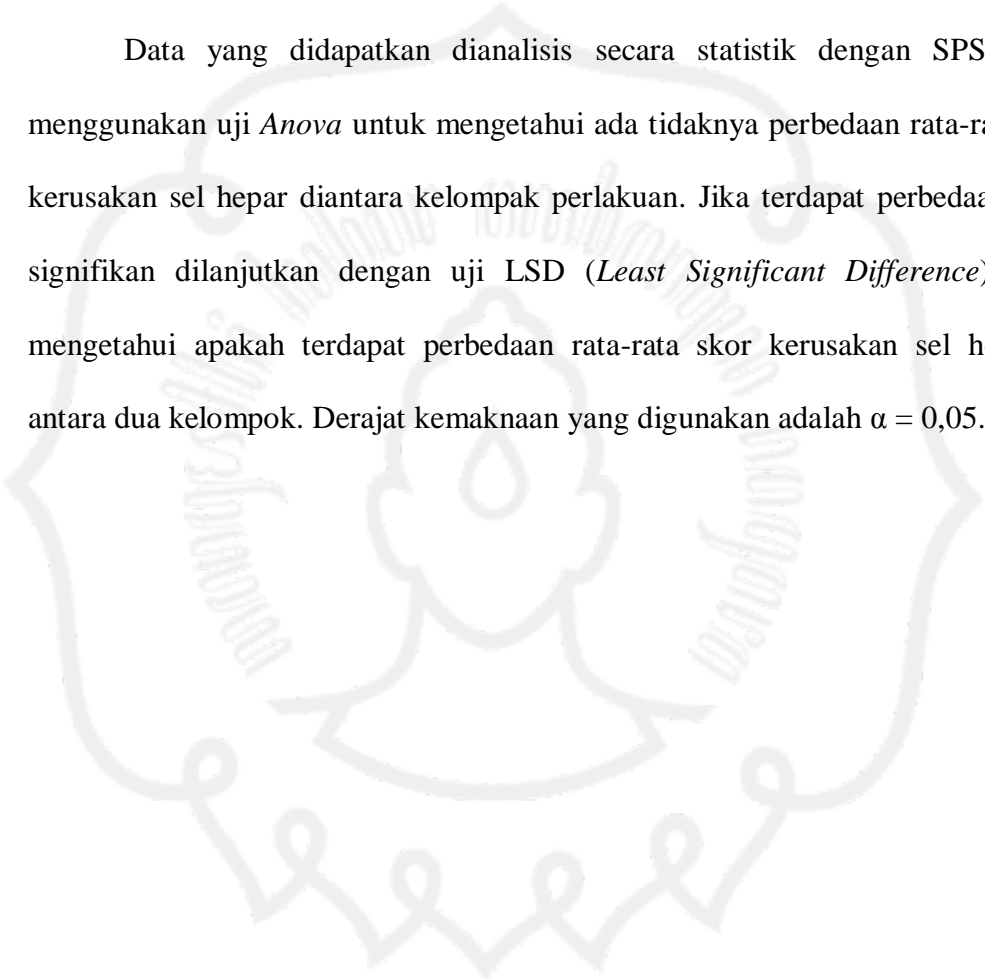
Pada hari ke-11 semua hewan percobaan dikorbankan dengan cara dislokasi vertebra cervicalis, kemudian organ hepar dextra diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin. Pengambilan bagian dextra hanya untuk penyeragaman sampel.

Pengamatan preparat jaringan hepar dengan perbesaran 100x untuk mengamati seluruh lapangan pandang, kemudian ditentukan daerah yang diamati. Disini daerah yang akan diamati yaitu daerah dua lobulus. Dengan

perbesaran 400x diamati gambaran mikroskopis dari sel-sel hepar pada daerah sentrolobuler. Jumlah sel hati yang berinti piknotik, korioreksis, dan koriolisis dihitung dari tiap 100 sel pada satu lapang pandang.

M. Teknik Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis secara statistik dengan SPSS 16.0 menggunakan uji *Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar diantara kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar di antara dua kelompok. Derajat kemaknaan yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$.



BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Data Hasil Penelitian

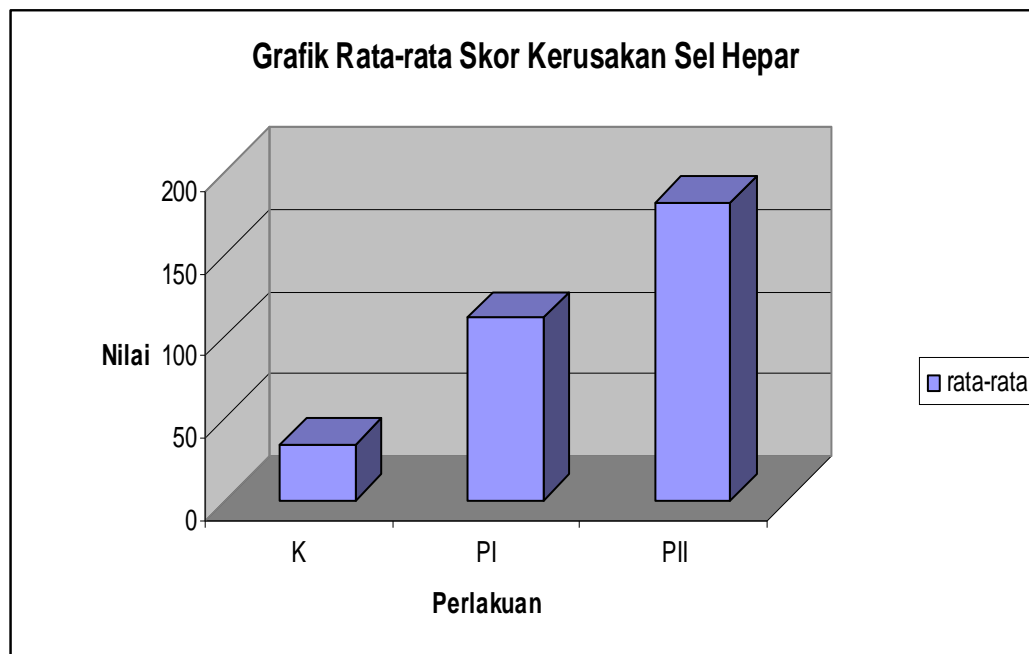
Data hasil penelitian berupa data rasio yaitu jumlah inti sel hepar yang mengalami piknosis, korioreksis, dan koriolisis yang dihitung tiap 100 sel (data lengkap lampiran A), kemudian dihitung skornya menggunakan rumus skor kerusakan sel hepar. Hasil perhitungan rata-rata skor kerusakan sel hepar dari masing-masing kelompok perlakuan akan disajikan dalam tabel berikut ini :

Tabel 3. Rata-rata skor kerusakan sel hepar dari masing-masing kelompok

Kelompok	N	Σ Inti Piknotik	Σ Inti Korioreksis	Σ Inti Koriolisis	Total Skor	Rata-rata	SD
Kontrol	20	196	110	89	683	34,15	8,573
Perlakuan I	20	292	409	375	2235	111,75	20,695
Perlakuan II	20	671	520	642	3637	181,85	8,261

(sumber: data primer, 2009)

Tabel 3 di atas memperlihatkan nilai rata-rata skor kerusakan sel hepar dan nilai standar deviasi (SD) untuk masing-masing kelompok perlakuan. Kelompok K memiliki nilai rata-rata paling rendah yaitu 34,15 dengan nilai standar deviasi 8, 573, sedangkan kelompok yang memiliki nilai rata-rata skor kerusakan tertinggi adalah kelompok PII yaitu 181,85 dengan nilai standar deviasi 8,261.



Gambar 2. Grafik rata-rata skor kerusakan sel hati dari masing-masing kelompok

Pada grafik di atas memperlihatkan bahwa ekstrak bunga rosella tidak dapat mengurangi kerusakan sel hepar akibat pemberian parasetamol. Kerusakan sel hepar justru semakin meningkat pada pemberian ekstrak bunga rosella dan parasetamol. Hal ini terlihat pada garis grafik yang semakin menanjak naik dimana terendah pada kelompok K dan tertinggi pada kelompok PII.

B. Analisis Data

Data skor kerusakan sel hepar tiap kelompok dari lampiran A selanjutnya dilakukan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan skor kerusakan sel hepar antara ketiga kelompok yaitu kelompok K, PI, dan PII. Hasil uji ANOVA dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 4. Hasil uji ANOVA antara ketiga kelompok untuk skor kerusakan sel hepar

	Df	F	Sig.
Antar kelompok	2	574,535	,000
Dalam kelompok	57		
Total	59		

(Sumber : data primer, 2009)

Hasil analisis uji ANOVA skor kerusakan sel hepar pada semua kelompok perlakuan didapatkan nilai Sig. adalah 0,000 dimana nilai ini lebih kecil daripada nilai $\alpha = 0,05$ sehingga dapat ditarik simpulan bahwa terdapat perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok K, PI dan PII.

Analisis selanjutnya dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) dengan derajat kemaknaan $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui letak perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar antara dua kelompok. Hasil perhitungan statistik dengan uji LSD didapatkan :

Tabel 5. Hasil uji LSD antara ketiga kelompok untuk skor kerusakan sel hepar

No	Kelompok	Sig.	Perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar antar kelompok
1	K – PI	,000	Signifikan
2	K – PII	,000	Signifikan
3	PI – PII	,000	Signifikan

(Sumber :data primer, 2009)

Dari hasil tersebut didapatkan bahwa nilai Sig. antar kelompok K – PI, kelompok K – PII, dan kelompok PI – PII adalah 0,000, lebih kecil dari nilai $\alpha = 0,05$ sehingga dari hasil uji statistik LSD dapat ditarik simpulan :

1. terdapat perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan I.
2. terdapat perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan II.
3. terdapat perbedaan rata-rata skor kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II.

BAB V

PEMBAHASAN

Kerusakan sel hepar dapat berupa kerusakan ringan pada sel hati, dalam bentuk perubahan perlemakan melalui lesi yang sama dengan hepatitis virus, sampai nekrosis hepatik yang massif. Sel yang mengalami nekrosis ukuran selnya biasanya membesar, sering tidak bisa mempertahankan integritas membrannya, komponen dalam sel tersebut mengalami penghancuran oleh enzim dan sering keluar dari sel yang mengalami nekrosis (Robbins and Kumar, 1995). Umumnya perubahan-perubahan lisis yang terjadi pada sel nekrotik dapat terjadi pada semua bagian sel, tetapi perubahan pada inti sel adalah petunjuk paling jelas pada kematian sel (Price and Wilson, 1997).

Pada penelitian ini kerusakan histologis sel hepar adalah nilai skor kerusakan sel hepar yang dievaluasi dari perubahan inti sel hepar berupa inti piknotik, korioreksis dan koriolisis. Sel yang mengalami piknotik intinya kisut dan bertambah basofil, berwarna gelap batasnya tidak teratur. Sel yang mengalami korioreksis intinya mengalami fragmentasi atau hancur dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Sel yang mengalami koriolisis yaitu kromatin basofil menjadi pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja.

Secara teoritis, sel hepar mencit yang dipaparkan dengan parasetamol akan mengalami kerusakan yang digambarkan dengan terdapatnya inti sel yang piknotik,

korioreksis dan koriolisis. Sedangkan pemberian parasetamol ditambah ekstrak bunga rosella, skor kerusakan sel hepar yang didapatkan akan lebih sedikit dibandingkan dengan pemberian parasetamol tanpa ekstrak bunga rosella karena ekstrak bunga rosella memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan toksik parasetamol. Kelompok kontrol digunakan sebagai pembanding terhadap kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II. Kelompok kontrol hanya diberikan diet standar dan diharapkan kerusakan sel hepar yang terjadi minimal, dimana tingkat kerusakan sel hepar pada kelompok kontrol akan dianggap sebagai tingkat kerusakan yang normal.

Suatu hasil penelitian menunjukkan bahwa rosella mengandung 24% antioksidan dan 51% antosianin (Maryani dan Kristiana, 2005). Sebagai antioksidan, antosianin dapat mengurangi kerusakan oksidatif DNA, meningkatkan cadangan glutation, dan meningkatkan ekspresi protein *glutathione S-transferase P1* (hGSTP1) pada leukosit. hGSTP1 ditampilkan untuk mencegah kerusakan DNA dan mutagenesis (Corredor, 2007). Dengan meningkatnya cadangan glutation, diharapkan metabolit parasetamol yang bersifat toksik akan berikatan dengan glutation sehingga menghasilkan konjugat sistein dan asam merkapturat yang akan diekskresikan dalam urin. Dengan demikian kerusakan histologis dapat dihambat.

Dari uji ANOVA didapatkan perbedaan rata-rata skor kerusakan hepar yang bermakna antara kelompok kontrol, perlakuan I dan perlakuan II. Hasil uji LSD menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kontrol - perlakuan I, perlakuan I - perlakuan II, dan kontrol - perlakuan II.

Pada uji LSD didapatkan bahwa antara kelompok kontrol dan perlakuan I terdapat perbedaan skor kerusakan sel hepar yang bermakna. Kelompok kontrol hanya diberi diet standar, sedangkan kelompok perlakuan I diberi diet standar dan parasetamol. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dapat menyebabkan kerusakan sel hepar yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini sesuai dengan teori bahwa pada pemberian parasetamol yang besar, jalur sulfat dan glukoronat menjadi jenuh dan dialihkan ke sitokrom P450 untuk membentuk NAPQI. Jumlah NAPQI yang besar menyebabkan deplesi glutathion dan NAPQI bebas berikatan dengan protein mitokondria. Akibatnya akan terjadi kerusakan produksi ATP (energi) yang akan menyebabkan kerusakan sel yang mengarah pada nekrosis. Selain itu disfungsi mitokondria akan menghasilkan ROS dan RNS yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif inilah yang menyebabkan terjadinya hepatotoksisitas. Pada kelompok kontrol juga didapatkan gambaran inti sel hepar yang mengalami piknotik, korioreksis dan koriolisis. Hal ini mungkin dikarenakan proses penuaan dan kematian sel secara fisiologis. Setiap sel akan selalu mengalami penuaan yang diakhiri dengan kematian sel dan akan digantikan oleh sel-sel baru melalui proses regenerasi (Robbins and Kumar, 1995).

Perbedaan skor kerusakan sel hepar yang bermakna juga terlihat antara kelompok kontrol – perlakuan II dan kelompok perlakuan I – perlakuan II, dimana skor kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan II lebih besar dibandingkan kelompok kontrol dan perlakuan I. Kelompok perlakuan II adalah kelompok mencit yang diberi diet standar, ekstrak bunga rosella dan parasetamol. Hal ini menunjukkan

bahwa pemberian ekstrak bunga rosella tidak dapat menurunkan kerusakan sel hepar mencit akibat paparan parasetamol. Hal ini tidak sesuai dengan teori bahwa ekstrak bunga rosella memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan toksik parasetamol. Hal ini mungkin disebabkan karena pada penelitian ini menggunakan ekstrak bunga rosella yang dibuat dengan cara perkolasi yang menggunakan etanol sebagai cairan pencari, sedangkan pada penelitian sebelumnya menggunakan *water extract* (Ali, 2003). Etanol yang digunakan sebagai cairan pencari mungkin memberikan efek hepatotoksik terhadap sel hepar mencit. Alkohol atau metabolitnya adalah hepatotoksik, dan oleh karenanya toksik bagi sel-sel tubuh lainnya. Hati mempunyai tiga jalur untuk metabolisme alkohol. Jalur dehidrogenase alkohol (ADH), sistem oksidasi etanol pada mikrosom, dan sistem katalase. Dari ketiganya, perubahan etanol menjadi asetaldehida melalui mediator ADH merupakan jalur yang paling utama. Asetaldehida menginduksi kerusakan sel hati dengan ikatan kovalen terhadap protein, sama halnya dengan mengaktifkan peroksidasi lemak membran sel (Robbins dan Kumar, 1995). Kerusakan hepar akibat overdosis parasetamol terlihat lebih nyata pada pecandu alkohol dan pasien yang meminum obat yang dapat menginduksi sitokrom P450 yang bertanggung jawab terhadap aktivasi parasetamol (Hodgson dan Levi, 2000).

Ada beberapa faktor yang harus diperhatikan yang dapat menyebabkan kerusakan sel hepar pada kelompok PII, di antaranya kondisi awal mencit (fisik, imunitas, psikologis dan lain-lain), daya regenerasi sel hepar mencit, patogenitas

suatu zat dan faktor idiopatik. Beberapa kondisi awal yang tidak dapat dikendalikan pada penelitian ini adalah:

1. Keadaan awal hepar dari tiap-tiap mencit, mungkin kondisi heparnya memang sudah mengalami kerusakan sebelumnya.
2. Reaksi hipersensitivitas yang berbeda-beda pada tiap mencit. Hal ini berpengaruh pada daya tanggap terhadap jejas yang berbeda sehingga akan menghasilkan kerusakan yang berbeda pula.
3. Kondisi psikologis mencit, pada kelompok PII mencit diberi ekstrak bunga rosella selama 10 hari. Perlakuan yang berulang ini dapat menyebabkan stres pada mencit karena dalam proses pemberian ekstrak bunga rosella, mencit dipaksa minum lewat sonde dan setiap perlakuan akan terjadi kontak dengan manusia. Hal-hal yang bersifat pemaksaan tersebut dapat menyebabkan stres. Stres dapat mengakibatkan hipoksia dan menekan nafsu makan yang akan menyebabkan malnutrisi. Malnutrisi ini merupakan predisposisi untuk nekrosis hati akibat hepatotoksin, sedangkan hipoksia dapat mengakibatkan perlemakan dan degenerasi hidropik pada sel hepar (Darmawan, 1998).

Setiap mencit memiliki kondisi dan daya regenerasi yang berbeda-beda. Semua faktor tersebut turun andil membentuk data hasil penelitian.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari penelitian ini dapat ditarik simpulan bahwa pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) tidak dapat mengurangi kerusakan sel-sel hepar mencit (*Mus musculus*) akibat paparan parasetamol.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sehingga didapatkan data yang lebih lengkap tentang efek hepatoprotektif, dosis dan lama pemberian ekstrak bunga rosella yang tepat bagi manusia sehingga dapat mencegah kerusakan hepar yang diakibatkan oleh parasetamol.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan hewan percobaan yang tingkat spesiesnya lebih tinggi dari mencit, misalnya tikus putih, kelinci, atau kera.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan zat antosianin secara tersendiri untuk menemukan kadar yang diperlukan sebagai hepatoprotektor.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode ekstraksi yang lain untuk mendapatkan ekstrak bunga rosella yang tepat sehingga dapat mengurangi kerusakan sel hepar akibat paparan parasetamol.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiansyah, M. 2008. Pengaruh Pemberian Boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) terhadap Perubahan struktur Histologis Sel Hati Mencit (*Mus musculus*). FK UNS Surakarta. Skripsi
- Ali, B.H., Mousa, H.M., dan El-Mougy, S. The Effect of a water extract and anthocyanins of *Hibiscus Sabdariffa* L. on Paracetamol-induced hepatotoxicity in Rats. <http://www.wileyinterscience.com>. (17 Juli 2009)
- Argapay. 2008. *Daya Hambat Vitamin C terhadap Kerusakan Membran Sel Darah Merah akibat Fotosensitiser Ofloksasin yang Diinduksi Ultraviolet*. <http://one.indoskripsi.com/judul-skripsi/kedokteran/daya-hambat-vitamin-c-terhadap-kerusakan-membran-sel-darah-merah-akibat-fotosensitiser-ofloksasin-ya>. (20 November 2008)
- Arifin, H. 2008. *Dilema obat Bebas*. http://www.waspada.co.id/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=33233. (15 Oktober 2008)
- Bayupurnama, P. 2006. Hepatotoksisitas Imbas Obat. Dalam: Sudoyo A.W., Setiyohadi B., Alwi I., Simadibrata K.M. dan Setiati S. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, p: 471
- Bloom, W. dan Fawcett, D. 2000. *Buku Ajar Histologi (A Text Book of Histology)*. Alih Bahasa : Jan Tambayon. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 583-97
- Burns, M.J., Friedman, S.L., and Larson, A.M. 2008. *Pathophysiology and diagnosis of acetaminophen (paracetamol) poisoning*. <http://www.uptodate.com/patients/content/topic.do?topicKey=~.w7Ylf1gLPmR>. (17 November 2008)
- Chan, T.Y.K., Critchley, J.A.J.H., Chan, J.C.N., and Tomlinson, B. 1994. *Metabolic Activation and Paracetamol Hepatotoxicity — An Update on The Management of Paracetamol (Acetaminophen) Poisoning*. http://72.14.235.132/search?q=cache:KJV_4MaOWYcJ:sunzi1.lib.hku.hk/hkj/o/view/21/2100834.pdf+paracetamol+toxicity+%22hepatotoxic%22&hl=id&ct=clnk&cd=64&gl=id. 27 November 2008

- Corredor, R.G. 2007. *Medox, Purified Anthocyanins: Antioxidant Power with Many Biological Effects. Scientific Review* .
http://72.14.235.104/search?q=cache:en518QS7LpUJ:www.medox-usa.com/Purified_Anthocyanins.pdf+anthocyanin,antioxidant&hl=id&ct=clnk&cd=38&gl=id&client=firefox-a. (4 November 2008)
- Darmansjah, I. 2002. *Benarkah Parasetamol Toksik terhadap Hati?*
<http://www.iwandarmansjah.web.id/medical.php?id=138>. (17 September 2008)
- Darmawan, S. 1998, *Hati dan Saluran Empedu*. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta. pp: 226-30
- Fitriani, V. 2008. *Karena Merah Berarti Khasiat*. <http://www.trubus-online.co.id/mod.php?mod=publisher&op=viewarticle&cid=11&artid=1133>. (17 September 2002)
- Gross, P. 2006. *Anthocyanin Antioxidants - Just the Facts*.
<http://www.amazonacaiberry.net/anthocyanins.htm>. (4 November 2008)
- Grypioti, A.D. 2006. *Liver Oxidant Stress Induced By Paracetamol Overdose*.
<http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijpharm/vol4n2/liver.xml>. (27 November 2008)
- Handajani, F. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Merah (Pandanus conoideus lam) pada Kadar SGPT dan γ -GT Tikus (Rattus novergicus) yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi, Tunggai Penelitian Eksperimental Laboratoris*.
<http://www.adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=gdlhub-gdl-s2-2008-handajanif-6759&PHPSESSID=b13ea1cd5ffd6a0af6949effca7f8992>. (17 September 2008)
- Hodgson, E. dan Levi, P.E. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology 2nd Edition*. Boston: Mc Graw Hill Co.
- Juncqueira, L.C. dan Carneiro, J. 1995. *Histologi Dasar*. Alih Bahasa : Adji Darma. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 343-54
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan, Sumber & Manfaatnya*.
<http://antioxidantcentre.com/index.php/Antioksidan/3.-Antioksidan-Sumber-Manfaatnya.html>. (20 November 2008)
- Leeson, C.R., Leeson, T.S., Paparo, A.A. 1996. *Buku Teks Histologi*. Alih Bahasa: Yann Tombayong, dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 383-7

- Maryani, H.dan Krisriana, L. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka. pp: 2-33
- Murti, B. 1994. *Penerapan Metode Statistik Non Parametrik dalam Ilmu-ilmu Kesehatan*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, pp: 85-118
- Ngatidjan. 1991. Petunjuk Laboratorium Metode Laboratorium. Dalam: *Toksikologi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM*. Yogyakarta. pp: 94-152
- Null, G. 1993. *The Antioxidant Vitamin - Vitamin C -*.
<http://www.garynull.com/Documents/vitaminc.htm>. (17 November 2008)
- Price, S.A. And Wilson, L., Mc Carty. 1997. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses Penyakit. Jilid 1*. Alih Bahasa : Peter Anugerah. Editor : Caroline Wijaya. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. pp: 36-54
- Qi, Y., Chin, K.L., Malekian, F., Berhane, M. and Gagger, J. 2005. *Biological Characteristics, Nutritional and Medicinal Value of Roselle, Hibiscus Sabdariffa*.
<http://www.suagcenter.com/documents/Extension%20Circular%20-%20hibiscus.pdf>. (27 Oktober 2008)
- Robbins dan Kumar, 1995. *Buku Ajar Patologi Anatomi I*. Edisi IV. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 8-10
- Robbins dan Kumar, 1995. *Buku Ajar Patologi Anatomi II*. Edisi IV. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 324-325
- Saleh, S. 1979. Kelainan Retrogresif dan Progresif. Dalam: *Kumpulan Kuliah Patologi*. Jakarta: Bagian Patologi Universitas Indonesia, pp: 10-2
- Taufiqqurohman, M.A. 2003. *Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Surakarta :CSGF. Klaten. p: 69
- Treinen, M. and Moslen, 2003. Toxic responses of the liver. In: Klaasen et al (eds). *Essentials of Toxicology*. Boston: The Mc. Grow-Hill Companies inc. pp: 195,199,202-3.

- Wilmana, P.F. 1995. Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid dan Obat Piri. Dalam: Ganiswara, S.G. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: Gaya Baru, pp: 214-215
- Wrolstad, R.E. 2001. *The Possible Health Benefits of Anthocyanin Pigments and Polyphenolics*. <http://lpi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html>.(4 November 2008
- Usuh I.F, Akpan E.J, Etim E.O. Farombi E.O. 2005. Antioxidant actions of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. on sodium arsenite-induced oxidative stress in rats. *Pak J Nutr* 4 (3): 135-141

