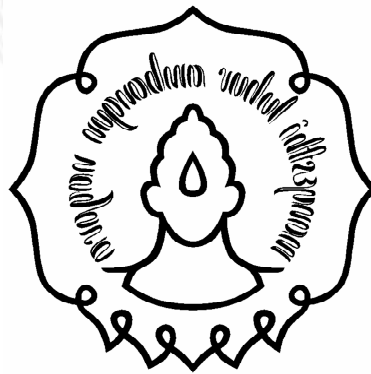


**Pengaruh pemberian seduhan rosela (*hibiscus sabdariffa*) terhadap kadar
kolesterol total darah
tikus putih (*rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Rendy Harindraputra
G. 0005165**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2009**

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,

RENDY HARINDRAPUTRA

NIM. G 0005165

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul : Pengaruh Pemberian Seduhan Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Rendy Harindraputra, NIM/Semester : G0005165/VIII, Tahun 2009

Telah diuji dan sudah disahkan dihadapan Dewan Penguji Skripsi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret
Pada Hari Rabu, Tanggal 14 Juli 2009

Pembimbing Utama

Nama : **Ida Nurwati, dr., MKes.**

NIP : 132 163 508 (.....)

Pembimbing Pendamping

Nama : **Veronika Ika Budiastuti, dr.**

NIP : 132 301 121 (.....)

Penguji Utama

Nama : **Dian Ariningrum, dr., MKes., SpPK**

NIP : 132 319 202 (.....)

Anggota Penguji

Nama : **Kustiwinarni, Dra., Apt**

NIP : 131 472 290 (.....)

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Sri Wahjono, dr., MKes.

NIP : 030 134 646

Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS.

NIP : 030 134 565

ABSTRAK

Berbagai penelitian di dunia telah membuktikan bahwa ekstrak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat menurunkan kadar kolesterol total darah, tetapi banyak masyarakat mengkonsumsi rosela dengan cara diseduh. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya efek seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan desain *Randomized Controlled Trial* (RCT) yaitu *pretest and posttest controlled group design*, dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Sebelas Maret Surakarta. Subjek penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor, *strain Wistar*, umur 3 bulan, berat badan kurang lebih 200 gram. Tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 3 kelompok secara random, masing-masing kelompok terdiri 10 ekor tikus. Semua kelompok diberi pakan tinggi kolesterol. Kelompok I sebagai kontrol, sedangkan kelompok II dan kelompok III diberi seduhan rosela dengan dosis 36mg/200gram BB/hari dan 54mg/200gram BB/hari. Semua tikus diperiksa kadar kolesterol total darahnya setelah masa perlakuan selama 28 hari.

Hasil uji *one-way* ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan kadar kolesterol total darah yang signifikan dengan nilai $p = 0,126$ ($p > 0,05$) pada ketiga kelompok hewan coba. Namun, hasil uji *t* berpasangan *pretest* dan *posttest* tiap kelompok menunjukkan adanya perbedaan kadar kolesterol total darah yang signifikan.

Simpulan penelitian ini adalah tidak ada pengaruh seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis 36mg/200gram BB/hari maupun dosis 54mg/200gram BB/hari dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Kata kunci : Seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) – Kolesterol total - *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

Many research in the world has proven that the extract of roselle can decrease the total serum cholesterol level, but most of people consume roselle as steepings. The study was conducted to evaluate the effects of steeped roselle

(*Hibiscus sabdariffa*) in preventing the increasing of total serum cholesterol level of white rats (*Rattus norvegicus*).

This experimental laboratoric research with randomized controlled trial design, *pretest and posttest controlled group design*, had been done in Biochemistry Laboratory of Sebelas Maret University, Surakarta, Indonesia. The subjects research are 30 male white rats, Wistar strain, 3 months old, and about 200 gram of weights. Rats were divided into 3 groups, each group consists of 10 rats. All groups were fed high cholesterol food. Group I is as the control group while group II and group III were given steeped roselle 36mg/200 gram body weight/day and 54mg/200 gram body weight/day. Total serum cholesterol level of all rats were tested after 28 days treatment.

The result of *one-way ANOVA* test revealed that there was no significant difference in total serum cholesterol level between 3 groups, with $p= 0,126$ ($p>0,05$). But, the result of *t* paired test between pre and posttest of each group showed significant difference in total serum cholesterol level of white rats.

In conclusion, steeped roselle (*Hibiscus sabdariffa*) 36mg/200gram body weight/day dosage and 54mg/200gram body weight/day dosage do not have effects in preventing the increasing of total serum cholesterol level of white rats (*Rattus norvegicus*).

Keywords : steeped roselle (*Hibiscus sabdariffa*) – Total serum cholesterol - *Rattus norvegicus*

PRAKATA

Penulis mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat, kasih, karunia, dan penyertaan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Seduhan Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”.

Skripsi ini disusun dengan maksud untuk memenuhi salah satu syarat dalam proses untuk memperoleh gelar kesarjanaan dalam bidang kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Segala sesuatu yang telah penulis lakukan dalam upaya menyelesaikan skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karenanya, dengan rasa hormat dan tulus, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Sri Wahjono, dr., MKes., selaku Ketua Tim Skripsi beserta Staf Bagian Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ida Nurwati, dr., MKes., selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan saran bagi penulis selama penulisan skripsi ini.
4. Veronika Ika Budiastuti, dr., selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan dan saran bagi penulis selama penulisan skripsi ini.
5. Dian Ariningrum, dr., MKes., SpPK., selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji dan memberi masukan yang berarti dalam penulisan skripsi ini.
6. Kustiwinarni., Dra, Apt., selaku Penguji Pendamping yang telah berkenan menguji dan memberi masukan yang berarti dalam penulisan skripsi ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap saran dan kritik membangun untuk lebih sempurnanya skripsi ini. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada umumnya dan bagi para pembaca pada khususnya.

Surakarta, Juli 2009

Penulis

DAFTAR ISI

PRAKATAxi
DAFTAR ISIxii
DAFTAR TABELxv
DAFTAR GAMBARxvi
DAFTAR LAMPIRANxvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II DASAR TEORI	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Rosela.....	4
a. Deskripsi Rosela.....	4
b. Komponen dalam Kelopak Bunga Rosela.....	7
c. Seduhan Rosela.....	8
2. Kolesterol.....	8
a. Sumber Kolesterol : Sintesis dan Absorpsi.....	9
b. Metabolisme dan Ekskresi Kolesterol.....	11
c. Pengangkutan Kolesterol.....	12

d. Homeostasis Kolesterol.....	13
e. Peran Kolesterol pada Kejadian Aterosklerosis.....	14
f. Faktor yang Mempengaruhi Kadar Kolesterol.....	16
3. Hubungan Rosela dengan Kolesterol.....	17
4. Propiltiourasil (PTU).....	20
B. Kerangka Pemikiran	22
C. Hipotesis	23
BAB III METODE PENELITIAN	24
A. Jenis Penelitian	24
B. Lokasi Penelitian	24
C. Subyek Penelitian	24
D. Teknik Sampling	25
E. Identifikasi Variabel Penelitian	25
F. Definisi Operasional Variabel	26
G. Alur Penelitian	32
H. Alat dan Bahan	33
I. Cara Kerja	34
J. Analisis Statistik	37
BAB IV HASIL PENELITIAN	38
BAB V PEMBAHASAN	44
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	52
A. Simpulan	52

B. Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	58



DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Rerata berat badan tikus putih sebelum perlakuan	38
Tabel 2. Rerata berat badan tikus putih selama kurun waktu penelitian (4 minggu)	39
Tabel 3. Rerata kadar kolesterol total sebelum dan sesudah perlakuan	40
Tabel 4. Rerata selisih kadar kolesterol total sebelum dan sesudah perlakuan	42



DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Rerata Peningkatan Berat Badan Tikus Putih selama Penelitian	39
Gambar 2. Rerata kadar kolesterol total darah tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan	41



DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1 Penentuan Dosis Kelopak Rosela untuk Seduhan	58
Lampiran 2 Cara Pembuatan Pakan Hiperkolesterolemi	59
Lampiran 3 Data Biologis Tikus	60
Lampiran 4 Konversi Perhitungan Dosis untuk Berbagai Jenis Hewan dan Manusia	61
Lampiran 5 Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus Putih Selama Perlakuan	62
Lampiran 6 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Sebelum Perlakuan	63
Lampiran 7 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Sesudah Perlakuan	64
Lampiran 8 Selisih Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Sebelum dan Sesudah Perlakuan	65
Lampiran 9 Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Sebelum Perlakuan	66
Lampiran 10 Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Kelompok I	67
Lampiran 11 Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Kelompok II	69
Lampiran 12 Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Kelompok III	71
Lampiran 13 Uji-ANOVA Berat Badan Tikus Putih Sesudah Perlakuan	73
Lampiran 14 Uji-ANOVA Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Sebelum Perlakuan	75
Lampiran 15 Uji-ANOVA Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Sesudah Perlakuan	76
Lampiran 16 Uji-t berpasangan Kadar Kolesterol Total Darah Tikus putih Sebelum dan Sesudah Perlakuan	77
Lampiran 17 Uji-ANOVA Selisih Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih Sebelum dan Sesudah Perlakuan	79





BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit jantung koroner dan stroke merupakan penyakit kardiovaskuler yang sering kita jumpai saat ini. Di banyak negara maju maupun negara berkembang, penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab kematian utama. Berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 1972, penyakit kardiovaskuler masih berada di peringkat ke-11 penyebab utama kematian di Indonesia. Tahun 1986 naik ke urutan ketiga, kemudian tahun 1992, 1995 dan 2001 menjadi urutan pertama (Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2008).

Kadar kolesterol yang tinggi di dalam darah atau yang disebut dengan hiperkolesterolemia merupakan satu dari beberapa faktor risiko utama penyakit jantung koroner (Anwar, 2004). Hiperkolesterolemia menyebabkan terjadinya aterosklerosis, yaitu keadaan dimana terjadi penimbunan plak pada lapisan intima dinding arteri. Perkembangan lebih lanjut dari aterosklerosis menyebabkan terjadinya penyakit kardiovaskuler (Guyton *and* Hall, 1997).

Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) yang saat ini sedang populer dan diminati di masyarakat bermanfaat bagi penderita aterosklerosis (Maryani dan Kristiana 2005). Anthocyanin, flavonoid, dan polyphenol merupakan zat kardioprotektif pencegah aterosklerosis yang terdapat dalam rosela (Oppel, 2007). Kandungan antioksidan seperti α -tocopherol dan probucol dalam rosela, telah diteliti dapat mengurangi oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL). Pada penelitian enam

minggu yang dilakukan Vilasinee Hirunpanich di Thailand disimpulkan bahwa ada hubungan antara kadar LDL dengan angka kejadian aterosklerosis (Hirunpanich *et al.*, 2005). Selain sebagai antioksidan, rosela dapat mencegah aterosklerosis dengan efek hipokolesterolemik yang dimilikinya. Penelitian Octavio Carvajal-zarrabal yang dilakukan selama empat minggu dengan perlakuan pakan hiperkolesterolemik beserta ekstrak ethanol rosela terhadap tikus Sprague-Dawley, membuktikan bahwa pemberian ekstrak rosela dapat menurunkan kolesterol total, LDL, dan trigliserida (Carvajal-zarrabal *et al.*, 2005). Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Lin T.L. disimpulkan bahwa dosis ekstrak rosela yang mampu menurunkan kadar kolesterol total darah pada manusia secara optimal adalah 3000mg/hari (Oppel, 2007).

Rosela di beberapa negara banyak dikonsumsi sebagai minuman kesehatan. Salah satu bentuk minuman kesehatan tersebut berupa teh rosela yang pembuatannya dengan cara diseduh (Maryani dan Kristiana 2005). Namun, sampai saat ini belum ada penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh seduhan rosela terhadap kolesterol. Berdasarkan hal tersebut di atas, peneliti ingin membuktikan ada tidaknya pengaruh pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibuat hiperkolesterolemik serta ada tidaknya perbedaan pengaruh pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang lebih tinggi dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian untuk

mengetahui pengaruh seduhan rosela terhadap profil lipid darah (kolesterol total, trigliserida, dan *low-density lipoprotein (LDL)*).

B. Perumusan Masalah

- a. Adakah pengaruh pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
- b. Adakah pengaruh perbedaan pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang lebih tinggi dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang lebih tinggi dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

D. Manfaat Penelitian

1. Aspek Teoritis : Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai pengaruh seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Aspek Aplikatif : Penelitian ini dapat mengungkap potensi rosella dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol yang menjadi faktor risiko penyakit kardiovaskuler dan sebagai bahan acuan penelitian selanjutnya untuk mendapatkan dosis yang efektif bagi manusia.

BAB II

DASAR TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Rosela

a. Deskripsi Rosela

Rosela merupakan tanaman herbal tahunan yang memiliki habitat asli di daerah yang terbentang dari India hingga Malaysia dan tumbuh baik pada iklim tropis dan subtropis. Namun, sekarang rosela telah tersebar di berbagai negara sehingga tanaman ini memiliki nama umum yang berbeda di setiap negara (Maryani dan Kristiana 2005). Di Indonesia, rosela sudah ada sejak dulu dan lebih dikenal dengan nama *frambozen* yang sering digunakan untuk sirup dengan warna kemerahan serta aroma agak manis asam (Eka dan Odi, 2008).

Klasifikasi rosela

Kingdom : [Plantae](#)
Division : [Magnoliophyta](#)
Class : [Magnoliopsida](#)
Order : [Malvales](#)
Family : [Malvaceae](#)
Genus : [Hibiscus](#)
Species : *Hibiscus sabdariffa*

(Herbarium Bandungense, 2008)

Di seluruh dunia terdapat lebih dari 100 varietas rosela. Dua diantaranya yang paling terkenal adalah varietas sabdariffa dan altissima. Varietas sabdariffa memiliki kelopak bunga berwarna merah atau kuning pucat yang nantinya dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman. Bagian yang dimanfaatkan dari rosela adalah kelopak bunganya, bukan mahkota bunganya. Rosela mudah tumbuh di tanah yang mendapat pengairan cukup meskipun dengan kondisi tanah kurang subur. Pada 4-5 bulan setelah tanam, rosela memerlukan banyak sinar matahari untuk mencegah munculnya bunga prematur. Selain itu, pada awal pertumbuhannya rosela membutuhkan curah hujan yang tinggi sekitar 182 cm. Jika hal ini tidak tercapai, dapat diatasi dengan pengairan yang cukup. Saat bunga mulai muncul sampai masa panen, tanaman ini justru memerlukan musim kering. Hujan dan kelembapan yang tinggi selama pemanenan akan mengurangi hasil kelopak bunga. Pemanenan pertama dilakukan 4-5 bulan setelah tanam. Setelah panen pertama, rosela masih dapat dipanen 10 hari sekali selama 4-8 bulan berikutnya sampai tidak menghasilkan bunga, asalkan temperatur pada malam hari tidak kurang dari 21°C. Daerah terbaik untuk menanam rosela adalah daerah tropis atau subtropis yang hangat dengan ketinggian 0-900 meter di atas permukaan laut (Maryani dan Kristiana 2005).

Proses pengeringan kelopak rosela dapat dilakukan dengan cara diangin-anginkan, dikeringkan dibawah sinar matahari langsung, atau di oven. Cara pengeringan langsung di bawah sinar matahari kurang baik

karena jika penjemuran terlalu lama, warna kelopak rosela akan menjadi kecoklatan sehingga setelah diolah akan terlihat kurang menarik. Selain itu, kontaminasi oleh serangga dan jamur sering didapatkan pada pengeringan dengan cara ini. Tempat tumbuh dan proses pengeringan yang dilakukan akan mempengaruhi kualitas zat gizi yang terkandung dalam rosela (Maryani dan Kristiana 2005).

Morfologi

- 1) Habitus : Herbal, tinggi 0,5-3 m
- 2) Habitat : Daerah beriklim tropis dan subtropics
- 3) Batang : Bulat, tegak, berkayu, berwarna merah
- 4) Daun : Tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan menjari, ujung tumpul, tepi bergerigi, dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cm dan lebarnya 5-8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau dengan panjang 4-7 cm.
- 5) Bunga : Bunga tunggal keluar dari ketiak daun, terdiri dari 8-11 helai kelopak bunga yang berbulu, panjangnya 1 cm, pangkalnya saling berlekatan, dan berwarna merah. Mahkota bunga berbentuk corong, terdiri dari 5 helaian, panjangnya 3-5 cm. Tangkai sari panjangnya 5 mm dan lebar sekitar 5 mm. Putik berbentuk tabung, berwarna kuning dan merah.
- 6) Buah : Buah berbentuk kotak kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah.

- 7) Biji : Bentuk menyerupai ginjal, berbulu dengan panjang 5 mm dan 4 mm. Saat muda berwarna putih dan berubah menjadi abu-abu setelah tua.

(Maryani dan Kristiana 2005)

b. Komponen dalam kelopak bunga rosela

Seratus gram kelopak rosela segar mengandung zat gizi antara lain: Energi 44 kalori, protein 1,6 g, lemak 0,1 g, karbohidrat 11,1 g, serat 2,5 g, kalsium 160 mg, fosfor 60 mg, besi 3,8 mg, betakaroten 285 µg, vitamin C 14 mg, tiamin 0,04 mg, riboflavin 0,6 mg, dan niasin 0,5 mg (Maryani dan Kristiana 2005). Rosela mengandung beberapa zat kimia seperti asam organik: asam sitrat, asam laktat, hidroksisitat; senyawa fenolik: asam protocatechuic (PCA); derivat flavonoid: gossypetin-3-glukosida, gossypetin-8-glukosida; dan anthosianin: *hibiscin*, sianidin-3-β-D-glukosida, *hibiscetin*, *delphinidin*, *sabdaretin* [1,2,3] (Prommetta *et al.*, 2006). Selain itu, rosela juga mengandung *quercetin* yang memiliki peran sebagai antioksidan dan pektin yang merupakan serat larut air (Hirunpanich *et al.*, 2005). Beberapa zat aktif dalam kelopak rosela dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah, antara lain : 1) Vitamin C (Sotyningtyas, 2007), 2) Niasin (Totong, 1993), 3) Pektin (Terpstra *et al.*, 1998), dan 4) Senyawa fenolik (Carvajall-Zarrabal *et al.*, 2005).

Penelitian yang pernah dilakukan di Insitut Pertanian Bogor menemukan kadar antioksidan rosela mencapai 1,7 mmol/prolox

(Nurfarida *cit* Helmina dan Fitriani, 2007). Penelitian lain yang pernah dilakukan oleh sekolah keperawatan *Chung Shan Medical University* menyebutkan bahwa pada hasil uji nutrisi yang dilakukan pada 1 g ekstrak kapsul bunga rosela terbukti mengandung 20,1 mg anthosianin, 10 mg flavonoid, dan 14 mg polifenol (Helmina dan Fitriani, 2007).

c. Seduhan Rosela

Kelopak bunga rosela bisa dimanfaatkan sebagai bahan untuk seduhan, seperti teh (Senior, 2007). Seduhan rosela terbuat dari kelopak kering rosela, berwarna merah dan rasanya seperti berry. Untuk membuat seduhan digunakan 2 gr kelopak kering rosela yang diseduh dengan air (Chin LK, 2006). Volume air yang dikonsumsi dalam bentuk seduhan oleh manusia dewasa adalah sebesar 200 mL (Yellashakti, 2008). Seduhan rosela dibuat dengan cara kelopak rosela kering dihaluskan lalu letakkan di dalam kantong teh atau kertas saring, seduh dengan air panas (70°C), kemudian didiamkan selama 4 menit (Chin, 2006).

2. Kolesterol

Kolesterol merupakan lipid amfipatik yang menjadi unsur penting dalam membran plasma dan lipoprotein plasma. Kolesterol sering ditemukan dalam bentuk kombinasi dengan asam lemak seperti ester kolesterol (Murray *et al.*, 2003). Sekitar 70% kolesterol dalam lipoprotein plasma berbentuk ester kolesterol (Guyton *and* Hall, 1997).

Fungsi dari kolesterol antara lain :

- a. Sebagai komponen pembentuk membran sel (Devlin, 2006),
Kolesterol merupakan komponen struktural esensial yang membentuk membran sel dan lapisan eksterna lipoprotein plasma. Kolesterol pada membran sel akan diimbangi oleh unsur kolesterol di dalam lipoprotein yang mengangkut kolesterol bebas dalam darah (Murray *et al.*, 2003).
- b. Sebagai prekursor sintesis asam empedu dalam hati (Devlin, 2006),
Dalam proses pengangkutan balik kolesterol (*reverse cholesterol transport*), kolesterol bebas yang sudah dikeluarkan dari jaringan oleh HDL akan diangkut menuju hati untuk dikonversi menjadi asam empedu (Murray *et al.*, 2003).
- c. Sebagai prekursor berbagai hormon steroid dan vitamin D (Devlin, 2006),
Kortikosteroid, hormon seks (estrogen, testosteron), dan vitamin D membutuhkan kolesterol sebagai prekursornya (Murray *et al.*, 2003).

Dalam tubuh manusia, terdapat dua macam kolesterol yaitu kolesterol eksogen dan kolesterol endogen. Kolesterol eksogen adalah kolesterol yang yang diabsorpsi dari saluran pencernaan sedangkan kolesterol endogen adalah kolesterol yang dibentuk dalam sel tubuh. Jumlah kolesterol endogen lebih besar daripada kolesterol eksogen (Guyton *and* Hall,1997). Delapan

puluh persen kolesterol dihasilkan dari dalam tubuh (kolesterol endogen) dan dua puluh persen sisanya dari luar tubuh (kolesterol eksogen) (Pfizer, 2007).

a. Sumber Kolesterol : Sintesis dan Absorpsi

1) Sintesis kolesterol

Sintesis kolesterol endogen dilakukan semua sel dalam tubuh tetapi kapasitas sintesis terbesar dimiliki oleh hati, usus, kortek kelenjar suprarenalis, dan organ reproduksi seperti ovarium, testis, plasenta (Devlin, 2006). Sintesis kolesterol dibagi menjadi lima tahap : a) Pembentukan senyawa enam karbon yaitu mevalonat dengan berbahan dasar asetil-KoA yang dibantu enzim HMG-KoA reduktase, b) Pembentukan unit isoprenoid dari mevalonat melalui pelepasan CO₂, c) Pembentukan senyawa antara skualena dari kondensasi enam unit isoprenoid, d) Siklisasi skualena dengan bantuan enzim oksidoskualene yang menghasilkan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol, e) Pelepasan tiga gugus metil dari lanosterol membentuk kolesterol (Murray *et al.*, 2003).

2) Absorpsi Kolesterol

Selain dari kolesterol endogen, kolesterol dalam tubuh juga berasal dari hasil absorpsi zat makanan di saluran pencernaan. Sebagian kolesterol dalam makanan berbentuk ester kolesterol yang merupakan kombinasi kolesterol bebas dengan satu molekul asam lemak. Ester kolesterol dihidrolisis oleh enzim lipase *ester kolesterol hidrosilase* dalam sekresi pankreas untuk membebaskan asam lemak. Garam

empedu saat konsentrasi cukup tinggi akan membentuk miselus akan membantu transpor asam lemak bebas ke brush border epitel usus. Di epitel usus asam lemak bebas akan diabsorpsi sedangkan garam empedu akan dilepaskan kembali ke dalam kimus untuk dipakai berulang-ulang dalam proses pengangkutan (Guyton *and* Hall,1997). Asam lemak dari miselus memasuki sel mukosa secara difusi pasif. Setelah itu, asam lemak yang mengandung kurang dari 10-12 atom karbon berjalan dari sel mukosa langsung ke dalam darah porta, tempat asam lemak diangkut sebagai asam lemak bebas yang tidak teresterifikasi. Asam lemak yang mengandung lebih dari 10-12 atom karbon akan diresterifikasi ke trigliserida di dalam sel mukosa usus. Disamping itu sejumlah kolesterol yang diabsorpsi akan diesterifikasi. Trigliserida dan ester kolesterol dilapisi lapisan protein, kolesterol dan fosfolipid untuk membentuk kilomikron yang meninggalkan sel memasuki pembuluh limfe (Ganong, 2002).

b. Metabolisme dan Ekskresi Kolesterol

Kolesterol dioksidasi di hati menjadi berbagai bentuk asam empedu. Beberapa asam empedu dikonjugasikan dengan glisin, taurin, asam glukoronat atau sulfat. Campuran antara asam empedu yang tidak terkonjugasi dan terkonjugasi bersama kolesterol diekskresikan dari hati menuju empedu. Sekitar 95 persen asam empedu direabsorpsi lagi dari usus dan sisanya keluar bersama feces. Ekskresi dan reabsorpsi asam

empedu membentuk basis sirkulasi enterohepatik yang penting untuk proses pencernaan dan absorpsi lemak (Wolkoff *and* Cohen, 2003).

c. Pengangkutan kolesterol

Kolesterol sulit larut dalam air sedangkan aliran darah bersifat serupa dengan air. Oleh karena itu, untuk pengangkutan kolesterol dalam aliran darah perlu bantuan lipoprotein (Devlin, 2006). Lebih dari 95 persen seluruh lipid di dalam plasma berada dalam bentuk lipoprotein. Lipoprotein adalah partikel yang lebih kecil dari partikel kilomikron tetapi memiliki komposisi hampir sama dengan kilomikron, yaitu mengandung trigliserida, kolesterol, fosfolipid dan protein. Seperempat sampai sepertiganya adalah lipoprotein sedangkan sisanya adalah lipid. Ada empat kelas utama lipoprotein yang dibagi berdasar densitasnya, antara lain: *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL) (Guyton *and* Hall, 1997). Dua jenis yang lain adalah kilomikron dan lipoprotein a (Lp(a)) (Adam, 2006). Proporsi terbesar pengangkutan kolesterol melalui lipoprotein terdapat pada LDL. Kolesterol dalam plasma akan diangkut oleh VLDL yang terbentuk di hati. Sebagian besar kolesterol dalam VLDL tertahan di dalam IDL yang diambil oleh hati atau diubah menjadi LDL yang selanjutnya akan diambil oleh reseptor LDL dalam hati dan jaringan ekstrahepatik. Proses pengangkutan balik kolesterol dari jaringan menuju hati dilakukan oleh HDL (Murray *et al.*, 2003).

d. Homeostasis kolesterol

Sintesis kolesterol secara langsung diregulasi oleh kadar kolesterol dalam darah. Semakin tinggi asupan kolesterol dari makanan yang masuk semakin berkurang produksi kolesterol endogen dan sebaliknya. diatur oleh masukan kolesterol dari diet, masukan kalori, hormon-hormon tertentu, dan asam empedu. Mekanisme regulasi yang utama adalah dengan perangsangan kolesterol intraseluler dalam retikulum endoplasma oleh protein *Sterol Regulatory Element Binding Protein 1 dan 2* (SREBP) (Espenshade and Hughes, 2007). Dengan adanya kolesterol, SREBP berikatan dengan dua protein: SCAP (*SREBP-cleavage activating protein dan Insig1*). Saat kadar kolesterol turun, Insig1 memisahkan diri dari kompleks SREBP-SCAP. Kompleks ini kemudian menuju badan golgi. SREBP dipecah menjadi dua oleh *site-1 dan -2 protease*, yaitu kedua enzim yang diaktivasi oleh SCAP saat kadar kolesterol rendah. SREBP yang sudah dipecah menuju ke nukleus. Di nukleus, SREBP berperan sebagai faktor transkripsi untuk berikatan dengan *sterol regulatory element* (SRE) dari banyak gen. Dengan hal ini, proses transkripsi bisa dimulai. Satu diantara gen yang ditranskripsi adalah gen pengatur sintesis HMG-KoA reduktase (Brown and Goldstein, 1997). HMG-KoA reduktase adalah enzim yang mengubah β -hidroksi- β -metilglutaril-KoA menjadi asam mevalonat. Dengan adanya penghambatan HMG-KoA reduktase terjadi proses umpan balik sintesis kolesterol (Ganong, 2002).

e. Peran kolesterol pada kejadian aterosklerosis

Aterosklerosis adalah bentuk arteriosklerosis yang paling umum ditemukan (Suyatna dan Handoko, 2005). Arteriosklerosis merupakan keadaan pada pembuluh darah arteri yang menyebabkan penebalan atau pengerasan pada dindingnya. Aterosklerosis merupakan bentuk arteriosklerosis yang paling penting sehingga istilah arteriosklerosis sinonim dengan aterosklerosis (Price *and* Wilson, 2002). Pemeran utama proses aterogenik pada aterosklerosis adalah sel-sel sistem imun dan material lipid terutama kolesterol dan ester kolesterol. Jejas pada sel endotel arteri mengawali proses aterosklerosis dengan memacu peningkatan jumlah sel monosit dan limfosit T di area jejas. Cytokin yang merupakan produk dari sel monosit dan limfosit berperan dengan aksi kemotatik terhadap sel fagosit menuju daerah jejas. Kadar kolesterol LDL yang tinggi dalam sirkulasi ikut memacu proses inflamasi tersebut. Sel busa (*foam cells*) terbentuk dari sel fagosit yang memfagositosis LDL dalam darah. Komponen lemak yang terkumpul pada sel busa kemudian berinfiltrasi ke dalam lapisan endotel membentuk timbunan lemak disebut plak lemak (*fatty plaque*) (Gropper *et al.*, 2005). Pada plak ini kolesterol kemudian menjadi kristal kolesterol yang terkumpul semakin banyak membentuk kristal anyaman. Selain itu, jaringan otot halus dan jaringan fibrosa di sekitarnya ikut berproliferasi membentuk plak fibroblas. Dengan ditambah adanya plak lemak dan plak fibroblas, lumen arteri menjadi semakin sempit dan mengurangi aliran darah. Plak fibroblas yang

menimbun jaringan penyambung padat berlebihan menyebabkan arteri menjadi kaku dan keras. Selanjutnya, garam kalsium sering mengendap dengan kolesterol dan lemak yang lain dari plak menimbulkan kalsifikasi sehingga terjadi proses pengerasan arteri (Guyton *and* Hall,1997).

Aterosklerosis dapat terjadi pada arteri di otak, jantung, ginjal, organ vital lainnya, lengan dan tungkai. Jika aterosklerosis terjadi di dalam arteri yang menuju ke otak (arteri karotid) maka dapat terjadi stroke sedangkan jika terjadi di dalam arteri yang menuju ke jantung (arteri koroner) dapat terjadi penyakit jantung koroner (PJK) (Oentoro, 2007). Penyebab utama dari penyakit jantung iskemik adalah insufisiensi aliran darah koroner akibat proses aterosklerotik (Guyton *and* Hall,1997). Untuk mencegah terjadinya hal tersebut, kadar kolesterol total dalam darah perlu diperhatikan. Kadar kolesterol total darah yang sebaiknya adalah <200mg/dl, bila >200mg/dl berarti risiko untuk terjadinya PJK meningkat.

Pembagian tingkatan kadar kolesterol total adalah sebagai berikut :

Normal	: <200 mg/dl
Sedang	: 200 – 239 mg/dl
Tinggi	: >240 mg/dl

Bila kadar kolesterol darah berkisar antara 200-239 mg/dl, tetapi tidak ada faktor risiko PJK lainnya, seperti hipertensi, merokok, umur, jenis kelamin, geografis, ras, diet, obesitas, diabetes, olahraga, perilaku dan kebiasaan hidup lainnya, stress, keturunan, perubahan keadaan sosial dan perubahan masa, maka biasanya tidak perlu penanggulangan yang

serius. Akan tetapi bila dengan kadar tersebut didapatkan PJK atau dua faktor risiko PJK lainnya, maka perlu pengobatan yang intensif seperti halnya penderita dengan kadar kolesterol yang tinggi atau >240 mg/dl (Anwar, 2004).

f. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kadar Kolesterol

- 1) Diet dengan kandungan lemak jenuh dan kolesterol yang tinggi, akan meningkatkan kadar kolesterol darah (Guyton & Hall, 1997).
- 2) Faktor genetik, misalnya pada hiperkolesterolemia familial (Guyton & Hall, 1997).
- 3) Usia, semakin tua seseorang maka terjadi penurunan berbagai fungsi organ tubuh sehingga keseimbangan kadar kolesterol darah sulit tercapai akibatnya kadar kolesterol cenderung lebih mudah meningkat (Guyton & Hall, 1997).
- 4) Stres, mengaktifkan sistem saraf simpatis yang menyebabkan pelepasan epinefrin dan norepinefrin yang akan meningkatkan konsentrasi asam lemak bebas dalam darah, serta meningkatkan tekanan darah (Guyton & Hall, 1997).
- 5) Penyakit hati, menimbulkan kelainan pada kolesterol darah karena hati merupakan tempat degradasi insulin, sehingga bila hati rusak, jumlah insulin akan meningkat sehingga akan menurunkan kolesterol darah. Selain itu, hati juga merupakan tempat sintesis kolesterol sehingga penyakit hati dapat menurunkan kadar kolesterol (Ganong, 1992).

- 6) Hormon tiroid menginduksi peningkatan jumlah reseptor LDL pada sel hati, yang akan meningkatkan kecepatan sekresi kolesterol, sehingga konsentrasi kolesterol plasma akan menurun (Guyton & Hall, 1997).
- 7) Hormon estrogen, menurunkan kolesterol LDL dan meningkatkan kolesterol HDL (Ganong, 1992).
- 8) Hormon insulin menurunkan konsentrasi kolesterol darah, karena insulin akan meningkatkan pemakaian glukosa oleh sebagian besar jaringan tubuh, sehingga akan mengurangi pemakaian lemak (Guyton & Hall, 1997).

3. Hubungan rosela dengan kolesterol

Rosela mengandung beberapa zat yang dapat berperan dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah, yaitu:

a. Vitamin C

Vitamin C merupakan vitamin larut air yang dapat berperan sebagai antioksidan. Oleh karena peran ini, vitamin C juga berjasa dalam pencegahan penyakit jantung. Vitamin C memiliki ascorbyl palmitat yang membuat vitamin C dapat larut lemak. Campuran antara larut air dan larut dalam lemak menyebabkan lebih mudahnya vitamin C diterima di berbagai bagian tubuh. Namun, vitamin C tidak dapat disintesis sendiri di dalam tubuh. Oleh karena itu, perlu asupan vitamin C yang cukup dari makanan (Verdegem, 2007).

Vitamin C meningkatkan laju kolesterol yang dibuang dalam bentuk asam empedu, meningkatkan kadar HDL, dan berfungsi sebagai pencahar sehingga meningkatkan pembuangan feces dan menurunkan penyerapan kembali asam empedu serta pengubahannya menjadi kolesterol. Vitamin C dapat menurunkan kolesterol pada sejumlah orang yang memiliki kadar kolesterol tinggi. Namun, pada orang dengan kadar kolesterol normal hal tersebut tidak berlaku. Jadi, vitamin C berperan menjaga keseimbangan (homeostasis) di dalam tubuh (Sotyaningtyas, 2007).

Selain itu, vitamin C menghambat oksidasi dari LDL. Jika LDL teroksidasi, maka LDL akan terdeposit dalam sel endotel pembuluh darah. Seperti yang sudah diuraikan sebelumnya, hal tersebut akan memacu terjadinya aterosklerosis. Selain itu, vitamin C juga mencegah sel darah putih (monosit) untuk terikat dalam endotel pembuluh darah serta mengurangi disfungsi endotel vaskuler secara keseluruhan yang jika terjadi akan mendukung terdepositnya LDL di endotel dan kemudian mengarah ke aterosklerosis (Gropper *et al.*, 2005).

b. Niasin

Niasin yang disebut juga dengan asam nikotinat, merupakan vitamin B3 yang larut dalam air (Moses, 2008). Niasin dapat digunakan sebagai obat penurun kolesterol. Efek hipolipidemik obat ini bekerja dengan menekan sekresi VLDL akibat berkurangnya sintesis trigliserid. Sintesis trigliserid oleh hepar menurun karena

asupan asam lemak bebas dari sirkulasi berkurang akibat penekanan niasin terhadap jaringan adipose (Totong, 1993). Setelah sintesis trigliserid berkurang, mekanisme penurunan kolesterol oleh niasin terjadi melalui aksi penekanan sekresi apolipoprotein B (apoB) yang selanjutnya akan menurunkan VLDL dan LDL. Mekanisme yang lain adalah melalui peningkatan apoA-I dan penurunan lipoprotein(a) (Lp(a)). Niasin juga dapat meningkatkan HDL melalui penurunan ambilan apoA-I di hati yang menyebabkan penundaan katabolisme (Davidson, 2003).

c. Pektin

Pektin merupakan serat makanan yang dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Viskositas dari pektin dapat mempengaruhi absorpsi kolesterol dan ekskresi sterol dan asam empedu. Kadar viskositas yang tinggi pada serat makanan akan meningkatkan viskositas makanan yang dicerna dalam usus. Tingginya viskositas zat makanan dalam usus akan mempengaruhi susunan miselus dan menurunkan tingkat difusi dari kolesterol dan asam empedu yang mengandung miselus. Mekanisme pektin dalam penurunan kolesterol darah yang lain adalah dengan peningkatan ekskresi asam empedu dan sterol dalam feces (Terpstra *et al.*, 1998).

d. Senyawa fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan alami yang berupa flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan

asam-asam organik. Komponen senyawa fenolik bersifat polar dan dapat larut dalam air serta memiliki fungsi antara lain sebagai penangkap radikal bebas dan peredam terbentuknya oksigen singlet (Kumalaningsih, 2007). Salah satu senyawa fenolik yang terdapat dalam rosela adalah flavonoid. Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu (Carvajall-Zarrabal *et al.*, 2005). Selain itu, rosela juga mengandung senyawa polifenol yang juga berperan dalam menurunkan kadar kolesterol. Polifenol menurunkan absorpsi kolesterol dengan cara berikatan pada *cholesterol carriers* saat melewati membran *brush border*. Mekanisme polifenol dalam menurunkan kadar kolesterol lainnya adalah dengan penurunan sekresi apoB yang menyebabkan penurunan produksi lipoprotein (Zern *and* Fernandez, 2005).

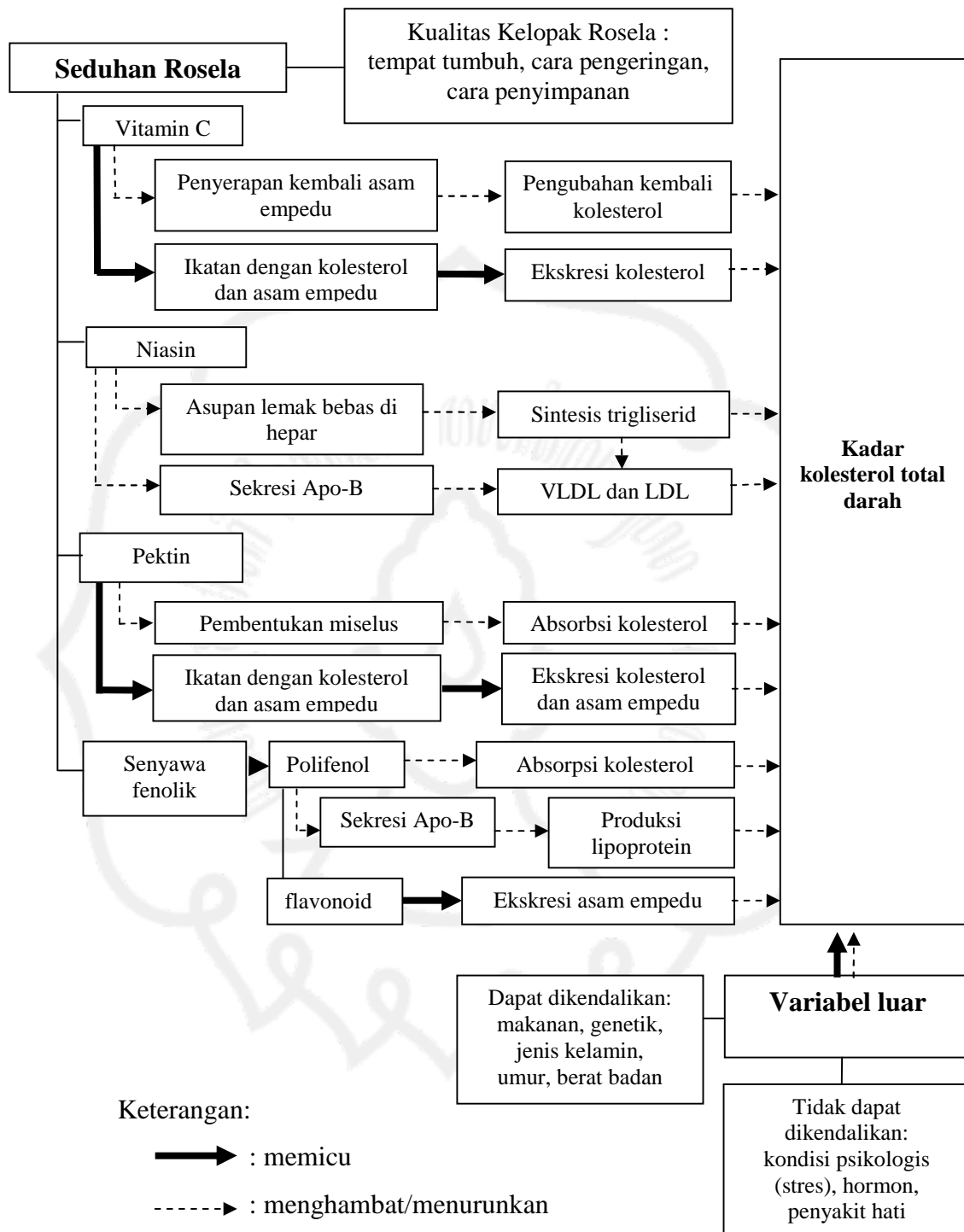
4. Propiltiourasil (PTU)

Propiltiourasil (PTU) adalah zat kimia yang dapat menekan aktivitas kelenjar tiroid, berupa tablet yang dihaluskan dan dilarutkan dalam air (Phyto Medica, 1993). Tikus pada keadaan normal relatif resisten terhadap perubahan profil lipid karena tikus cenderung memiliki sifat hipertiroid (Murray *et al.*, 2003). Hormon tiroid akan mengaktifkan hormon sensitif lipase sehingga proses katabolisme lipid dalam tubuh tikus tinggi. Induksi hiperkolesterol dengan pakan hiperkolesterolemik dipermudah dengan menurunkan aktivitas hormon tiroid tikus putih (Marina, 1994).

Propiltiourasil diberikan pada tikus melalui air minumnya. Air minum dicampur dengan PTU sehingga didapatkan konsentrasi PTU adalah 0,01%, artinya dalam satu liter air terlarut 10 gram PTU. Air minum tersebut diberikan *ad libitum* dalam tempat air minum yang disediakan (Phyto Medica, 1993).

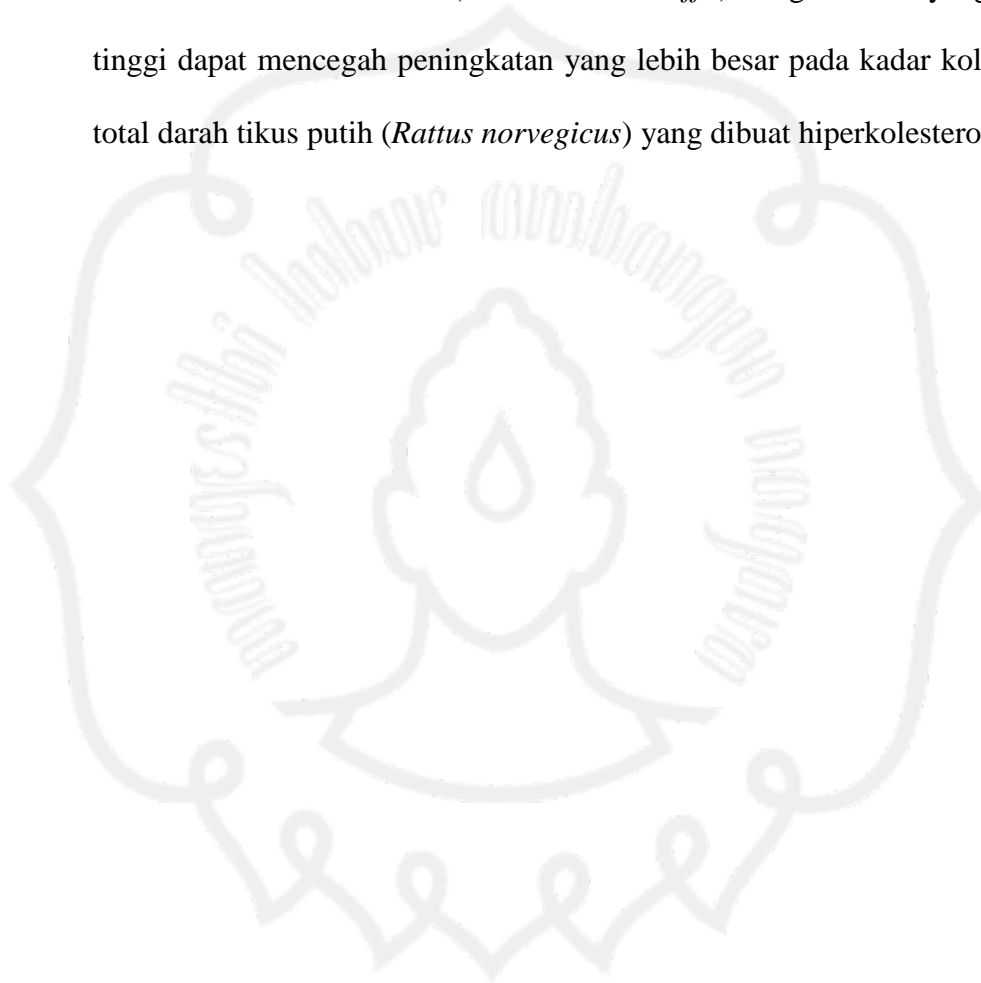


B. Kerangka pikir



C. Hipotesis

1. Pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibuat hiperkolesterolemik.
2. Pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis yang lebih tinggi dapat mencegah peningkatan yang lebih besar pada kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibuat hiperkolesterolemik.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *pre and posttest controlled group design* (Murti, 2007).

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta (UNS).

C. Subjek Penelitian

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, *strain Wistar*, berumur kira-kira 3 bulan dengan berat ± 200 gr, diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2. Banyaknya sampel: Tiga puluh (30) ekor tikus putih

Banyaknya jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Rumus Federer :

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

n : besar sampel

t : jumlah kelompok

Banyaknya jumlah sampel yang diperlukan dihitung dengan rumus:

$$(n-1)(t-1) > 15 \quad ; t = 3$$

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

$$\Leftrightarrow 2n-2 > 15$$

$$\Leftrightarrow 2n > 17$$

$$\Leftrightarrow n > 8,5 \quad ; \text{dibulatkan menjadi } 9$$

(Arkeman, 2006)

Jadi, jumlah sampel harus lebih besar atau sama dengan 9 ekor tikus tiap kelompok. Pada penelitian ini digunakan 10 ekor tikus setiap kelompok, sehingga sudah memenuhi syarat dalam banyaknya sampel yang digunakan.

D. Teknik Sampling

Pengambilan sampel sebanyak 30 ekor dilakukan secara *purposive sampling* dengan kriteria tikus jantan, *strain Wistar*, sehat dan mempunyai aktivitas normal, tidak kawin, berumur kira-kira 3 bulan dengan berat kira-kira 200 gram. Subjek penelitian dibagi dalam 3 kelompok secara random, setiap kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol sedangkan kelompok 2 dan 3 sebagai kelompok perlakuan.

E. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: Seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*)

Skala variabel : Ordinal

2. Variabel terikat : Kadar kolesterol total darah tikus putih

(*Rattus norvegicus*)

Skala variabel : Rasio

3. Variabel luar

- a. Dapat dikendalikan : makanan, genetik, jenis kelamin, umur, berat badan.

- b. Tidak dapat dikendalikan : kondisi psikologis (*stress*), hormon, penyakit hati, kualitas kelopak rosela.

F. Definisi Operasional Variabel

1. Seduhan rosela

Yang dimaksud seduhan rosela adalah kelopak rosela kering yang diseduh dengan air panas, kemudian didiamkan. Kelopak rosela kering yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Dari hasil perhitungan (lampiran 1), dosis seduhan rosela yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan berat ± 200 gram adalah 36 mg (Chin, 2006), yang diseduh dengan 3,6 mL *aquadest* (Yellashakti, 2008). Untuk mengetahui dosis yang lebih efektif dalam mencegah peningkatan kolesterol total darah dipakai dosis 1,5 kalinya yaitu 54 mg yang diseduh dengan 3,6 mL *aquadest*. Seduhan rosela diberikan peroral melalui sonde lambung selama 4 minggu. Skala ukur yang digunakan adalah skala Ordinal.

Alat ukur: timbangan digital

2. Kolesterol Total Darah

Yang dimaksud dengan kadar kolesterol total darah adalah kadar kolesterol total darah hewan uji yang diukur dengan metode *spectofotometry* sebelum dan sesudah pemberian seduhan kelopak rosela setelah subjek dipuaskan selama 12 jam dengan satuan mg/dl. Pengukuran kadar kolesterol total dapat dilakukan dengan mengambil

darah tikus putih melalui sinus orbitalis dengan pipet mikro hematokrit, lalu darah ditampung dalam tabung sentrifuge. Darah dipusingkan selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga didapatkan serum darah untuk diperiksa kadar kolesterol totalnya di laboratorium klinik. Pengukuran kadar kolesterol total darah dilakukan di LPPT UGM Yogyakarta kemudian dilakukan analisis data. Skala ukur yang digunakan adalah skala rasio.

3. Makanan

Makanan yang diberikan pada tikus ada dua macam, yaitu:

a. Makanan hiperkolesterolemik

Makanan hiperkolesterolemik diberikan bersamaan dengan pemberian seduhan rosela selama 4 minggu. Pemberian makanan hiperkolesterolemik setiap kelompok dibuat sama jenisnya berdasarkan panduan pengujian fitofarmaka yaitu menggunakan kolesterol 1%, kuning telur 5%, lipida hewan 10%, minyak goreng 1 %, ditambah makanan standar sampai 100% (Phyto Medica, 1993). Makanan hiperkolesterolemik diberikan sebanyak 2,5 mL dua kali sehari dengan menggunakan sonde lambung.

b. Makanan standar

Makanan standar diberikan pada tikus dua kali sehari, setiap pagi dan sore hari berupa pellet.

4. Faktor genetik

Faktor genetik berperan dalam menentukan kadar kolesterol, baik dalam jenis reseptor maupun enzim-enzim yang terlibat dalam

metabolisme kolesterol. Faktor genetik tidak dapat dikendalikan secara mutlak. Hal ini diatasi dengan pemilihan subjek penelitian yang berasal dari galur yang sama (strain Wistar) dan menggunakan sistem randomisasi sehingga diharapkan distribusi dari faktor genetik ini merata pada tiap kelompok penelitian.

5. Jenis kelamin

Jenis kelamin merupakan variabel pengganggu yang dapat dikendalikan. Hormon esterogen pada tikus betina dapat berpengaruh terhadap kadar kolesterol total darah (Shin *et al.*, 2005). Dalam penelitian ini digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan supaya sampel bersifat homogen serta menghindari adanya pengaruh hormon esterogen.

Skala variabel : Nominal

6. Umur

Umur hewan coba mempunyai pengaruh penting. Kolesterol total darah pada tikus umur 6 minggu akan meningkat, kemudian menurun beberapa minggu. Kolesterol total darah mencapai kadar minimum pada umur 12 minggu, setelah itu meningkat lagi (Kritchevsky, 1993). Umur merupakan variabel pengganggu yang dapat dikendalikan dengan cara digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) berumur 3 bulan untuk membuat sampel homogen dan menghindari peningkatan kolesterol total darah karena faktor umur.

Skala variabel : Rasio

7. Berat badan

Berat badan akan mempengaruhi dosis seduhan kelopak rosela yang digunakan, selain itu adanya perbedaan berat badan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) membuat peningkatan berat badan tidak murni karena perlakuan. Berat badan dapat dikendalikan dengan cara menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang beratnya 200 gram, dengan toleransi 20% sehingga tikus yang dipakai adalah tikus dengan berat badan 160-240 gram.

Skala variabel : Rasio.

8. Kondisi psikologis

Kondisi psikologis tikus dapat dipengaruhi oleh perlakuan yang berulang kali. Keadaan *stress* memacu produksi hormon epinefrin, norepinefrin, kortikotropin dan glukokortikoid yang akan mengaktifkan hormon peka lipase trigliserid yang memecah trigliserid dan meningkatkan asam lemak bebas (Guyton *and* Hall, 1997). Pengaruh ini dapat dikurangi dengan adanya waktu adaptasi sebelum percobaan dan pemisahan subjek penelitian dalam kandang yang terpisah

9. Hormon

Sistem hormon berpengaruh pada pengaturan kadar kolesterol darah. Dalam keadaan normal, bermacam-macam hormon tertentu disekresi dalam tubuh yang nantinya dapat mempengaruhi metabolisme kolesterol darah. Beberapa hormon yang berpengaruh pada metabolisme kolesterol adalah hormon pertumbuhan (*growth hormon*), tiroid, epinefrin

dan norepinefrin, kortikotropin, glukokortikoid, dan insulin. Semua hormon diatas sifatnya meningkatkan terjadinya lipolisis, kecuali insulin yang memiliki sifat anti lipolisis (Guyton *and* Hall, 1997). Hormon tiroid dapat dikendalikan dengan menggunakan propiltiourasil (Phyto Medica, 1993).

Faktor hormonal ini tidak dapat dikendalikan sepenuhnya, karena sulitnya pendeteksian dini kelainan hormonal yang disebabkan oleh terbatasnya dana dan kesulitan untuk mengetahui apakah status *eutyroid* sudah tercapai atau belum.

10. Penyakit Hati

Penyakit hati dapat menimbulkan kelainan pada kadar kolesterol. Hati merupakan tempat metabolisme kolesterol terutama dalam menghasilkan asam empedu. Penyakit hati pada tikus merupakan variabel yang tidak sepenuhnya dapat dikendalikan karena sulitnya pendeteksian dini dan membutuhkan pemeriksaan yang membutuhkan biaya besar. Namun, untuk mengurangi pengaruh faktor penyakit hati dapat dipilih tikus yang sehat dan aktif.

11. Kualitas kelopak rosela

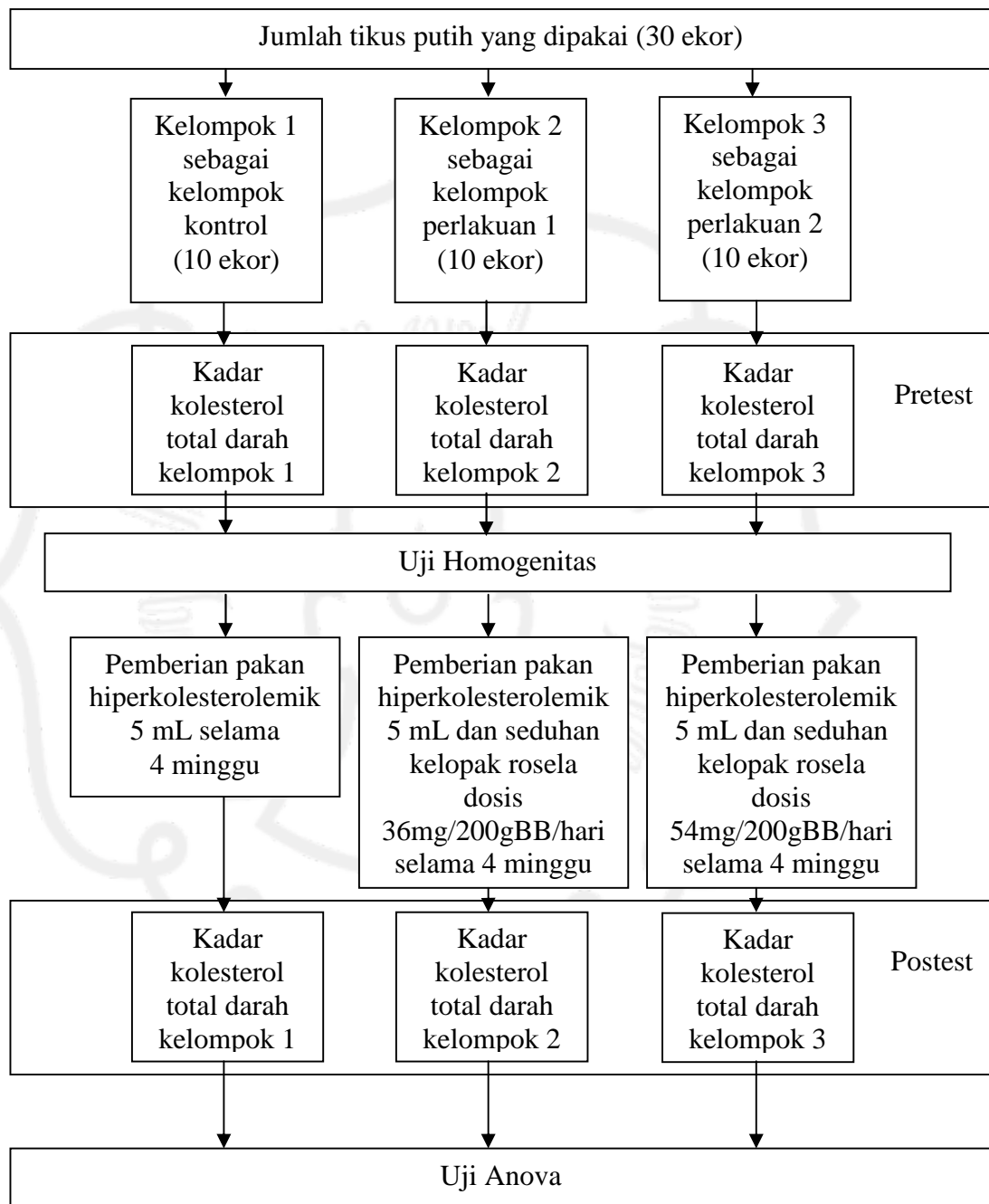
Tempat tumbuh dan proses pengeringan yang dilakukan akan mempengaruhi kualitas zat gizi yng terkandung dalam rosela (Maryani dan Kristiana, 2008). Pengolahan, pengemasan, dan penyimpanan minuman rosela tidak cukup menjaga senyawa aktif di dalamnya (Faridah, 2008). Untuk mengendalikannya digunakan kelopak rosela yang dikeringkan

secara higienis dengan suhu yang terjaga dan disimpan dalam tempat tertutup yang terlindung dari sinar matahari secara langsung. Kelopak rosela didapat dan dikeringkan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu.



G. Alur Penelitian

Rancangan eksperimental murni “*pre and post test controlled group design*”.



H. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

- a. Sonde lambung
- b. Pipet mikro hematokrit
- c. Rak tabung reaksi
- d. Tabung sentrifuge
- e. Sentrifuge
- f. Spektrofotometer
- g. Gelas ukur kecil
- h. Spuit 5 mL
- i. Pengaduk
- j. Kertas saring
- k. Cawan porselin
- l. Timbangan
- m. Kandang hewan percobaan beserta kelengkapan pemberian makanan
- n. Reagen Kolesterol

R1 : Good's buffer	pH 6,7	50 mmol/L
Phenol		5 mmol/L
4-Aminoantipyrine		0,3 mmol/L
Cholesterol esterase (CHE)		≥ 200 U/L
Cholesterol oxidase (CHO)		≥ 50 U/L
Peroxidase (POD)		≥ 3 kU/L
R2 : Standard	200 mg/dL (5,2 mmol.L)	

2. Bahan-bahan yang Digunakan

- a. Seduhan rosela
- b. Makanan hiperkolesterolemik
- c. Makanan standard menggunakan pellet
- d. *Aquadest*
- e. PTU

I. Cara Kerja

1. Subjek sebanyak 30 ekor dibagi dalam tiga kelompok secara random sehingga dalam satu kelompok terdiri atas 10 tikus. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol, kelompok 2 dan 3 sebagai kelompok perlakuan.
2. Selama 7 hari subjek penelitian di adaptasikan dengan lingkungan laboratorium tempat penelitian dan diberi makanan standar untuk tikus yaitu pellet dan *aquadest*. Untuk tikus seberat 200 gr setiap harinya membutuhkan minum sebanyak 20-45 mL air (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).
3. Berat badan subjek penelitian ditimbang. Perbedaan rerata berat badan dianalisis menggunakan uji *ANOVA*. Bila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dicari berat badan tikus yang jauh di atas atau di bawah rerata dengan toleransi 20% (160-240 gram), untuk dapat diganti dengan data berat badan tikus yang lain untuk mencapai keadaan homogen. Untuk selanjutnya penimbangan dan analisis perbedaan rerata berat badan

dilakukan seminggu sekali untuk mengetahui apakah perlu penyesuaian dosis.

4. Setelah 7 hari semua subjek penelitian diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar kolesterol total darah *pretest*. Setiap subjek penelitian dipuasakan dahulu selama 12 jam, sebelum darahnya diambil. Darah tikus putih diambil melalui sinus orbitalis dengan pipet mikro hematokrit, lalu darah ditampung dalam tabung sentrifuge. Darah dalam tabung sentrifuge dipusingkan selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm maka akan didapatkan serum darah untuk diperiksa kadar kolesterol total serum darahnya. Kadar kolesterol total yang didapatkan adalah kadar kolesterol total sebelum perlakuan (*pretest*). Kadar kolesterol total diukur dengan metode spektrofotometrik.
5. Melakukan analisis data kadar kolesterol total *pretest*. Perbedaan rerata kadar kolesterol total pretest dianalisis menggunakan uji *ANOVA*. Bila didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dicari data kolesterol total yang jauh di atas atau di bawah rerata untuk dapat diganti dengan data dari tikus yang lain untuk mencapai keadaan homogen sebelum perlakuan. Bila tidak didapatkan perbedaan bermakna dilanjutkan dengan langkah berikutnya.
6. Pemberian perlakuan yang berbeda bagi masing-masing kelompok yaitu:
 - a. Kelompok 1 : Kelompok kontrol
Selama 4 minggu diberikan induksi pakan hiperkolesterolemik, masing-masing subjek penelitian diberi 2,5 mL peroral melalui sonde.

Pemberian pakan dua kali sehari, pada pagi hari jam 7.00 WIB dan pada sore hari jam 15.00 WIB.

- b. Kelompok 2 : Kelompok perlakuan dengan seduhan kelopak rosela dosis 1 (36 mg)

Selama 4 minggu subjek penelitian diberikan pakan hiperkolesterolemik masing-masing subjek penelitian diberi 2,5 mL ditambah 36 mg/3,6 mL seduhan kelopak rosela diberikan peroral melalui sonde pada pagi hari jam 7.00 WIB dan pada sore hari jam 15.00 WIB.

- c. Kelompok 3 : Kelompok perlakuan dengan seduhan kelopak rosela dosis 2 (54 mg)

Selama 4 minggu subjek penelitian diberikan pakan hiperkolesterolemik masing-masing subjek penelitian diberi 2,5 mL ditambah 54 mg/3,6 mL seduhan kelopak rosela diberikan peroral melalui sonde pada pagi hari jam 7.00 WIB dan pada sore hari jam 15.00 WIB.

7. Setelah hari ke-35 (akhir minggu ke 5), semua subjek penelitian diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar kolesterol total darah *pos test*. Sebelum diambil darahnya, semua subjek penelitian dipuaskan dahulu selama 12 jam Darah tikus putih diambil melalui sinus orbitalis dengan pipet mikro hematokrit, lalu darah ditampung dalam tabung sentrifuge. Darah dalam tabung sentrifuge dipusingkan selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm maka akan didapatkan serum darah untuk diperiksa kadar kolesterol

total serum darahnya. Kadar kolesterol total yang didapatkan adalah kadar kolesterol total sesudah perlakuan (*posttest*). Kadar kolesterol total diukur dengan metode spektrofotometrik.

8. Membandingkan kadar kolesterol total darah antara kelompok yang satu dengan yang lain dan mengolah data hasil pemeriksaan kadar kolesterol total darah tikus putih.

J. Analisis Statistik

Data yang didapat dari ketiga kelompok dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA untuk membandingkan perbedaan rerata lebih dari 2 kelompok dengan derajat kemaknaan $\alpha=0,05$. Selain uji ANOVA, dilakukan juga uji t berpasangan untuk menganalisa data sebelum dan sesudah perlakuan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Penelitian pengaruh rosela terhadap kadar kolesterol total darah ini dilakukan dengan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berumur kira-kira tiga bulan dengan berat 190-225 gram sebanyak 30 ekor dari strain yang sama yaitu Wistar. Tikus-tikus tersebut kemudian dibagi dalam tiga kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Kelompok I merupakan kelompok kontrol (tanpa pemberian seduhan rosela), kelompok II merupakan kelompok perlakuan 1 (seduhan rosela 36mg/200gram BB/hari), dan kelompok III merupakan kelompok perlakuan 2 (seduhan rosela 54mg/200gram BB/hari).

Sebelum diberi perlakuan, semua tikus putih ditimbang terlebih dahulu. Hasil penimbangan berat badan tikus putih (lampiran 4) kemudian dianalisis secara statistik dan didapatkan rerata berat badan tikus putih (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata berat badan tikus putih sebelum perlakuan

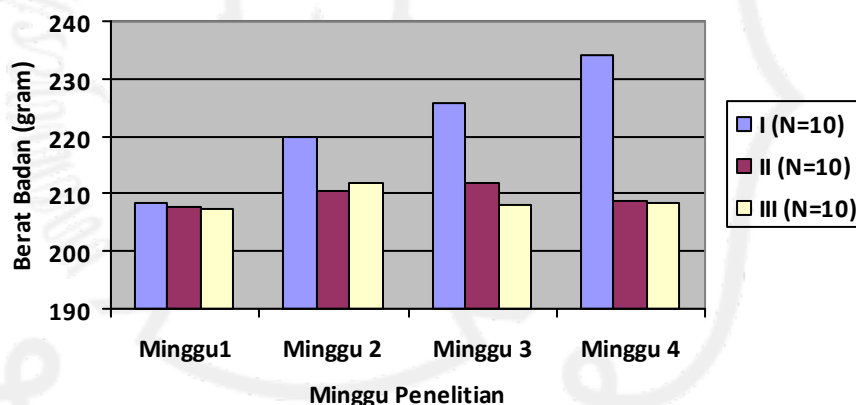
Kelompok	Rerata berat badan sebelum perlakuan (gram)± Simpangan Baku
I (N=10)	208,25 ± 7,64
II (N=10)	207,75 ± 9,89
III (N=10)	207,25 ± 9,89

Data di atas kemudian dilakukan uji homogenitas dan didapatkan nilai probabilitas 0,723 ($p > 0,05$) yang berarti berat badan tikus homogen. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa sebelum perlakuan tidak ada perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 8).

Setiap akhir minggu, penimbangan berat badan tikus dilakukan dengan tujuan untuk menentukan apakah perlu dilakukan penyesuaian dosis seduhan rosela yang akan diberikan. Hasil penimbangan berat badan tikus tiap minggu dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rerata berat badan tikus putih selama kurun waktu penelitian (4 minggu) (gram) \pm Simpangan Baku.

Kelompok	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
I (N=10)	208,25 \pm 7,64	220 \pm 10,54	225,75 \pm 10,28	234 \pm 9,66
II (N=10)	207,75 \pm 9,89	210,5 \pm 9,85	211,75 \pm 7,82	208,75 \pm 10,09
III (N=10)	207,25 \pm 9,89	211,75 \pm 9,43	208 \pm 12,74	208,5 \pm 14,35



Gambar 1. Rerata Peningkatan Berat Badan Tikus Putih selama Penelitian

Data hasil penimbangan berat badan tikus kelompok I selama 4 minggu dilakukan uji ANOVA dan didapatkan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$), dengan demikian H_0 ditolak yang berarti terdapat perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 9). Hal ini menunjukkan adanya peningkatan berat badan tikus putih kelompok I secara signifikan.

Uji ANOVA juga dilakukan pada data hasil penimbangan berat badan tikus kelompok II selama 4 minggu dengan hasil nilai probabilitas 0,785 ($p > 0,05$), dan pada hasil penimbangan berat badan tikus kelompok III selama 4 minggu didapatkan nilai probabilitas 0,837 ($p > 0,05$). Dengan demikian, H_0 diterima yang berarti tidak ada perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 10 dan 11). Oleh karena itu, tidak dilakukan penyesuaian dosis seduhan rosela pada kelompok II maupun kelompok III.

Selain dilakukan penimbangan berat badan, sebelum diberi perlakuan semua tikus putih diadaptasikan dalam lingkungan laboratorium selama satu minggu. Di akhir minggu adaptasi, tikus putih dipuasakan 12 jam untuk persiapan pemeriksaan kadar kolesterol total darah sebelum perlakuan (kadar kolesterol total darah *pretest*). Kemudian, selama empat minggu tikus putih diberi perlakuan seduhan rosela bersamaan dengan pemberian pakan hiperkolesterolemik dan PTU (propiltiourasil). Pada akhir minggu keempat, darah tikus putih diambil untuk dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total darah sesudah perlakuan (kadar kolesterol total *posttest*). Hasil pengukuran kadar kolesterol total darah dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rerata kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan (mg/dl)

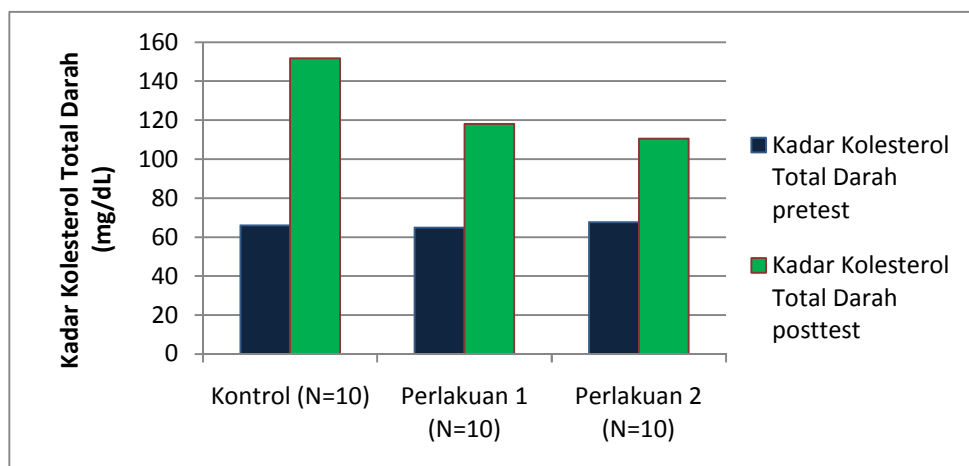
Kelompok	Kadar kolesterol total sebelum perlakuan (mg/dl) ± Simpangan Baku	Kadar kolesterol total sesudah perlakuan (mg/dl) ± Simpangan Baku
I (N=10)	66,04 ± 10,37	151,85 ± 35,16
II (N=10)	64,89 ± 7,70	118,09 ± 43,34
III (N=10)	67,63 ± 6,96	110,47 ± 36,80

Keterangan :

Kelompok I : tanpa pemberian seduhan rosela (Kelompok kontrol)

Kelompok II : diberikan seduhan rosela dosis 36mg/200gram BB/hari

Kelompok III : diberikan seduhan rosela dosis 54mg/200gram BB/hari



Gambar 2. Rerata kadar kolelesterol total darah darah tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan (mg/dL).

Rerata kadar kolesterol total darah sebelum perlakuan tiap kelompok kemudian dianalisis menggunakan uji homogenitas dan didapatkan $p : 0,329$ ($p > 0,005$) berarti kadar kolesterol total darah tikus putih sebelum perlakuan homogen. Kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA dan didapatkan $p : 0,770$ ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar kolesterol total darah tikus putih pada ketiga kelompok sebelum perlakuan secara signifikan (lampiran 13).

Rerata kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan masing-masing kelompok dibandingkan menggunakan uji t berpasangan (lampiran 15). Hasil dari uji t berpasangan yaitu :

- a. Kelompok I didapatkan $p : 0,000$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan secara signifikan.
- b. Kelompok II didapatkan $p : 0,003$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan secara signifikan.
- c. Kelompok III didapatkan $p : 0,005$ ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat peningkatan kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan secara signifikan.

Selisih kadar kolesterol total darah masing-masing tikus didapatkan dari pengurangan kadar kolesterol total darah sesudah dengan kadar kolesterol total darah sebelum perlakuan. Rerata selisih kadar kolesterol total darah dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 4. Rerata selisih kadar kolesterol total sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Selisih kadar kolesterol total sebelum dan sesudah perlakuan (mg/dl) \pm Simpangan Baku
I (N=10)	79,19 \pm 33,79
II (N=10)	53,20 \pm 41,34
III (N=10)	42,84 \pm 36,41

Dari data di atas, rerata selisih kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis menggunakan uji homogenitas dan didapatkan nilai $p : 0,775$ ($p > 0,005$), yang berarti data homogen. Kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA (lampiran 16) dan didapatkan $p = 0,099$ ($p > 0,05$), dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata kadar kolesterol total darah yang signifikan antar kelompok.

Sebagai analisis tambahan, untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok data berat badan tikus putih sesudah perlakuan antara kelompok I, kelompok II, dan kelompok III dilakukan uji ANOVA. Pada uji ini ternyata didapatkan hasil $p=0,000$ ($p<0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan peningkatan berat badan yang signifikan setelah 4 minggu perlakuan. Setelah dilanjutkan dengan uji-LSD didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Kelompok I dengan kelompok II didapatkan $p: 0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata berat badan tikus putih pada kelompok I lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok II.
2. Kelompok I dengan kelompok III didapatkan $p: 0,000$ ($p<0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata berat badan tikus putih pada kelompok I lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok III.
3. Kelompok II dengan kelompok III didapatkan $p: 0,962$ ($p>0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata berat badan tikus putih yang signifikan.

BAB V

PEMBAHASAN

Sebelum diberi perlakuan, semua tikus putih ditimbang. Penimbangan yang dilakukan ini bertujuan untuk menilai keseragaman berat badan dan status gizi yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Hasil uji homogenitas berat badan tikus putih sebelum perlakuan (lampiran 8) didapatkan berat badan tikus putih homogen. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa terdapat keseragaman berat badan tikus putih sehingga penelitian dapat dilanjutkan ke langkah selanjutnya.

Perlakuan induksi pakan hiperkolesterolemik selama empat minggu memungkinkan terjadinya peningkatan berat badan. Oleh karena itu, untuk menentukan apakah perlu dilakukan penyesuaian dosis seduhan rosela, di setiap akhir minggu penimbangan berat badan tikus dilakukan. Hasil uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok I selama 4 minggu didapatkan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$), dengan demikian H_0 ditolak yang berarti terdapat perbedaan berat badan tikus putih secara signifikan (lampiran 9).

Dari hasil uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok II selama 4 minggu, dan hasil uji t berpasangan berat badan tikus setiap minggu menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan berat badan tikus yang signifikan (lampiran 10). Oleh karena itu, tidak dilakukan penyesuaian dosis seduhan rosela pada kelompok II.

Penyesuaian dosis seduhan rosela juga tidak dilakukan pada kelompok III karena hasil uji ANOVA terhadap hasil penimbangan berat badan tikus kelompok III selama 4 minggu, dan hasil uji t berpasangan berat badan tikus setiap minggu menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan berat badan tikus yang signifikan setiap minggunya (lampiran 11).

Pada penelitian ini didapatkan kadar kolesterol total darah sebelum perlakuan kelompok I sebesar 66,04 mg/dL, kelompok II sebesar 64,89 md/dL, dan kelompok III sebesar 67,63 mg/dL. Setelah data tersebut terbukti homogen dengan menggunakan uji homogenitas, analisis statistik dilanjutkan dengan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih kelompok I, II dan III sebelum perlakuan menunjukkan tidak terdapat perbedaan kadar kolesterol total tikus putih pada ketiga kelompok sebelum perlakuan secara signifikan (lampiran 13). Ini berarti terdapat keseragaman kadar kolesterol total darah tikus putih pada ketiga kelompok.

Setelah diberikan perlakuan selama 4 minggu, dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total darah sesudah perlakuan. Hasil yang didapatkan adalah kelompok I sebesar 151,85 mg/dL, kelompok II sebesar 118,09 md/dl, dan kelompok III sebesar 110,47 mg/dL.

Kemudian, dari data kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan uji t berpasangan. Pada hasil uji t berpasangan kadar kolesterol total darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok I (lampiran 15) didapatkan ada perbedaan kadar kolesterol total darah sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan. Ini menunjukkan bahwa induksi pakan

hiperkolesterolemik berhasil meningkatkan kadar kolesterol kolesterol total tikus putih.

Hasil uji t berpasangan kadar kolesterol total darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok II didapatkan perbedaan kadar kolesterol total darah sebelum dan setelah perlakuan secara signifikan (lampiran 15). Hasil yang sama juga didapat pada uji t berpasangan kadar kolesterol total darah tikus sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok III (lampiran 15). Perbedaan yang terjadi karena adanya peningkatan kadar kolesterol kolesterol total darah setelah perlakuan. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh seduhan rosela dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih.

Setelah terbukti homogen dengan uji homogenitas, rerata selisih antara sebelum dan sesudah perlakuan kadar kolesterol total darah ketiga kelompok juga dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA (lampiran 16) untuk mengetahui perbedaan peningkatan kadar kolesterol total darah antara kelompok I, II, dan III. Uji ANOVA terhadap rerata peningkatan kadar kolesterol total darah tikus menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata peningkatan kadar kolesterol total darah yang signifikan antar kelompok. Namun demikian, dilihat dari rerata selisih antara kadar kolesterol total darah sebelum dan sesudah perlakuan, peningkatan kadar kolesterol total pada kelompok kontrol masih lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 maupun kelompok perlakuan 2, meskipun perbedaan peningkatan kadar kolesterol total tersebut belum signifikan pada hasil uji statistik.

Berdasarkan hasil di atas, dapat disimpulkan bahwa pemberian seduhan rosela dengan dosis 36mg/hari dan 54mg/hari tidak dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih. Kesimpulan ini diambil karena tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar kolesterol total darah tikus kelompok kontrol dengan tikus kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 setelah diberi perlakuan.

Efek pemberian seduhan rosela terhadap kadar kolesterol total darah dipengaruhi oleh dosis sediaan rosela yang diberikan. Pada penelitian ini digunakan seduhan rosela dengan dosis 36mg/hari dan 54mg/hari. Dosis ini ditentukan atas dasar penggunaan seduhan rosela yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat yaitu 2gram/hari, yang kemudian dikonversikan untuk tikus dengan berat 200 gram menjadi sebesar 36mg/hari, sedangkan untuk mengetahui adakah pengaruh perbedaan dosis digunakan pula dosis 54mg/hari.

Pada penelitian tentang efek hipokolesterolemik dan antioksidan ekstrak rosela yang pernah dilakukan di Thailand, dosis yang digunakan adalah 500mg/kgBB dan 1000mg/kgBB ekstrak kelopak kering rosela. Penelitian ini dilakukan terhadap tikus hiperkolesterolemik selama 6 minggu dan berhasil menurunkan kadar kolesterol total darah tikus putih sebesar 22% dan 26% ($p < 0,001$) (Hirunpanich, 2005). Berarti, dalam penelitian ini tikus seberat 200 gram akan menerima $500 \times 200 / 1000 = 100\text{mg}$ ekstrak rosela dan $1000 \times 200 / 1000 = 200\text{mg}$ ekstrak rosela.

Penelitian lain tentang pengaruh ekstrak rosela terhadap obesitas di Meksiko menggunakan ekstrak rosela dengan dosis 120mg/kg/hari selama 60 hari.

Penelitian ini dilakukan pada mencit obesitas yang diinduksi *monosodium glutamate* (MSG). Hasil yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak rosela dapat menurunkan berat badan mencit yang obesitas, sedangkan pada kadar kolesterol total darah tidak terjadi penurunan yang signifikan (Alarcon-Aguilara *et al.*, 2007). Dalam penelitian ini, berarti setiap mencit akan menerima $120 \times 20 / 1000 = 2,4$ mg ekstrak rosela dan jika dikonversikan ke tikus menjadi $2,4 \times 7,0 = 16,8$ mg ekstrak rosela.

Penelitian uji klinis pendahulu terhadap ekstrak rosela selama 4 minggu yang dilakukan oleh Lin T.L. berhasil menyimpulkan bahwa dosis optimum ekstrak rosela yang sebaiknya dikonsumsi agar dapat menurunkan kadar kolesterol total darah pada manusia dewasa adalah sebesar 3000mg/hari (Oppel, 2007). Dosis 3000mg/hari jika dikonversi pada tikus sebesar 200 gram akan menjadi $0,018 \times 3000$ mg/hari = 54mg/hari.

Dari beberapa penelitian ekstrak rosela di atas, dapat diambil kesimpulan bahwa dosis 100mg/hari dan 200mg/hari ekstrak rosela dapat menurunkan kadar kolesterol total darah tikus putih, sedangkan pada pemberian ekstrak rosela dengan dosis 16,8mg/hari hanya dapat menurunkan berat badan dan tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total darah secara signifikan.

Seduhan rosela dengan dosis 36mg/200gBB/hari dan 54mg/200gBB/hari yang digunakan dalam penelitian yang dilakukan oleh peneliti ternyata tidak menunjukkan hasil yang signifikan dalam mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tidak adanya

pengaruh seduhan rosela dapat disebabkan oleh kurangnya dosis seduhan rosela yang diberikan pada tikus.

Hasil berbeda pada dosis sama yang didapat pada penelitian ekstrak rosela oleh Lin T.L. dengan penelitian seduhan rosela oleh peneliti disebabkan karena perbedaan sediaan yang diberikan. Bentuk sediaan rosela berupa seduhan mempengaruhi efek yang dapat ditimbulkan terhadap kadar kolesterol total darah tikus. Hal ini terjadi karena zat aktif yang terlarut dalam seduhan lebih sedikit daripada zat aktif yang terkandung dalam ekstrak rosela. Menurut berbagai penelitian, zat aktif yang merupakan titik tangkap dalam peran menurunkan kadar kolesterol total darah adalah senyawa fenolik, flavonoid dan turunannya. Pada penelitian yang dilakukan Lin T.L., ekstrak rosela mengandung 1,7% polifenol, dan 1,43% flavonoid (Oppel, 2007). Flavonoid dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu (Carvajall-Zarrabal *et al.*, 2005). Polifenol menurunkan absorpsi kolesterol dengan cara berikatan pada *cholesterol carriers* saat melewati membran *brush border*. Mekanisme polifenol dalam menurunkan kadar kolesterol lainnya adalah dengan penurunan sekresi apoB yang menyebabkan penurunan produksi lipoprotein (Zern *and* Fernandez, 2005). Namun, seperti yang sudah disampaikan sebelumnya, bentuk sediaan juga mempengaruhi zat aktif yang terkandung di dalam sediaan tersebut. Oleh karena itu, untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak dan seduhan rosela, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat yang terkandung dalam seduhan rosela.

Selain itu, waktu penelitian yang hanya empat minggu pada penelitian ini masih belum cukup lama bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan di Thailand oleh V. Hirunpanich (enam minggu) dan di Meksiko oleh Alarcon-Aguilara (60 hari). Kualitas kelopak rosela juga mempengaruhi efek yang dihasilkan oleh seduhan. Namun, kualitas kelopak rosela tidak dapat ditentukan secara pasti. Hal ini dikarenakan kualitas kelopak rosela dipengaruhi tempat tumbuh dan proses pengeringan yang dilakukan (Maryani dan Kristiana, 2008). Pengolahan, pengemasan, dan penyimpanan rosela juga tidak cukup menjaga senyawa aktif di dalamnya (Faridah, 2008).

Faktor-faktor yang tidak dapat dikendalikan, seperti stres, faktor hormon, dan penyakit hati juga dapat mengganggu efek pemberian seduhan rosela sehingga peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih tidak dapat dicegah.

Berdasarkan hasil uji ANOVA dan uji t berpasangan dari berat badan tikus selama empat minggu perlakuan yang sudah disampaikan sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan berat badan tikus putih yang signifikan pada kelompok I, sedangkan pada kelompok II dan kelompok III tidak terjadi peningkatan berat badan. Hasil uji ANOVA terhadap berat badan tikus setelah perlakuan juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Perbedaan ini tampak pada perbandingan kelompok I dengan kelompok II dan kelompok I dengan kelompok III, sedangkan kelompok II dan kelompok III tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (lampiran 12). Oleh karena itu, dapat diambil kesimpulan lain bahwa seduhan rosela memberikan efek pencegahan terhadap peningkatan berat badan tikus putih. Pada kelompok I, peningkatan berat

badan tikus putih disebabkan oleh induksi pakan hiperkolesterolemik yang diberikan. Pakan hiperkolesterolemik akan meningkatkan asupan lemak. Lemak dalam makanan, terutama trigliserida, akan membentuk senyawa monogliserida dan asam lemak setelah dicerna (Murray *et al.*, 2003). Setelah melalui epitel usus, keduanya akan disintesis kembali menjadi molekul trigliserida, yang kemudian menyusun kilomikron sebagai alat transportasi lemak dalam pembuluh limfe (Guyton *and* Hall, 1997). Di dalam tubuh, trigliserida merupakan bentuk utama cadangan lemak, baik cadangan lemak subkutan maupun visceral (Murray *et al.*, 2003). Rosela mengandung vitamin C yang dapat mengurangi absorpsi trigliserida dengan pengaruhnya sebagai pencahar (Sotyaningtyas, 2007). Selain itu, niasin yang terdapat dalam rosela dapat menurunkan sintesis kembali trigliserida (Totong, 1993). Kedua mekanisme tersebut berpengaruh dalam mencegah pembentukan cadangan lemak tubuh. Akibatnya, berat badan tikus dengan induksi pakan hiperkolesterolemik yang diberi seduhan kelopak rosela (kelompok II dan III) tidak meningkat.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Pemberian seduhan rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis 36mg/hari dan 54mg/hari tidak dapat mencegah peningkatan kadar kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibuat hiperkolesterolemik.
2. Dari analisis tambahan didapatkan bahwa pemberian seduhan kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa*) dengan dosis 36mg/hari dan 54mg/hari dapat mencegah peningkatan berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan pakan hiperkolesterolemi.

B. Saran

1. Dilakukan penelitian dengan dosis seduhan rosela yang lebih tinggi dari dosis seduhan rosela yang digunakan dalam penelitian ini.
2. Dilakukan penelitian dengan waktu perlakuan lebih lama untuk mengetahui efek jangka panjang pemberian seduhan kelopak rosela terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih.
3. Dilakukan penelitian mengenai zat aktif yang terkandung dalam seduhan rosela sehingga dapat dilakukan perbandingan dengan ekstrak rosela.
4. Dilakukan pemeriksaan kadar hormon T3 dan T4 selama penelitian untuk mengetahui tercapainya kondisi eutyroid pada tikus putih.

5. Dilakukan pendeteksian dini sebelum perlakuan terhadap penyakit hati pada tikus putih.
6. Digunakan jumlah sampel yang lebih besar agar hasil yang didapat lebih bermakna secara statistik karena semakin besar jumlah sampel yang diambil maka akan semakin tinggi pula tingkat representativitasnya.



DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J. M. F. 2006. Dislipidemia. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*. Edisi keempat. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal: 1926-1932.
- Alarcon-Aguilar, F., Zamilpa, A., Perez-Garcia, M. D., Almanza-Perez, J., Romero-Nuñez E., Campos-Sepulveda, E., Vazquez-Carrillo, L., Roman-Ramos, R. 2007. Effect of Hibiscus sabdariffa on obesity in MSG mice . *Journal Ethnopharmacology* 114: 66-71
- Anwar, T. B. 2004. *Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner*. <http://library.usu.ac.id/modules.php?op=modload&name=Downloads&file=index&req=getit&lid=1258> (13 September 2008)
- Arkeman, H. D. 2006. Efek vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas pada tikus akibat pajanan asap rokok. *Universal* 25:62
- Brown, M.S. and Goldstein, J.L. 1997. [The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor](#). *Cell* 89: 331
- Carvajal-zarrabal, O., Waliszewski, S. M., Barradas-dermitz, D. M., Orta-flores, Z., Hayward-jones, P. M., Nolasco-hipolito, C., Angulo-guerrero, O., Sa'nchez-rican, R., Infaso, R. M., Trujillo, P.R.L.. 2005. The consumption of hibiscus sabdariffa dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 153–159
- Chin, L. K. 2006. *Food Value of Roselle, Hibiscus sabdariffa tea*. <http://www.suagcenter.com/documents/HibiscusTea.pdf> (12 November 2008)
- Davidson, M. H. 2003. Niacin: a powerful adjunct to other lipid-lowering drugs in reducing plaque progression and acute coronary events. *Current Atherosclerosis Reports*. 5:418–422
- Devlin, T. M. 2006. *Textbook Of Biochemistry : With Clinical Correlations. Sixth edition*. New York : John wiley & sons, Inc. pp : 707-717
- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. 2008. *Laporan Hasil Pemeriksaan Faktor Risiko Penyakit Tidak Menular Tertentu Pegawai Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah*. www.dinkesjatengprov.go.id/dinkes08/screening_dinkes.pdf (15 Juli 2009)

- Eka dan Odi. 2008. *Rosela, Si Merah yang Kaya Antioksidan*.
http://www.indonesiaherbal.com/herbal/indo/kasiat_rosela.html/ (13 September 2008)
- Espenshade, P. J. and Hughes, A. L.. 2007. Regulation of sterol synthesis in eukaryotes. *Annual Review of Genetics*. 41: 401-427
- Faridah, D.N. 2008. Kualitas Rosela Dapat Diukur dari Warna Merah Seduhannya. <http://thibbunnabawi.wordpress.com/2008/04/10/kualitas-rosela-bisa-diukur-dari-warna-merah-seduhannya/> (15 Oktober 2008)
- Ganong, W.F. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 20. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal : 339-341
- Gropper, S. S., Smith, J. L., and Groff, J. L. 2005. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Fourth edition. USA: Wardsworth, a division of Thomson Learning. pp: 129 – 161
- Guyton, A.C and Hall, J.E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal : 1187 – 1201
- Helmina, A. dan Fitriani, V. 2007. *Uluran Kesembuhan Teh Herbal*.
<http://darfaherba.blogspot.com/2008/01/senin-29-oktober-2007-160316-uluran.html/> (20 September 2008)
- Herbarium Bandungense. 2008. *Klasifikasi Tumbuhan >> Hibiscus sabdariffa*.
<http://www.sith.itb.ac.id/herbarium/index.php?c=herbs&view=detail&spid=207301> (14 Juli 2009)
- Hirunpanich, V., Utaipat A, Noppawan, P. M., Nuntavan, B., Hitoshi, S., Angkana, H., 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
- Kritchevsky, D. 1996. Animal Technique for Evaluating Hypocholesterolemic Drugs. In : John H. Nodine (ed). *Animal and Clinical Pharmacologic Techniques In Drug Evaluation*. New York : John Wiley & Sons Inc. pp: 193-197
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan, Sumber & Manfaatnya*.
<http://antioxidantcentre.com/> (21 September 2008)
- Marina, K. 1994. *Penapisan Aktivitas Anti Hiperlipidemia Beberapa Tumbuhan Obat pada Tikus Jantan*.

- http://lib.farmasi.unpad.ac.id/media_detail.aspx?id=2842. (21 September 2008)
- Maryani, H. dan Kristiana, L. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka. Hal: 3-7, 25-30
- Moses, S. 2008. *Pharmacology Center*.
<http://www.fpnotebook.com/CV/Pharm/Ncn.htm> (21 September 2008)
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. 2003. *Biokimia Harper*. Edisi 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal : 276 – 283
- Murti, B. 2007. *Prinsip dan Metode Riset Epidemiologi*. Edisi ke 3. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal :279 – 290
- Oentoro, S. 2007. *Cara Cerdas Menyikapi Kolesterol*.
<http://www.medicastore.com> (20 September 2008)
- Oppel, M. 2007. *Hibiscus Tea May Have Cholesterol-lowering Effects*. *Herbclip*. <http://www.herbalgram.org> (12 September 2008)
- Pfizer. 2007. *Apa itu kolesterol?*. <http://www.pedulikolesterol.com> (20 September 2008)
- Phyto Medica. 1993. *Anti Hiperlipidemia. Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitofarmaka dan Pengujian Klinik*. Jakarta, Hal: 38-45
- Price, S. A. and Wilson, L. M.2003.*Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Volume 1..* Edisi 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal:132-133
- Prommetta, P. *et al.* 2006. Aqueous extract of the calyces of hibiscus sabdariffa Linn.: effects on hepatic cytochrome P450 and subacute toxicity in rats. *Thai J. Pharm. Sci.* 30:8-18
- Senior. 2007. *Bunga Rosela: Penghias Taman Anti-Hipertensi*.
<http://cybermed.cbn.net.id/cbprtl/cybermed/detail.aspx?x=Natural+Healing&y=cybermed%7C18%7C0%7C3%7C110> (16 September 2008)
- Shin, Y., Vaziri, N., Willekes N., Kim, C. H., Joles, J.A. 2005. *Effects of gender on hepatic HMG-CoA reductase, cholesterol 7 α -hydroxylase, and LDL receptor in hereditary analbuminemia*. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289: E993-E998

- Smith, J.B. dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan, dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press. Hal : 37 –38
- Soehardjono, D., 1993. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hal: 207
- Sotyaningtyas, C. 2007. *Sehat & Segar dari Alam*.
http://theezayoe.blogspot.com/2007_07_01_archive.html (21 September 2008)
- Suyatna, F D. dan Handoko, T. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi keempat. Bagian Farmakologi FK UI. Hal: 364 – 379
- Terpstra, A. H. M., Lapre, J. A., de Vries, H. T., Beynen, A. C. 1998. Dietary pectin with high viscosity lowers plasma and liver cholesterol concentration and plasma cholesteryl ester transfer protein activity in hamsters. *The J. of Nutr.* 128(11):1944-1949
- Totong, M. K. 1993. Farmakologi obat anti hiperlipidemia. *Cermin Dunia Kedokteran*. 85:26-32
- Verdegem, P. 2007. *BiosLife Complete - the Clinically Proven, All-Natural Approach to Lowering LDL Cholesterol Levels Naturally*.
<http://www.lowering-cholesterol.biz/> (21 September 2008)
- Wolkoff, A.W. and Cohen, D.E. 2003. Bile acid regulation of hepatic physiology: I. Hepatocyte transport of bile acids. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 284 (2): G175–9
- Yellashakti. 2008. *Bukan Teh Biasa*.
<http://yellashakti.wordpress.com/2008/05/26/bukan-teh-biasa/> (20 Oktober 2008)
- Zern, T. L. and Fernandez, M. L.. 2005. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J. Nutr.* 135:2291-2294

