
Review Hepatoprotektor Rosela (*Hibiscus sabdariffa*): Aktivitas, Mekanisme Aksi, dan Toksisitas

(*Review of Hepatoprotector of Rosela (Hibiscus sabdariffa) : Activity, Mechanism of Action and Toxicity*)

Steffi Liem*, Jutti Levita

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung, Sumedang Km 21 Jatinangor 45363

Article Info:

Received: 08 Juni 2017

in revised form: 28 Juni 2017

Accepted: 30 Juli 2017

Available Online: 01 Oktober 2017

Keywords:

Hibiscus sabdariffa

Roselle

Hepatoprotective

Toxicity

Corresponding Author:

Steffi Liem

Fakultas Farmasi

Universitas Padjadjaran

Jatinangor, 45363, Bandung,

Indonesia

Phone : +62 451-423468

Email: steffi_liem@yahoo.com

ABSTRACT

Liver cirrhosis has become a health problem in the world that caused mortality significantly. Treatment used herbs from various countries has been widely applied, one of them by consuming roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx extract. This review will be discuss about the usage of *H. sabdariffa* calyx extract as hepatoprotector which can inhibit the increasing of clinical parameters, such as ALT, AST, ALP, and LDH in various inducer, ie acetaminophen, CCl₄, CdCl₂, DNPH, and TAA. Its mechanism of action are as an antioxidant, inhibition of cytochrome enzyme, increase liver cell viability percentage, increase CAT, GSH and decrease protein expression of pJNK, tBid and Bax. Although, the consumption of *H. Sabdariffa* calyx extract may also cause acute, subchronic, and chronic toxicity depend on the dose.

Copyright © 2017 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Liem S & Levita J. (2017). Review Hepatoprotektor Rosela (*Hibiscus sabdariffa*): Aktivitas, Mekanisme Aksi, dan Toksisitas. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 3(2), 103-117. doi:10.22487/j24428744.2017.v3.i2.8610

ABSTRAK

Sirosis hati telah menjadi masalah kesehatan di dunia yang menyebabkan mortalitas secara signifikan. Penanganannya menggunakan herbal dari berbagai negara telah lama dilakukan, salah satunya dengan mengkonsumsi ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Makalah review ini akan membahas tentang penggunaan ekstrak bunga *H. sabdariffa* sebagai hepatoprotektor yang dapat menghambat terjadinya peningkatan beberapa parameter klinis, seperti ALT, AST, ALP, dan LDH pada berbagai jenis penginduksi, yakni asetaminofen, CCl₄, CdCl₂, DNPH, dan TAA. Mekanisme kerja ekstrak bunga *H. sabdariffa* adalah dengan berperan sebagai antioksidan, inhibitor enzim sitokrom, meningkatkan persentase viabilitas sel, meningkatkan CAT, GSH dan menurunkan ekspresi protein pJNK, tBid, dan Bax. Walaupun demikian, konsumsi ekstrak bunga *H. sabdariffa* juga dapat menyebabkan toksisitas akut, sub kronis, dan kronis yang bergantung dari dosis yang diberikan.

Kata Kunci : *Hibiscus sabdariffa*, rosella, hepatoprotektor, toksisitas.

PENDAHULUAN

Hati merupakan organ terbesar di dalam tubuh manusia, yang berfungsi sebagai tempat untuk metabolisme lemak, karbohidrat, dan protein, sebagai tempat detoksifikasi senyawa yang bersifat toksin, pembentukan dan ekskresi garam empedu, dan fungsi vaskular. Kerusakan hati ini dapat disebabkan oleh infeksi, alkohol, autoimun, maupun obat-obatan (Wahyuningsih and Sutjiatmo, 2015).

Kerusakan hati kronis (sirosis) telah menjadi masalah kesehatan internasional yang terjadi pada 31 juta orang dan menyebabkan kematian pada 1 juta orang atau 2% tingkat kematian diseluruh dunia pada tahun 2010. Penyakit sirosis hati ini terus meningkat sejak tahun 1980. Di Indonesia pada tahun 1980-2010 penderita sirosis terus bertambah dan menyebabkan mortalitas, yakni sebesar 19,8% (tahun 1980), 22,4% (tahun 1990), 24,3% (tahun 2000), 24,8% (tahun 2010) per 100.000 kematian (Mokdad *et al.*, 2014).

Penanganan kerusakan hati menggunakan obat-obat herbal telah lama dilakukan, salah satunya dengan menggunakan

bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Telah banyak penelitian mengenai efektivitas bunga *H. sabdariffa* sebagai hepatoprotektor, yang mencegah terjadinya kerusakan hati akibat asetaminofen (Olaleye and Rocha, 2008), karbon tetraklorida (Hashemi, 2014), kadmium (Al-kubaisy, Al-groom and Amoush, 2016), dan 2, 4- dinitro fenil hidrazin (Olusola, 2011). Aktivitas ini disebabkan oleh kandungan bunga rosella yang mengandung antosianin, flavonoid, tanin, dan asam askorbat (Tseng *et al.*, 1997). Oleh karena itu, pada makalah review ini akan membahas mengenai aktivitas hepatoprotektor dari *H. sabdariffa*, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, mekanisme dan studi toksisitasnya.

AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR SECARA IN VITRO

H. sabdariffa memberikan berbagai aktivitas secara *in vitro* sebagai antioksidan, inhibitor enzim CYP, dan menghambat ekspresi protein proapoptosis pada sel hati seperti terlihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil Studi Identifikasi Aktivitas Hepatoprotektor *H. sabdariffa* secara *In Vitro*

Ekstrak	Metode	Hasil	Referensi
Etanol 30%	Antioksidan DPPH dan ABTH	IC ₅₀ DPPH (289.01 ± 16.68 µg/ml) dan ABTH (423.25 ± 31.38 µg/ml)	(Yang <i>et al.</i> , 2012)
Metanol	Antioksidan DPPH	IC ₅₀ 140,9 ± 8,2 µg/ml	(Adetutu and Owoade, 2013)
Etanol	Inhibitor enzim CYP	IC ₅₀ untuk masing-masing enzim CYP adalah : CYP1A2 = 306 µg/ml; CYP2A6 = 1660 µg/ml; CYP2B6 = 481 µg/ml; CYP2C8 = 424 µg/ml; CYP2C9 = 744 µg/ml; CYP2C19 = 621 µg/ml; CYP2D6 = 446 µg/ml; CYP2E1 = 506 µg/ml; dan CYP3A4 = 633 µg/ml	(Johnson <i>et al.</i> , 2013)
Air	Menggunakan sel <i>BALB/c normal liver</i> (BNL) untuk MTT <i>assay</i> , MDA, CAT, GSH, Ekspresi protein pJNK, tBid, dan Bax	Peningkatan % viabilitas pada MTT <i>assay</i> , CAT dan GSH secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (asetaminofen). Penurunan MDA serta ekspresi protein pJNK, tBid, dan Bax secara signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (asetaminofen)	(Liu <i>et al.</i> , 2010)

Keterangan : DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, ABTH: 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), CYP: cytochrome, MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, MDA: malondialdehyde, GSH: Glutathione, CAT: catalase, pJNK: phosphorylated c-Jun N-terminal kinase, tBid : Truncated BID (BH3 interacting-domain), Bax: BCL 2 associated X

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak memiliki pasangan elektron bebas sehingga bersifat tidak stabil dan dapat menyebabkan kerusakan sel hati. Dengan adanya ekstrak *H. sabdariffa*, maka radikal bebas tersebut distabilkan oleh efek antioksidannya, yang dapat dilihat dari nilai IC₅₀ yang dihasilkan terhadap penghambatan DPPH dan ABTH pada tabel 3 di atas.

Penghambatan pada berbagai variasi enzim sitokrom P450, dapat menurunkan metabolisme xenobiotik yang bersifat toksik dan radikal terhadap sel hati. Sehingga kerusakan hati dapat dicegah. Sitokrom isoenzim yang dapat dihambat adalah CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8,

CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E, dan CYP3A4 (Johnson *et al.*, 2013).

Pada peristiwa kematian sel akibat induksi asetaminofen, terjadi inisiasi awal aktivasi JNK menjadi pJNK dan translokasi Bax dimitokondria. Penghambatan terhadap JNK dapat menyebabkan sel bertahan hidup dan mencegah kematian sel. JNK teraktivasi oleh *death receptor* dan stres retikulum endoplasma. Aktivasi terus-menerus pada JNK menyebabkan Bim teraktivasi dan mengarah pada disfungsi mitokondria atau menginduksi kaspase 8, pelepasan Bid yang mengarah pada pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Pelepasan sitokrom c ini diatur oleh Bax. Penurunan ekspresi protein pJNK, tBid, dan Bax setelah pemberian ekstrak

menunjukkan mekanisme penurunan stres oksidatif dan apoptosis melalui jalur intrinsik mitokondria (Liu *et al.*, 2010).

AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR SECARA *IN VIVO*

Aktivitas *H. sadariffa* secara *in vivo* dapat terlihat dengan adanya penurunan berbagai indikator kerusakan hati, seperti enzim AST, ALT, ALP, dan LDH. Aktivitas hepatoprotektor dapat dilihat pada tabel 2. Penginduksi kerusakan hati, seperti

asetaminofen, CCl₄, TAA, DNPH, dan kadmium setelah masuk ke dalam tubuh dan dimetabolisme di hati akan membentuk radikal bebas yang dapat merusak sel hati yang ditandai dengan peningkatan pada enzim-enzim tersebut dan perubahan fisiologis sel-sel hati terhadap biosintesis lemak dan protein. Radikal bebas tersebut dapat distabilkan dengan pemberian ekstrak *H. sadariffa* yang diukur berdasarkan aktivitasnya sebagai antioksidan hepatic pada tabel 3.

Tabel 2. Hasil Studi Identifikasi Aktivitas Hepatoprotektor *H. sadariffa* pada Parameter Kimia Darah

Dosis	Hewan Uji	Penginduksi	Kontrol Positif	Hasil	Referensi
Ekstrak 100 mg/kg BB	Mencit	Asetaminofen 250 mg/kg BB	-	Penurunan kadar AST dan ALT yang signifikan terhadap kontrol negatif (asetaminofen saja)	(Olaleye and Rocha, 2008)
Ekstrak 200, 400, 600 mg/kg BB	Tikus	CCl ₄ 1 ml/kg BB	-	Penurunan kadar AST, ALT, ALP, TC, TG, LDL-C, dan VLDL-C. Peningkatan HDL-C, dan GSH yang signifikan dibandingkan kontrol negatif (CCl ₄)	(Hashemi, 2014)
Ekstrak dan fraksi antosianin 100 mg/kg BB	Kelinci	2, 4- dinitro fenil hidrazin (DNPH) 28 mg/kg BB	-	Penurunan kadar AST dan ALT yang signifikan dibandingkan kontrol negatif (DNPH)	(Olusola, 2011)
Fraksi 100 mg/kg BB	Tikus	Thioacetamide (TAA) 200 mg/kg BB	Silymarin 50 mg/kg BB	Penurunan kadar AST dan ALT yang sebanding dengan silymarin dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif (TAA)	(Ezzat <i>et al.</i> , 2016)
Ekstrak 200 dan 300 mg/kg BB	Tikus	CCl ₄	-	Peningkatan HDL-C. Penurunan LDL-C, TG, TC, AST, ALT dan ALP yang signifikan	(Usuh <i>et al.</i> , 2012)

				dibandingkan kontrol negatif (CCl ₄).	
Fraksi 50 dan 100 mg/kg BB	Tikus	CCl ₄ 1,25 mg/kg BB	-	Penurunan kadar AST, ALT, ALP, dan LDH yang signifikan dibandingkan kontrol negatif (CCl ₄)	(Adetutu and Owoade, 2013)
Fraksi 100 dan 200 mg/kg BB	Tikus	DNPH 3 mg/kg BB	Silymarin 25 mg/kg BB	Penurunan kadar AST, ALT, LDH, T-BIL dan D-BIL, serta peningkatan ALB yang signifikan dibandingkan kontrol negatif (DNPH)	(Obouayeba <i>et al.</i> , 2014)
Ekstrak 200, 400, dan 600 mg/kg BB	Mencit	Asetaminofen 1000 mg/kg BB	-	Penurunan kadar AST dan ALT yang signifikan dibandingkan kontrol negatif (asetaminofen)	(Liu <i>et al.</i> , 2010)

Keterangan AST :*aspartate transaminase*, ALT:*alanine transaminase*, ALP: *alkaline phosphatase*, TC: *total cholesterol*, TG: *triglyceride*, HDL-C: *high-density lipoprotein cholesterol*, LDL-C: *low-density lipoprotein cholesterol*, VLDL-C: *very low-density lipoprotein cholesterol*, CCl₄: *carbon tertachloride*, LDH: *lactate dehydrogenase*, T-BIL: *total bilirubin*, D-BIL: *direct bilirubin*, ALB: *albumin*

Pada keadaan normal serum AST dan ALT berada di dalam sitosol sel hati dan disintesis dalam jumlah yang sedikit. Jika terjadi kerusakan hati, maka enzim ini akan meningkat dan ketika sel hati mengalami lisis, maka AST dan ALT akan masuk ke dalam sistem peredaran darah (Brent and Rumack, 1993). ALP adalah enzim yang dibentuk di hati dan disekresikan melalui saluran empedu. Terjadinya gangguan pada saluran empedu, seperti pada steatosis hepatic menyebabkan peningkatan enzim ini di dalam serum (Mishra, 2012). LDH merupakan enzim yang dihasilkan pada semua organ dan berada di dalam membran plasma. Peningkatan kadar LDH dalam darah menunjukkan terjadinya kerusakan pada organ. LDH terdiri dari 5 isoenzim yang mengindikasikan tempat terbentuknya. LDH-1 dan LDH-2 terdapat di jantung, eritrosit, otak. LDH-3 terdapat di

paru. LDH-4 dan LDH-5 terdapat di hati, otot rangka, ginjal (Drent *et al.*, 1996).

Penurunan kadar kolesterol total, VLDL-C, LDL-C, dan TG serta peningkatan kadar HDL-C dalam serum darah mengindikasikan tidak adanya penghambatan metabolisme kolesterol dihati. Dimana, jika terjadi kerusakan pada hati, maka perombakan kolesterol di dalam hati terganggu dan kolesterol dalam serum meningkat (Pooja and Priscilla, 2009). Albumin adalah protein yang paling utama disintesis di hati. Sitolisis hepatic menyebabkan penghambatan produksi albumin dan menurunkan kadarnya di dalam darah. Albumin berfungsi menjaga tekanan onkotik serta transport besi, asam lemak, kalsium, hormon, dan bilirubin. Penghambatan produksi albumin menyebabkan peningkatan bilirubin (Douhri *et al.*, 2014). Peningkatan albumin dan penurunan bilirubin secara

langsung memberikan gambaran bahwa pemberian ekstrak mencegah terjadinya kerusakan hati.

Tabel 3. Hasil Studi Identifikasi Aktivitas Hepatoprotektor *H. sabdariffa* pada Antioksidan Hepatik

Dosis	Hewan Uji	Penginduksi	Kontrol Positif	Hasil	Referensi
Ekstrak 100 mg/kg BB	Mencit	Asetaminofen 250 mg/kg BB	-	Peningkatan SOD, GPx, CAT, dan ALA-D, serta penurunan TBARS yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (asetaminofen)	(Olaleye and Rocha, 2008)
Ekstrak 250 mg/kg BB	Tikus	Kadmium klorida (CdCl ₂) 4 mg/kg BB	-	Penurunan MDA, peningkatan GSH, CAT, dan SOD yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (CdCl ₂)	(Al-kubaisy, Al-groom and Amoush, 2016)
Ekstrak 200, 400, 600 mg/kg BB	Tikus	Karbon tetraklorida (CCl ₄) 1 mg/kg BB	-	Penurunan kadar MDA dan peningkatan GSH yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (CCl ₄)	(Hashemi, 2014)
Ekstrak dan fraksi antosianin 100 mg/kg BB	Kelinci	2, 4- dinitro fenil hidrazin (DNPH) 28 mg/kg BB	-	Penurunan kadar MDA yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (DNPH)	(Olusola, 2011)
Fraksi 100 mg/kg BB	Tikus	Thioacetamide (TAA) 100 mg/kg BB	Silymarin 50 mg/kg BB	Peningkatan SOD dan Penurunan MDA yang lebih baik daripada silymarin. Peningkatan GSH yang sebanding dengan silymarin. Parameter ini berbeda signifikan dengan kontrol negatif (TAA)	(Ezzat <i>et al.</i> , 2016)
Ekstrak 200 dan 300 mg/kg BB	Tikus	CCl ₄	-	Penurunan kadar MDA yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (CCl ₄)	(Usoh <i>et al.</i> , 2012)
Fraksi 50 dan 100 mg/kg BB	Tikus	CCl ₄ 1,25 mg/kg BB	-	Penurunan TBARS, peningkatan GSH, SOD, dan CAT yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (CCl ₄)	(Adetutu and Owoade, 2013)

Fraksi 100 dan 200 mg/kg BB	Tikus	DNPH 3 mg/kg BB	Silymarin 25 mg/kg BB	Penurunan TBARS, FRAP, dan DPPH yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (DNPH)	(Obouayeba <i>et al.</i> , 2014)
Ekstrak 200, 400, dan 600 mg/kg BB	Mencit	Asetaminofen 1000 mg/kg BB	-	Penurunan MDA, peningkatan GSH, CAT yang signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif (asetaminofen)	(Liu <i>et al.</i> , 2010)

Keterangan : MDA: *malondialdehyde*, GSH: *Glutathione*, CAT: *catalase*, SOD: *superoxide dismutase*, TBARS: *thiobarbituric reacting substances*, GPx: *glutathione peroxidase*, d-ALA-D: *d-aminolevulinic acid dehydratase*

Metabolit reaktif dari penginduksi, seperti NAPQI (dari asetaminofen) dapat bereaksi secara langsung dengan gugus -SH dari d-ALA-D menyebabkan inaktivasi enzim. Inhibisi pada enzim ini mengindikasikan penurunan kadar glutathion atau peningkatan oksidasi ALA-D (Bechara, 1996). Peningkatan pada d-ALA-D menunjukkan bahwa ekstrak bunga *H. sabdariffa* dapat melindungi enzim tersebut dari oksidasi. Glutathion di dalam hati pada proses metabolisme senyawa toksik akan mengalami penurunan, pada saat kadar glutathion berada sangat rendah di dalam hati, senyawa-senyawa toksik tersebut dapat berinteraksi dengan sel hati dan menyebabkan kerusakan (Hewawasam *et al.*, 2003). Peningkatan kadar glutathion setelah pemberian ekstrak pada penelitian-penelitian di atas mengindikasikan bahwa ekstrak bunga *H. sabdariffa* dapat mencegah terjadinya penurunan kadar glutathion dan kerusakan sel hati lebih lanjut.

Pemberian ekstrak bunga *H. sabdariffa* terlebih dahulu dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid akibat proses kerusakan sel oleh penginduksi, yang ditandai dengan penurunan MDA (malonaldehid) (Guo *et al.*,

2009). Penurunan pada TBARS, FRAP, dan DPPH berkorelasi dengan penurunan hepatotoksisitas dari penginduksi. Senyawa yang bersifat sebagai antioksidan di dalam ekstrak dapat menstabilkan radikal bebas dan mencegah terjadinya kerusakan membran sel (Obouayeba *et al.*, 2014). Superoksida dismutase, Katalase, dan glutathion peroksidase adalah enzim yang berperan penting sebagai antioksidan seluler dalam mendegradasi oksigen reaktif dan hidrogen peroksida endogen (Sharma *et al.*, 2012). Enzim ini mengalami penurunan yang signifikan setelah pemberian penginduksi. Pemberian ekstrak menunjukkan efektivitas sebagai antioksidan dengan meningkatkan enzim-enzim tersebut.

STUDI TOKSISITAS

Toksisitas adalah segala hal yang memiliki efek berbahaya dari zat kimia atau obat pada organisme target. Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data tersebut digunakan sebagai informasi mengenai dosis sediaan uji yang aman digunakan dalam terapi. Pengujian

toksistas terhadap hewan uji dilakukan sebagai representatif berbagai reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji yang digunakan (Kepala BPOM RI, 2014).

Serangkaian uji toksistas yang dilakukan terhadap hewan uji meliputi uji toksistas akut oral, toksistas subkronis oral, toksistas kronis oral, teratogenesis,

sensitisasi kulit, iritasi mata, iritasi akut dermal, iritasi mukosa vagina, toksistas akut dermal, dan toksistas subkronis dermal (Kepala BPOM RI, 2014). Hasil pengujian toksistas akut oral, toksistas subkronis oral, dan toksistas kronis oral pada penggunaan ekstrak *H. sabdariffa*, dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Studi Toksistas

Toksistas	Dosis Ekstrak	Hewan Uji	Lama Pemberian	Hasil	Referensi
Akut	Ekstrak air dan etanol 15 g/kg BB	Mencit jantan	7 hari	Tidak terdapat kematian	(Reanmongkol and Itharat, 2007)
	Ekstrak air, air : etanol (1:1) dan etanol 2000 mg/kg BB	Tikus jantan	8 hari	Kematian dengan penurunan berat badan dan diare pada semua hewan uji	(Fakeye <i>et al.</i> , 2009)
	Ekstrak air 5000 mg/kg BB	Tikus jantan dan betina	14 hari	Tidak terdapat kematian, perubahan berat badan dan organ, serta perlakuan hewan uji	(Sireeratawong <i>et al.</i> , 2013)
Sub kronis	Ekstrak air 1.15, 2.30, and 4.60 g/kg	Tikus jantan	60 hari	Toksistas testikular	(Orisakwe, Husaini and Afonne, 2004)
	Ekstrak air : etanol (1:1) 300 mg/kg BB	Tikus jantan	40 hari	Kematian pada seluruh hewan uji, peningkatan kadar AST dan kreatinin, tidak terjadi perubahan histologi organ.	(Fakeye <i>et al.</i> , 2009)
	Ekstrak air 300 mg/kg BB	Tikus jantan	60 hari	Kematian pada 80% hewan uji, peningkatan kadar AST dan kreatinin, tidak terjadi perubahan histologi organ.	(Fakeye <i>et al.</i> , 2009)
	Ekstrak etanol 300 mg/kg BB	Tikus jantan	90 hari	Tidak terjadi kematian, peningkatan kadar kreatinin, tidak terjadi perubahan histologi organ.	(Fakeye <i>et al.</i> , 2009)
Kronis	Ekstrak air 50,	Tikus	270 hari	Tidak terdapat kematian,	(Sireeratawong

100, dan 200 jantan mg/kg BB dan betina	perubahan berat badan, <i>et al.</i> , 2013) histologi organ, hematologi, kimia klinik darah, serta perlakuan hewan uji
---	--

METODE PREPARASI *H. sabdariffa*

Perbedaan metode preparasi, penginduksi dan penggunaan ekstrak pada hewan uji dapat dilihat pada tabel 5. Penggunaan pelarut dan proses ekstraksi yang dilakukan berpengaruh dalam penarikan senyawa aktif yang terdapat pada *H. sabdariffa*. Beberapa metode juga menggunakan proses fraksinasi untuk

memisahkan senyawa aktif pada sampel, sehingga yang digunakan pada pengujian aktivitas *in vivo* adalah ekstrak *H. sabdariffa* dan hasil fraksinasinya. Untuk pengujian toksisitas, metode preparasi dan lokasi pengambilan sampel sangat berpengaruh terhadap kandungan senyawa aktif dan sifat toksik dari *H. sabdariffa* seperti terlihat pada tabel 6.

Tabel 5. Metode Preparasi dan Penggunaan *H. sabdariffa* pada Pengujian Aktivitas *In Vivo*

Metode Preparasi Ekstrak	Metode Penggunaan Ekstrak terhadap hewan Uji	Referensi
500 gram bunga kering diserbukkan dan direbus dengan 300 ml air selama 1 jam. Kemudian dikeringkan dengan <i>freeze-drying</i>	Hewan uji diinduksi dengan asetaminofen 250 mg/kg BB, 3 jam kemudian diberikan ekstrak 100 mg/kg BB. Ekstrak kembali diberikan sekali sehari selama 7 hari. Kemudian hewan uji dianastesi, diambil darah dan dikorbankan setelah 24 jam perlakuan terakhir.	(Olaleye and Rocha, 2008)
100 gram bunga kering direndam dengan air 500 ml selama 24 jam pada 40 °C. Kemudian ekstrak disaring dan dikeringkan pada suhu 40 °C.	Hewan uji diberi ekstrak 250 mg/kg BB selama 7 hari. Kemudian diberikan injeksi CdCl ₂ 4 mg/kg BB dalam larutan salin secara subkutan setelah 12 jam pemberian ekstrak terakhir. Kemudian hewan uji dianastesi dan dikorbankan untuk diambil hatinya.	(Al-kubaisy, Al-groom and Amoush, 2016)
100 gram serbuk bunga kering diekstraksi dengan 300 ml etanol selama 3 jam pada 50 °C. Kemudian ekstrak cair disaring dan dievaporator pada 37 °C, residu dilarutkan dengan 250 ml air, diaduk selama 3 jam pada 40°C, supernatannya	Hewan uji diberikan ekstrak 200, 400, dan 600 mg/kg BB selama 2 minggu, kemudian diinjeksikan dengan CCl ₄ 1 ml/kg BB dalam parafin cair (1:1 v/v) setiap 72 jam selama 2 minggu. Hewan uji dibius dengan etil eter untuk mengambil sampel darah dari retro	(Hashemi, 2014)

disaring dan diliofilisasi.	orbital plexu setelah 48 jam perlakuan terakhir. Hewan uji kemudian dikorbankan dan diambil hatinya untuk pengujian histopatologi dan antioksidan hepatic.	(Olusola, 2011)
1 kg serbuk bunga kering diekstraksi dengan 10 liter 0,1% <i>trifluoroacetic acid</i> (TFA) selama 12 jam pada 20 °C dengan pengadukan. Kemudian disaring dan dikeringkan untuk mendapatkan ekstrak sampel. Sebagian ekstrak dimasukkan ke dalam kolom dicuci dengan 3 liter air, dielusi dengan 50% larutan etanol yang mengandung 0,1% TFA, kemudian dikeringkan untuk mendapatkan fraksi antosianin.	Ekstrak bunga dan fraksi antosianin masing-masing 100 mg/kg BB diberikan kepada hewan uji selama 23 hari. Kemudian diinjeksi dengan 2,4 DNPH 28 mg/kg BB selama 5 hari (dimulai dari hari ke-24 sampai ke-28). Darah diambil dari vena bagian telinga hewan uji dan hewan uji dianastesi lalu dikorbankan untuk diambil hati dan otaknya.	(Olusola, 2011)
1 kg serbuk bunga kering diekstraksi dengan 10 liter 0,1% <i>trifluoroacetic acid</i> (TFA) selama 12 jam pada 20 °C dengan pengadukan. Kemudian disaring dan dikeringkan untuk mendapatkan ekstrak sampel. Sebagian ekstrak dimasukkan ke dalam kolom dicuci dengan 3 liter air, dielusi dengan 50% larutan etanol yang mengandung 0,1% TFA, kemudian dikeringkan untuk mendapatkan fraksi antosianin.	Hewan uji diinduksi dengan injeksi intraperitoneal TAA 100 mg/kg BB sekali seminggu selama sebulan. Kemudian hewan uji diberikan ekstrak 100 mg/kg BB sebagai kelompok uji dan 50 mg/kg silymarin sebagai kontrol positif. Setelah 24 jam perlakuan terakhir, sampel darah diambil bersamaan dengan hewan uji dikorbankan untuk mengambil hatinya.	(Ezzat et al., 2016)
Bunga kering diekstraksi dengan metode sokletasi menggunakan etanol 80%, kemudian diliofilisasi.	Hewan uji diberikan ekstrak 200 dan 300 mg/kg BB selama 7 hari dan diinduksi dengan 0,25 mg/kg BB CCl ₄ dalam parafin cair (1:1) secara intraperitoneal pada hari ke-7. Kemudian darah hewan uji diambil.	(Usoh et al., 2012)
100 gram serbuk bunga kering diekstraksi dengan 300 ml etanol selama 3 jam pada 50 °C. Kemudian ekstrak cair disaring dan dievaporator pada 37 °C, residu dilarutkan dengan 100 ml air dan diekstraksi dengan 200 ml heksan untuk menghilangkan pigmen (seperti klorofil dan kareteniod). Fase air diekstraksi sebanyak 3 kali dengan 180 ml etil asetat,	Hewan uji diberikan ekstrak 50 dan 100 mg/kg BB selama 7 hari kemudian diinduksi dengan 1,25 mg/kg BB CCl ₄ dalam <i>olive oil</i> (1:1) intraperitoneal pada hari ke-7. Setelah 24 jam, hewan uji dianastesi dan dikorbankan untuk diambil darah dan hatinya.	(Adetutu and Owoade, 2013)

dan dievaporasi pada 37 ⁰ C.		
100 gram bunga kering diekstraksi dengan 200 ml metanol asam dengan TFA 0,1% selama 24 jam pada 4 ⁰ C. Kemudian dievaporator pada 38 ⁰ C untuk mendapatkan ekstrak kering. Ekstrak dilarutkan dalam 200 ml air dan disaring untuk menghilangkan glukosa dan pigmen klorofil dan ditambahkan 100 ml metanol, lalu dievaporasi pada 38 ⁰ C. Ekstrak kering dilarutkan dalam 100 ml air, kemudian diliofilisasi dengan <i>freeze dryer</i> .	Hewan uji diberikan ekstrak 100 dan 200 mg/kg BB sebagai sediaan uji, dan 25 mg/kg BB silymarin sebagai kontrol positif masing-masing selama 7 hari. Satu jam setelah perlakuan hari ke-7, DNPH 3 mg/kg BB diinjeksikan secara intraperitoneal dalam NaCl 0,9%. Kemudian diambil darah dan hati hewan uji.	(Obouayeba <i>et al.</i> , 2014)
150 gram bunga kering dimaserasi dengan 6 liter air panas (95 ⁰ C) selama 2 jam dan dievaporasi pada vakum -85 ⁰ C. Kemudian ekstrak cair disaring dan diliofilisasi.	Hewan uji diberikan ekstrak 200, 400, dan 600 mg/kg BB sekali sehari selama 2 minggu. Kemudian diinjeksikan asetaminofen 1000 mg/kg BB secara intraperitoneal dalam dimetil sulfoksida. Setelah 6 jam, hewan uji dikorbankan untuk diambil darah dan hatinya.	(Liu <i>et al.</i> , 2010)

Tabel 6. Metode Preparasi dan Variasi *H. sabdariffa* pada Pengujian Toksisitas

Metode Preparasi	Asal Negara	Referensi
Serbuk bunga kering diekstraksi dengan air (1:10 b/v) menggunakan metode refluks selama 2 jam, kemudian dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kering	Abuja, Nigeria	(Orisakwe, Husaini and Afonne, 2004)
Bunga kering diekstrak dengan air panas (70 ⁰ C), dan etanol kemudian ekstrak dievaporator menggunakan untuk mendapatkan ekstrak kering	Distrik Khounmeet, Provinsi Songkhla, Thailand	(Reanmongkol and Itharat, 2007)
100 gram bunga kering diinfus selama 4 jam dengan pelarut air, air:etanol (1:1), dan etanol masing-masing sebanyak 1 L. Kemudian bunga kering kembali diekstraksi dengan pelarut yang sama. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak kering	Ibadan, Nigeria	(Fakeye <i>et al.</i> , 2009)
Bunga kering diekstrak dengan air panas (70 ⁰ C), kemudian ekstrak dievaporator menggunakan vacuum drying (40 ⁰ C)	Distrik Khounmeet, Provinsi Songkhla, Thailand	(Sireeratawong <i>et al.</i> , 2013)

PEMBAHASAN

Mekanisme kerja *H. sabdariffa* sebagai hepatoprotektor didasarkan pada aktivitasnya sebagai antioksidan, menghambat enzim sitokrom P450, menekan ekspresi protein proapoptosis dan meningkatkan persentase viabilitas sel hati. Penginduksi kerusakan hati, seperti asetaminofen, CCl₄, TAA, DNPH, dan kadmium setelah masuk ke dalam tubuh dan dimetabolisme di hati akan membentuk radikal bebas yang dapat merusak sel hati. Dengan adanya ekstrak *H. sabdariffa*, maka radikal bebas tersebut distabilkan oleh efek antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari penurunan berbagai indikator kerusakan hati, seperti enzim AST, ALT, ALP, LDH, TC, TG, LDL-C, VLDL-C, MDA, T-BIL, dan D-BIL, disertai dengan peningkatan kadar HDL-C, SOD, GPx, GSH, CAT, dan d-ALA-D.

Pada *review* ini digunakan berbagai metode ekstraksi terhadap *H. sabdariffa* yang diujikan dengan variasi dosis dan hewan uji. Pada metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, dosis minimum yang dapat memberikan efek sebagai hepatoprotektor adalah 100 mg/kg BB mencit. Sedangkan dengan menggunakan pelarut etanol, dosisnya adalah 200 mg/kg BB tikus. Senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan pada *H. sabdariffa* adalah antosianin yang berwarna merah, dengan dosis 50 mg/kg BB tikus.

Pada pengujian toksisitas akut, ekstrak air dan etanol *H. sabdariffa* relatif aman dengan dosis 15 g/kg BB tidak menyebabkan kematian pada mencit (Reanmongkol and Itharat, 2007). Akan tetapi, hal ini berbeda dengan penelitian (Fakeye *et al.*, 2009) yang

menyatakan bahwa ekstrak air, air : etanol (1:1), dan etanol pada dosis 2000 mg/kg BB dapat menyebabkan kematian dengan penurunan berat badan dan diare pada tikus. Pengujian toksisitas subkronis menunjukkan bahwa ekstrak air *H. sabdariffa* menyebabkan toksisitas testikular dengan dosis 1,15 g/kg BB tikus yang diberikan selama 60 hari. Sedangkan pada penelitian lain menunjukkan adanya kematian pada hewan uji dengan pemberian ekstrak air : etanol (1:1) dan ekstrak air dosis 300 mg/kg BB tikus selama 40 dan 60 hari. Untuk pengujian toksisitas kronis selama 270 hari dengan ekstrak air dosis 50, 100, dan 200 mg/kg BB tikus tidak menunjukkan adanya kematian dan perubahan terhadap parameter lainnya. Sehingga ekstrak *H. sabdariffa* lebih aman dikonsumsi dengan dosis di bawah 300 mg/kg BB dengan menggunakan pelarut air atau etanol.

Perbedaan hasil pada setiap pengujian toksisitas (tabel 6) dapat dikarenakan 2 faktor, yakni metode ekstraksi (pelarut dan metode administrasi) dan varietas dari *H. sabdariffa* yang digunakan berdasarkan tempat pengambilannya. Hal ini mengakibatkan perbedaan kadar antosianin pada tiap sampel yang berakibat pada perbedaan efek toksik yang dihasilkan. Kadar maksimum antosianin terdapat pada ekstrak hidroalkohol, kemudian ekstrak air dan ekstrak etanol (Fakeye *et al.*, 2009).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Farmasi Universitas

Padjadjaran yang telah memfasilitasi dalam pembuatan *review* ini. Terima kasih juga kepada Prof. Dr. Anas Subarnas, M.Si., Apt. yang telah membantu dalam proses pembuatan *review* ini sehingga dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adetutu, A. and Owoade, A. O. (2013) 'Hepatoprotective and Antioxidant Effect of Hibiscus Polyphenol Rich Extract (HPE) Against Carbon Tetrachloride (CCl₄) – Induced Damage in Rats', *British Journal of Medicine & Medical Research*, 3(4), pp. 1574–1586.
- Al-kubaisy, K. N., Al-groom, R. M. and Amoush, A. A.- (2016) 'Changes in the Oxidative Stress Biomarkers in Rat Liver Tissue Exposed to Cadmium and Protect with Hibiscus sabdariffa L. (Roselle) Flower Extract', 5(8), pp. 818–824.
- Bechara, E. J. H. (1996) 'Oxidative Stress in Acute Intermittent Porphyria and Lead Poisoning may be Triggered by 5-Aminolevulinic Acid', *Brazil J Med Biol Res*, 29, p. 841.
- Brent, J. A. and Rumack, B. H. (1993) 'Role of Free Radicals in Toxic Hepatic Injury II', *Clin Toxicol*, 31, pp. 173–196.
- Douhri, B., Idaomar, M., Senhaji, N. S., Ennabili, A. and Abrini, J. (2014) 'Hepatoprotective Effect of Origanum elongatum Against carbon Tetrachloride (CCl₄) Induced Toxicity in Rats', *Eur J Med Plants*, 4, pp. 14–28.
- Drent, M., Cobben, N. a M., Henderson, R. F., Wouters, E. F. M. and Van Dieijen-Visser, M. (1996) 'Usefulness of lactate Dehydrogenase and Its Isoenzymes as Indicators of Lung Damage or Inflammation', *European Respiratory Journal*, 9(8), pp. 1736–1742. doi: 10.1183/09031936.96.09081736.
- Ezzat, S. M., Salama, M. M., El-Din, S. H. S., Saleh, S., El-Lakkany, N. M., Hammam, O. A., Salem, M. B. and Botros, S. S. (2016) 'Metabolic Profile and Hepatoprotective Activity of the Anthocyanin-Rich Extract of Hibiscus sabdariffa Calyces', *Pharmaceutical Biology*, 0209(September), pp. 1–10. doi: 10.1080/13880209.2016.1214739.
- Fakeye, T. O., Pal, A., Bawankule, D. U., Yadav, N. P. and Khanuja, S. P. S. (2009) 'Toxic Effects of Oral Administration of Extracts of Dried Calyx of Hibiscus sabdariffa Linn. (Malvaceae)', *Phytotherapy Research*, 23(2009), pp. 412–416. doi: 10.1002/ptr.
- Guo, H., Sun, J., He, H., Yu, G. C. and Du, J. (2009) 'Antihepatotoxic Effect of corn Peptides Against Bacillus Calmetteguerin/ Lipopolysaccharide-Induced Liver Injury in Mice', *Food Chem.Toxicol*, 47, pp. 2431–2435.
- Hashemi, J. M. (2014) 'Hibiscus Sabdariffa Calyx Extract Alleviate Hepatotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride on Male Albino Rats.', 12(6), pp. 111–120.
- Hewawasam, R. P., Jayatilaka, K. A., Pathirana, C. and Mudduwa, L. K. (2003) 'Protective Effect of Asteracantha longifolia Extracts in Mouse Liver Injury Induced by CCl₄ and Paracetamol', *J. Pharm. Pharmacol*, 55(10), pp. 1413–1418.
- Johnson, S. S., Oyelola, F. T., Ari, T. and Juho, H. (2013) 'In vitro Inhibitory Activities of the Extract of Hibiscus sabdariffa L., (Family Malvaceae) on Selected Cytochrome P450 Isoforms', 10, pp. 533–540.
- Kepala BPOM RI (2014) *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*.
- Liu, L. C., Wang, C. J., Lee, C. C., Su, S. C., Chen, H. L., Hsuf, J. D. and Lee, H. J.

- (2010) 'Aqueous Extract of Hibiscus sabdariffa L. Decelerates Acetaminophen-Induced Acute Liver Damage by Reducing Cell Death and Oxidative Stress in Mouse Experimental Models', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(2), pp. 329–337. doi: 10.1002/jsfa.3821.
- Mishra, S. (2012) 'Serum and Hepatocyte Enzyme', 1(3), pp. 1–4.
- Mokdad, A. a, Lopez, A. D., Shahraz, S., Lozano, R., Mokdad, A. H., Stanaway, J., Murray, C. J. L. and Naghavi, M. (2014) 'Liver Cirrhosis Mortality in 187 Countries between 1980 and 2010: A Systematic Analysis.', *BMC medicine*, 12(1), p. 145. doi: 10.1186/s12916-014-0145-y.
- Obouayeba, A., Boyvin, L., MBoh, G., Diabat, S., Kouakou, T., Djaman, A. and NGuessan, J. (2014) 'Hepatoprotective and Antioxidant Activities of Hibiscus sabdariffa Petal Extracts in Wistar Rats', *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 3(5), p. 774. doi: 10.5455/2319-2003.ijbcp20141034.
- Olaleye, M. T. and Rocha, B. T. J. (2008) 'Acetaminophen-Induced Liver Damage in Mice: Effects of Some Medicinal Plants on the Oxidative Defense System', *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59(5), pp. 319–327. doi: 10.1016/j.etp.2007.10.003.
- Olusola, A. O. (2011) 'Evaluation of the Antioxidant Effects of Hibiscus Sabdariffa Calyx Extracts on 2, 4-Dinitrophenylhydrazine-Induced Oxidative Damage in Rabbits', *WebmedCentral BIOCHEMISTRY*, pp. 1–11. Available at: http://www.webmedcentral.com/article_view/2283.
- Orisakwe, O. E., Husaini, D. C. and Afonne, O. J. (2004) 'Testicular Effects of Sub-Chronic Administration of Hibiscus sabdariffa Calyx Aqueous Extract in Rats', *Reproductive Toxicology*, 18(2), pp. 295–298. doi: 10.1016/j.reprotox.2003.11.001.
- Pooja, C. O. and Priscilla, D. M. (2009) 'Antioxidant and Hyperlipidemic Activity of Hibiscus sabdariffa Leaves and Calyces Extracts in Rats', *Indian J. of Exp. Biol.*, 47(3), pp. 276–282.
- Reanmongkol, W. and Itharat, A. (2007) 'Antipyretic Activity of the Extracts of Hibiscus sabdariffa L. Calyces in Experimental Animals', *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 29(SUPPL. 1), pp. 29–38.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. and Pesarakli, M. (2012) 'Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions', *Journal of Botany*, 2012, pp. 1–26. doi: 10.1155/2012/217037.
- Sireeratawong, S., Itharat, A., Khonsung, P., Lertprasertsuke, N. and Jaijoy, K. (2013) 'Toxicity Studies of the Water Extract from the Calyces of Hibiscus sabdariffa L. in Rats', *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 10(4), pp. 122–127.
- Tseng, T., Kao, E., Chu, C., Chou, F., Wu, H. L. and Wang, C. (1997) 'Protective Effects of Dried Flower Extracts of Hibiscus sabdariffa L. Against Oxidative Stress in Rat Primary Hepatocytes', *Food Chem Toxicol*, 35, pp. 1159–1164.
- Usoh, I. F., Ekaidem, I. S., Etim, O. E., Akpan, H. D., Akpan, E. J. and Fakoya, A. (2012) 'Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Dried Flower Extracts of Hibiscus sabdariffa L. on Rats Treated with Carbon Tetrachloride', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(8), pp. 156–159. doi: 10.7324/JAPS.2012.2832.
- Wahyuningsih, S. and Sutjiatmo, A. B. (2015) 'Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Air Akar Kuning (Fibraurea tinctoria

Lour) Pada Tikus Putih Betina Galur Wistar', *Aristoteles*, 4(1).

Yang, L., Gou, Y., Zhao, T., Zhao, J., Li, F., Zhang, B. and Wu, X. (2012) 'Antioxidant Capacity of Extracts from calyx Fruits of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)', *African Journal of Biotechnology*, 11(17), pp. 4063–4068. doi: 10.5897/AJB11.2227.