

Pengaruh Seduhan Teh *Hibiscus sabdariffa* L terhadap Kadar Albumin pada *Rattus norvegicus* yang Diinduksi CCl_4

The Effect of Hibiscus sabdariffa L Tea Steeping to Albumin Serum on Rattus norvegicus which is Induced by CCl_4

Anggi Apriansyah Purwanto¹, Ratna Indriawati^{2*}

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

*Email: r_indriawatiwibowo@yahoo.com

Abstrak

Senyawa yang terkandung dalam Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) antara lain asam *hibiscus ptotocathecuric* (fenol) dan antosianin yang memiliki efek protektif terhadap *hidroperoksida butil tart* yang menginduksi hepatotoksik pada tikus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian seduhan teh *H. sabdariffa* L khususnya terhadap kadar albumin. Subyek penelitian yaitu 20 ekor tikus. Sampel dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberikan 4 ml seduhan teh *H. sabdariffa* L yang dibuat dari 2 gram (kelompok A), 4 gram (kelompok B), dan 8 gram (kelompok C) dalam 75 ml air bersuhu 80⁰, sedangkan kelompok D (kontrol) diberi aquades. Lama perlakuan 14 hari. Hari ke-15 subyek diberi pajanan CCl_4 . Kadar albumin diperiksa 2 kali, sebelum perlakuan dan setelah induksi CCl_4 dengan metode enzimatik kolorimetrik. Kadar albumin sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis menggunakan *Paired-t-test*. Kadar albumin dianalisis menggunakan uji Anova dan dilanjutkan uji *Post Hoc*. Hasil *Paired-t-test* menunjukkan perbedaan kadar rata-rata albumin yang bermakna ($p < 0,05$) sebelum perlakuan dan setelah induksi CCl_4 pada kelompok A, B, C, sedangkan kelompok D menunjukkan peningkatan yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Uji *oneway ANOVA* menunjukan terdapat peningkatan kadar albumin yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok. Hasil analisis *post hoc* menunjukkan terdapat peningkatan kadar albumin yang bermakna antar kelompok ($p < 0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian seduhan teh *H. sabdariffa* L sebanyak 2, 4 dan 8 gram/hari selama 14 hari dapat meningkatkan kadar albumin pada *Rattus norvegicus* yang telah diinduksi CCl_4 .

Kata kunci: Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L), Albumin, *Rattus norvegicus*, CCl_4

Abstract

Compounds that contained in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) are *Hibiscus ptotocathecuric acid* (phenol) and anthocyanins which have a protective effect against *tart butyl hydroperoxide* induced hepatotoxic in rats. This study aims to determine the effect of *H. sabdariffa* L *Hibiscus sabdariffa* L tea steeping to albumin serum on *rattus norvegicus* which is induced by CCl_4 . Twenty rats used as subject. Samples divided into 4 groups (1 control and 3 treatment groups). Treatment group were given 4 ml of *H. sabdariffa* L tea steeping made from 2 grams (Group A), 4 grams (group B), and 8 grams (group C) in 75 ml of with temperature 80⁰ C. The group D (control) were given aquades. Length of treatment 14 days. *Rattus norvegicus* given CCl_4 exposure on 15th day. Albumin examination carried out 2 times, before treatment and after CCl_4 exposure with enzymatic colorimetric method. Albumin, bilirubin, ALP levels before and after treatment were analyzed using *Paired-t-test*. Albumin levels were analyzed using ANOVA followed by *Post hoc* test. The result of *Paired-t-test* showed a significant difference of albumin levels before

treatment and after CCl_4 exposure in group A, B, C ($p < 0,05$), while in group D showed not significant increase ($p > 0,05$). Oneway ANOVA result showed a significant difference of albumin levels increase between group ($p < 0,05$). Post hoc test results showed that albumin levels in all group were significantly different ($p < 0,05$). It was concluded that giving *H. sabdariffa* L in 2, 4 and 8 gram/day in 14 days can increase albumin levels in *rattus norvegicus* which is induced by CCl_4 .

Key words: *Rosella (Hibiscus sabdariffa L)*, Albumin, *Rattus norvegicus*, CCl_4

PENDAHULUAN

Hepar adalah organ metabolik terbesar dan terpenting di tubuh.¹ Selain merupakan organ parenkim yang paling besar, hepar juga menduduki urutan pertama dalam hal jumlah, kerumitan, dan ragam fungsi. Hepar sangat penting untuk mempertahankan hidup dan berperan dalam hampir setiap fungsi metabolik tubuh dan terutama bertanggung jawab atas lebih dari 500 aktivitas berbeda. Hepar memiliki kapasitas cadangan yang besar, dan hanya membutuhkan 10-20% jaringan yang berfungsi untuk tetap bertahan.²

Hepar memiliki peranan penting dalam fungsi fisiologis tubuh. Metabolisme karbohidrat, protein, lipid, biotransformasi senyawa endogen maupun eksogen terjadi di hepar. Demikian pula proses detoksifikasi obat atau senyawa beracun lainnya dilakukan oleh hepar.³

Banyak diantara obat yang bersifat larut dalam lemak dan tidak mudah diekskresi oleh ginjal. Untuk itu sistem enzim pada mikrosom hepar akan melakukan biotransformasi sedemikian rupa sehingga terbentuk metabolit yang lebih mudah larut dalam air dan dapat dikeluarkan melalui urin atau empedu. Tidak mengherankan bila hepar mempunyai kemungkinan yang cukup besar pula untuk dirusak oleh obat. Hepatitis karena obat pada umumnya tidak menimbulkan kerusakan permanen, tetapi kadang-kadang dapat berlangsung lama dan fatal.

Hepar merupakan pusat metabolisme seluruh tubuh, merupakan sumber energi tubuh sebanyak 20% serta menggunakan 20–25% oksigen darah. Salah satu fungsi hepar yang penting ialah sebagai metabolisme protein salah satunya adalah albumin. Albumin adalah protein penting dalam darah. Protein ini mengatur keseimbangan air dalam sel, memberi gizi pada sel, serta mengeluarkan produk buangan. Kadar albumin yang rendah biasanya menunjukkan masalah gizi. Oleh karena albumin mengangkut begitu banyak zat dalam darah, kadar albumin yang rendah dapat mempengaruhi hasil tes laboratorium yang lain.^{4,5}

Adanya perubahan kadar enzim-enzim hati seperti SGOT, SGPT, MDA, ALP dan produk hati lainnya seperti bilirubin, albumin dan globulin merupakan indikator kerusakan hati.⁶ Kerusakan hepar dapat diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl_4). Dampak racun karbon tetraklorida pada sel hepar terjadi akibat meningkatnya kadar peroksidasi lipid disebabkan oleh adanya reaksi antara radikal hasil aktivasi CCl_4 dengan asam lemak tak jenuh yang banyak terdapat pada membran sel.⁷

Hibiscus sabdariffa L (famili *Malvaceae*) banyak tumbuh di daerah tropis. *H. sabdariffa* L digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai diuretik, antihipertensi, dan mukolitik. Disamping itu juga dapat digunakan untuk mengurangi kepekatan/kekentalan darah, membantu proses pencerna-

an, mencegah peradangan pada saluran kencing. *H. sabdariffa* L mengandung komponen kimia antara lain adalah asam sitrat, asam organik, asam laktat hidroxycitric, protocatechuic acid (PCA), derivat flavonoid (gossypetin-3-glucoside, gossypetin-8-glucoside) anthocyanins (hibiscetin, delphinidin, dan sabdaretin).^{8,9}

Beberapa penelitian terkait memperlihatkan bahwa adanya kadar asam hibiscus protocatechuic dan antosianin yang terkandung didalam *H. sabdariffa* L memiliki efek protektif terhadap hidropersida butil tart yang menginduksi hepatotoksik pada tikus.¹⁰

Menurut penelitian Hirunpanich *et al.* (2005) dosis *H. sabdariffa* L yang mulai efektif adalah 500 mg/kgbb, sedangkan pada penelitian Farombi *et al.* (2007) menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kgbb telah efektif.^{11,12} Selain itu, selama ini penelitian yang ada menggunakan ekstrak *H. sabdariffa* L, sedangkan konsumsi *H. sabdariffa* L di masyarakat dalam bentuk seduhan dan rebusan.

Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan studi lebih lanjut tentang efek seduhan *H. sabdariffa* L yang efektif untuk meningkatkan kadar albumin dan untuk lebih memahami dan membuktikan efek hepatoprotektif *H. sabdariffa* L.

BAHAN DAN CARA

Subjek penelitian ini adalah tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* jantan berumur 3 bulan dengan berat 150-275 gram sebanyak 20 ekor. Sampel dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor *Rattus norvegicus* jantan sehat.

Bahan ujinya adalah Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dengan jenis sediaan seduhan. Seduhan Rosella dibuat untuk 3 perlakuan dengan dosis yang digunakan yaitu 4 ml seduhan teh Rosella yang dibuat dari 2 gram, 4 gram, dan 8 gram Rosella kering yang diseduh dalam 75 ml air bersuhu 80° C diberikan secara oral pada masing-masing kelompok sampel.

Sebelum dilakukan penelitian, tikus di aklimatisasi selama 3 hari. Selama aklimatisasi tikus hanya diberi air putih dan pelet. Penimbangan berat badan tikus dilakukan pada saat dipuasakan pada hari terakhir aklimatisasi

Pemeriksaan kadar albumin pertama kali sebelum perlakuan. Sebelum diambil darahnya *Rattus norvegicus* dipuasakan terlebih dulu selama 8-10 jam. Setelah itu diberi perlakuan selama 14 hari sesuai dengan kelompoknya masing-masing. Hari ke-15 setelah perlakuan semua konsumsi Rosella berakhir. Hewan uji diberi pajanan CCl₄ pada hari ke-15. Pemeriksaan albumin untuk kedua kalinya yaitu pemeriksaan setelah diinduksi CCl₄, sebelum diambil darahnya *Rattus norvegicus* dipuasakan selama 8-12 jam terlebih dahulu.

HASIL

Sebelum dilakukan penelitian, tikus di aklimatisasi selama 3 hari. Selama aklimatisasi tikus hanya diberi air putih dan pelet. Penimbangan berat badan tikus dilakukan pada saat dipuasakan pada hari terakhir aklimatisasi. Hasil dari "test of Normality" uji "explore" menunjukkan bahwa data rerata berat badan dari keempat kelompok sampel terdistribusi normal ($p > 0,05$).

Masing-masing *Rattus norvegicus* diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya masing-

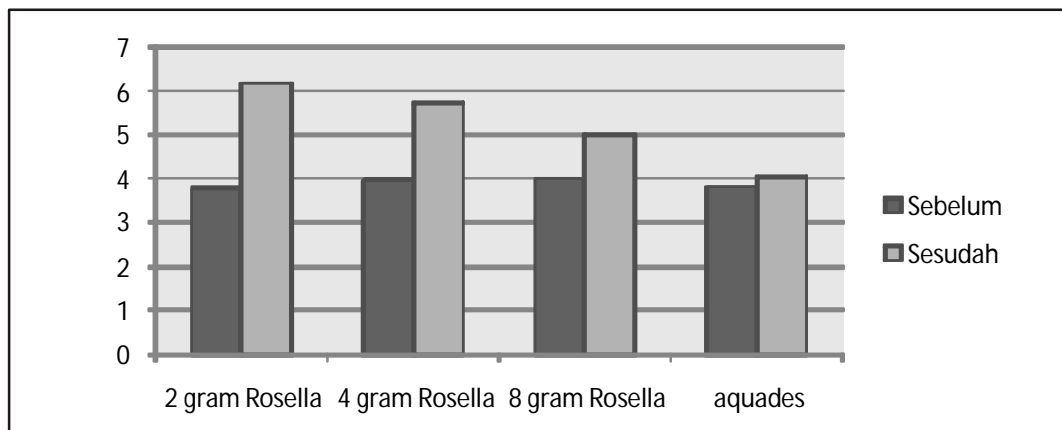
masing selama 14 hari. Kelompok A, B, dan C adalah kelompok perlakuan dan kelompok D adalah kelompok kontrol. Kelompok perlakuan diberikan seduhan teh Rosella masing-masing dengan dosis yang akan digunakan oleh peneliti yaitu 4 ml seduhan teh Rosella yang dibuat dari 2 gram, 4 gram dan 8 gram Rosella kering yang diseduh dalam 75 ml air bersuhu 80°. Pada kelompok kontrol hanya diberikan aquades sebanyak 4 ml sehari. Hari ke 15 setelah perlakuan, semua konsumsi Rosella berakhir. Hewan uji diberi pajanan CCl₄ pada hari ke-15. Setelah 24 jam induksi CCl₄ semua kelompok hewan uji diambil darahnya untuk diperiksa kadar albumin untuk yang terakhir kalinya. Gambar 1. menunjukkan perbandingan kadar albumin sebelum perlakuan dengan kadar albumin setelah diberi perlakuan.

Hasil pengukuran kadar albumin *Rattus norvegicus* terdapat peningkatan yang nyata antara kadar albumin sebelum dan sesudah perlakuan pada keempat kelompok. Kelompok A yang diberi seduhan teh Rosella dengan dosis 2 gram menunjukkan peningkatan kadar albumin dari rata-rata 3,77 ± 0,08 mg/dl menjadi 6,19 ± 0,09 mg/dl. Kelompok B yang diberi seduhan teh Rosella dengan dosis 4

gram menunjukkan peningkatan kadar albumin dari rata-rata 3,96 ± 0,13 mg/dl menjadi 5,73 ± 0,06 mg/dl. Kelompok C yang diberi seduhan teh Rosella dengan dosis 8 gram menunjukkan peningkatan kadar albumin dari rata-rata 4,00 ± 0,17 mg/dl menjadi 4,99 ± 0,06 mg/dl. Sedangkan pada kelompok D yang diberi aquades menunjukkan peningkatan kadar albumin dari rata-rata 3,82 ± 0,44 mg/dl menjadi 4,05 ± 0,16 mg/dl.

Hasil uji *paired t test* dilakukan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan kadar albumin sebelum perlakuan dan sesudah induksi CCl₄ intra kelompok. Hasilnya menunjukkan bahwa peningkatan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) antara kadar albumin sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok A, B, C. Sedangkan pada kelompok D menunjukkan adanya peningkatan yang tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$) antara kadar albumin sebelum perlakuan dan setelah diinduksi CCl₄.

Tabel 2. menunjukkan selisih untuk mempermudah mengetahui besarnya peningkatan rerata kadar albumin sebelum perlakuan dan sesudah induksi CCl₄ yang menunjukkan selisih paling besar ditunjukkan pada kelompok A yang diberi seduhan teh Rosella 2 gram yaitu 2,42 ± 1,71. Sedangkan



Gambar 1. Grafik Kadar Albumin Sebelum Perlakuan dan Sesudah Induksi CCl₄ pada Masing-masing Kelompok Sampel

Tabel 2. Rerata Selisih Kadar Albumin Sebelum Perlakuan dan Sesudah Induksi CCl₄ pada Masing-masing Kelompok Sampel

Kelompok	Selisih
2 gram Rosella	2,42 ± 0,08
4 gram Rosella	1,77 ± 0,14
8 gram Rosella	0,99 ± 0,21
aquades	0,23 ± 0,34

selisih paling kecil ditunjukkan pada kelompok D yang diberi aquades yaitu $0,23 \pm 0,16$.

Hasil pengukuran kadar albumin antara sebelum perlakuan dan setelah diinduksi CCl₄ dianalisis dengan menggunakan *oneway* ANOVA. Hal ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara kadar albumin total sebelum perlakuan dan setelah diinduksi CCl₄ diantara kelompok A, B, C & D. Uji *oneway* ANOVA menghasilkan nilai yang menunjukkan adanya peningkatan kadar albumin total sebelum dan setelah diinduksi CCl₄ yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$) pada antar kelompok penelitian.

Uji *post hoc* antar kelompok untuk mengetahui diantara keempat kelompok, mana saja kelompok yang berbeda dan mana saja yang tidak berbeda, maka dilakukan. Hasil uji analisis *post hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan peningkatan kadar albumin yang bermakna secara statistik pada semua kelompok A, B, C dan D ($p < 0,05$).

DISKUSI

Pengambilan albumin dilakukan sebelum perlakuan dan sesudah induksi CCl₄. Kadar albumin ditetapkan dengan metode *colorimetric test*, "*bromo cresol green*". Pada kelompok perlakuan memang terlihat selisih yang bermakna secara statistik. Tapi jika kita lihat besarnya selisih yang didapat pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol terjadi perbedaan yang sangat mencolok. Selisih kelompok perlakuan lebih besar dari pada kelompok kon-

trol. Hal ini terjadi karena pada kelompok perlakuan diberikan seduhan teh Rosella disamping makanan dan minuman seperti yang diberikan pada kelompok kontrol sebelum diinduksi CCl₄. Hal ini menunjukkan efektifitas Rosella sebagai antioksidan yang bersifat hepatoprotektif. Penjelasan tadi sesuai dengan hipotesis yaitu seduhan teh Rosella meningkatkan kadar albumin pada *Rattus norvegicus* yang diinduksi CCl₄.

Beberapa penelitian terkait memperlihatkan bahwa adanya kadar asam hibiscus protocatecuric dan antosianin yang terkandung didalam *H. sabdariffa* L memiliki efek protektif terhadap hidroperoksida butil tart yang menginduksi hepatotoksik pada tikus,¹³ Hal ini dapat dimungkinkan bahwa *H. Sabdariffa* L memiliki antioksidan.

Hasil akhir penelitian menunjukkan bahwa selisih peningkatan albumin pada kelompok perlakuan (A, B & C) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (D). Hal ini disebabkan karena efek hepatoprotektif Rosella yang diberikan kepada kelompok perlakuan, sehingga dapat melindungi fungsi hepar salah satunya sintesis protein seperti albumin. Maka dari itu dapat meminimalisir kerusakan hepar yang terjadi karena efek hepatotoksik dari CCl₄.

Pemberian Rosella pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antioksidan yang terkandung didalamnya. Pada masing-masing kelompok yaitu A, B dan C diberikan Rosella dengan dosis yang berbeda supaya dapat dijadikan pembanding efek yang dihasilkan dari masing-masing kelompok. Sedangkan pada kelompok D disebut sebagai kelompok kontrol karena hanya diberikan aquades.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan Dahiru *et al.* (2003),¹⁴ yang meneliti tentang efek *H. sabdariffa* L terhadap kerusakan hepar yang diinduksi

CCl₄ menggunakan ekstrak *H. sabdariffa* L pada tikus albino jantan galur Wistar. Hasilnya menunjukkan bahwa pada kelompok yang diberikan ekstrak *H. sabdariffa* L, aktivitas penyembuhan luka hepar menunjukkan peningkatan apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan A (2 gram) mengalami peningkatan kadar albumin yang lebih tinggi dibandingkan kelompok B (4 gram), dan kelompok C (8 gram). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis pemberian seduhan *H. sabdariffa* L semakin tidak efektif untuk memperlihatkan efek dari seduhan *H. sabdariffa* L terhadap peningkatan kadar albumin pada *Rattus Norvegicus* yang diinduksi CCl₄.

Menurut penelitian Hirunpanich *et al.* (2005),¹¹ dosis *H. sabdariffa* L yang mulai efektif adalah 500 mg/kgbb, sedangkan pada penelitian Farombi *et al.* (2007),¹² menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kgbb telah efektif.

Ada kemungkinan lain yang membuat pemberian dosis *H. sabdariffa* L pada penelitian ini tidak efektif, yaitu efek toksik yang ditimbulkan oleh *H. sabdariffa* L itu sendiri. Hal ini didasarkan pada penelitian toksikologi yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik dari kelopak Rosella, didapatkan hasil pada tingkat dosis 15 kali pemberian ekstrak kelopak Rosella dengan dosis 250 mg/kgbb yang diberikan kepada tikus wistar dapat menyebabkan luka hati dengan memperlihatkan meningkatnya kadar serum aspartate aminotransferase dan alanine aminotransferase.¹⁵ Kemungkinan munculnya efek toksik dari *H. sabdariffa* L pada penelitian ini karena dosis sediaan *H. sabdariffa* L yang terlalu besar dari yang semestinya, sehingga hasil yang

diperoleh tidak maksimal walaupun efek yang diharapkan tetap terlihat dengan peningkatan kadar albumin sebelum perlakuan dan setelah induksi CCl₄.

Pemberian CCl₄ dengan dosis 1 ml pada tiap-tiap *Rattus norvegicus* setelah perlakuan bertujuan untuk merusak fungsi hepar karena seperti diketahui sebelumnya bahwa toksik kimia karbon tetra-klorida (CCl₄) menyebabkan degradasi peroksidase jaringan adipose yang akan menghasilkan infiltrasi lemak oleh hepatosit. Infiltrasi lemak oleh hepatosit akan menyebabkan kerusakan seluler dan hilangnya fungsi integritas sel membran.¹⁶

Pemberian CCl₄ pada penelitian Dahiru *et al.* (2003),¹⁴ hanya menggunakan dosis 0,1 mg/kgbb, sedangkan pada penelitian ini menggunakan dosis 1ml/tikus. Dosis yang digunakan pada penelitian ini terlalu besar sehingga menyebabkan efek toksik yang diterima oleh hewan uji terlalu berlebihan sehingga hasil yang diperoleh juga tidak maksimal.

Kerusakan sel hepar karena beberapa faktor penyebab dapat diketahui dengan parameter tingkat kerusakan hepar, salah satunya adalah penurunan sintesa produk yang dihasilkan sel hepar diantaranya albumin.¹⁷ Pada penelitian ini didapatkan hasil kadar albumin mengalami peningkatan dari sebelum perlakuan dan sesudah induksi CCl₄. Hal ini menunjukkan efek antioksidan yang terkandung didalam *H. sabdariffa* L bekerja dengan baik untuk menghambat proses kerusakan sel hepar yang disebabkan oleh induksi CCl₄. Walaupun hepatotoksik CCl₄ pada penelitian ini terlalu besar akan tetapi efek antioksidan *H. sabdariffa* L yang ditimbulkan masih tetap bisa terlihat.

Saat pelaksanaan penelitian didapatkan 5 *Rattus norvegicus* mati. Masing-masing terdapat

ada kelompok A 2 ekor, B 1 ekor, dan C 2 ekor. Hal tersebut bisa dikarenakan kesalahan pada proses penyondean yang tidak tepat atau seduhan teh *Rosella* tidak disondekan ke lambung melainkan ke organ lain. Penyondean dilakukan dengan pipet sonde yang dimasukan melalui mulut dan diarahkan ke lambung *Rattus norvegicus*. Namun pada proses penyondean terkadang mengenai organ-organ lain seperti jantung atau paru-paru yang berakibat kematian *Rattus norvegicus* tersebut.

SIMPULAN

Disimpulkan bahwa pemberian seduhan teh *H. sabdariffa* L sebanyak 2, 4 dan 8 gram/hari selama 14 hari dapat meningkatkan kadar albumin pada *Rattus norvegicus* yang telah diinduksi CCl_4 .

DAFTAR PUSTAKA

1. Sherwood, L., 2001. *Human Physiology: from Cells to Systems*. Jakrta: EGC
2. Price, S.A, & Wilson, L.M., 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*, Edisi 6, volume 1, Jakarta: EGC
3. Wyngaarden, J.B. 1982. *The Text Book of Medicine Vol 1*. W.B. Sanders Co: Philadelphia
4. Guyton, A.C, & Hall, J.E., 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
5. Yayasan spiritia, 2010. *Tes Fungsi Hati*, Diakses 19 Maret 2010, dari <http://spiritia.or.id>
6. Sidhaye, AR. 2005. ALP. *Medline Plus*. Diakses pada tanggal 2 April 2010 dari <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ancy/article/003470.htm>
7. Berger, M., Bhatt, H., Combes, B., & Estabrook, RW. 1985. *CCl_4 -Induced Toxicity in Isolated Hepatocytes: The Importance of Direct Solvent Injury*, Dallas, Texas
8. Farnsworth, N.R, & Bunyapraphatsara, N., 1992. *Thai Medicinal Plants Recommended for Primary Health Care System*, Prachachon Press, Bangkok, p.163-166
9. Morton, J, 1999. *Roselle In: Fruits of Warm Climates*, Miami, FL,p. 281–286
10. Marderosian, A.D, & Beutler, 2002. *The Review of Natural Products the Most Complete Source of Natural Product Information, Fact and Comparison 2nd ed*. Missouri
11. Hirunpanich, V., Upaiat, A., Morales, NP., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsale, A., et al. 2005. Hypocholesterolemic and Antioxidant Effects of Aqueous Extract from the Dried Calyx of *Hibiscus sabdariffa* in Hypercholesterolemic Rats. *J Ethnopharmacol*. 103 (2): 252-60.
12. Farombi EO., & Ige OO., 2007. Hypolipidemic and Antioxidant Effects of Ethanolic Extract from Dried Calyx of *Hibiscus sabdariffa* in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Fundam clin pharmacol*. 21 (6): 601-9.
13. Lin, W.L., Hsieh, Y.J., Chou, F.P., Wang, C.J., Cheng, M.T., Tseng, T.H. 2003. Hibiscus Protocatechuic Acid Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Rat Hepatic Damage, *Archives of Toxicology*, 77 (1): 42-47.
14. Dahiru, O., Obi, O.J., & Umaru, H., 2003. Effect of *Hibiscus sabdariffa* Calyx Extract on Carbon Tetrachloride Induced Liver Damage. *Biokemistri*, 15 (1): 27-33.
15. Akindahunsi AA & Olaleye MT, 2003. Toxicological Investigation of Aqueous-Methanolic Extract of the Calyces of *Hibiscus sabdariffa* L, *J Ethnopharmacol*, 89 (1):161-4

16. Khar pate, S., Vadnerkar, G., Jain, D., & Jain, S., 2007. Evaluation of Hepatoprotective Activity of Ethanol Extract of *Pterospermum acerifolium* Ster Leaves. *Indian J Pharm Sci*, 69 (6): 850–852.
17. Sudoyo, AW., Setiyohadi, B., Alwi, I., Marcellus, S. & Setiati, S., 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi 4 jilid 1, Jakarta: FK-UI.