

Efektivitas Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Ginjal Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Etanol 20%

M A Hafiz¹, R Yulianti², N Hardini³

¹Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, Jakarta

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, Jakarta

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, Jakarta

E-mail: davidalhaviz98@gmail.com

Abstrak. Konsumsi alkohol dalam waktu lama dapat merusak jaringan tubuh diantaranya ginjal. Kerusakan ginjal ditandai dengan adanya senyawa malondialdehid yaitu salah satu produk hasil peroksidasi lipid. Untuk mengatasi kerusakan tersebut diberikan antioksidan. Antioksidan yang digunakan adalah bunga rosella yang mengandung senyawa flavonoid bersifat antioksidan. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek ekstrak bunga rosella terhadap kadar MDA ginjal tikus yang diinduksi etanol 20%. Sebanyak 30 ekor tikus putih jantan galur wistar dikelompokkan menjadi enam kelompok dengan perlakuan berbeda. Lima kelompok perlakuan diberi etanol 20%, dan satu kelompok tidak diberikan etanol sebagai kontrol negatif. Enam kelompok terdiri dari: (1) pakan standar dan aquades (Kontrol Negatif/K0), (2) pakan standar dan etanol 20% secara peroral (Kontrol Positif/K1), (3) vitamin C (Kontrol Positif 2/K2), (4) ekstrak bunga rosella 250 mg/kgBB (Perlakuan 1/P1), (5) ekstrak bunga rosella 500 mg/kgBB (Perlakuan 2/P2), dan (6) ekstrak bunga rosella 750 mg/kgBB (Perlakuan 3/P3). Penelitian dilakukan 30 hari lalu dilakukan pembedahan, pengambilan ginjal, dan pengukuran kadar MDA ginjal. Analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Mann Whitney*. Kelompok P1, P2, dan P3 terdapat penurunan kadar MDA lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Kesimpulannya, ekstrak bunga rosella mampu menurunkan kadar MDA ginjal dan dosis paling efektif adalah dosis 250 mg/kgBB/hari.

1. Latar Belakang

Perilaku mengonsumsi alkohol semakin digemari dalam kehidupan sehari-hari, baik karena tuntutan bersosialisasi maupun karena dorongan pribadi. Alkohol memiliki beragam jenis dan kerap dipakai untuk bahan pokok campuran makanan serta minuman, salah satunya etanol. Alkohol bila dikonsumsi dalam jumlah berlebih mempunyai efek yang merugikan bagi tubuh bisa secara langsung maupun tidak langsung.[1]

Alkohol merupakan jenis senyawa yang mengandung unsur kimia etil alkohol atau etanol, berbentuk cairan putih bening, tidak mempunyai warna dan memiliki rasa yang pahit. Alkohol didapat dari hasil mikroorganisme yang difermentasi baik berasal dari gula, sari buah, biji-bijian, madu, umbi-umbian dan getah kaktus tertentu.[2]

Berdasarkan data *World Health Organization (WHO)* tahun 2018 diketahui jumlah pengonsumsi alkohol saat ini berjumlah sekitar 2,3 juta orang dari total populasi dunia. Sedangkan menurut data RISKESDAS tahun 2018, proporsi konsumsi minuman beralkohol pada masyarakat yang berumur 10 atau lebih di Indonesia berjumlah 3,3%, mengalami peningkatan dari data tahun 2007 yakni sejumlah 3,0%. Hal ini menunjukkan bahwa perilaku mengonsumsi alkohol sudah membudaya dan lambat laun akan mempengaruhi fisiologis dari organ tubuh manusia itu sendiri, salah satunya adalah ginjal.[3]

Pengonsumsi alkohol yang berlebihan akan berdampak pada kerusakan ginjal, yang dapat diketahui dari meningkatnya senyawa yang dapat dijadikan indikator rusaknya ginjal yang disebabkan oleh radikal bebas. Beberapa senyawa yang dimaksud adalah malondialdehid (MDA), enzim katalase, dan glutathion (GSH).[4]

Antioksidan menjadi sangat penting karena manfaatnya pada penyakit yang ada kaitannya dengan stress oksidatif yang dianggap telah berkembang secara universal. Seperti halnya penyakit kronis yang dihubungkan dengan stress oksidatif dan memberikan fakta bahwa pemakaian antioksidan akan memainkan peran dalam menurunkan resiko penyakit tersebut. Terdapat 2 jenis antioksidan yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen diantaranya adalah sistem enzim seperti *Malondialdehyde (MDA)*, *Gluthanione Peroxidase (GPx)*, Katalase (CAT), dan *Gluthanion Reductase (GRx)*. Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan banyak ditemukan pada buah-buahan, sayur-sayuran, biji-bijian, kacang-kacangan dan beberapa daging. Apabila cadangan antioksidan dalam tubuh tidak mencukupi dan menyebabkan adanya paparan radikal bebas berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen.[5]

Rosella adalah salah satu diantara antioksidan eksogen yang alami dimana saat ini sedang banyak digunakan, karena hampir semua bagian tanaman ini bisa digunakan untuk keperluan pengobatan. Dan rosella juga mempunyai kandungan senyawa kimia yang bisa memberikan banyak sekali manfaat. Tanaman rosella mempunyai kandungan vitamin, antosianin, dan kalsium yang bermanfaat untuk menurunkan tekanan darah tinggi, antiseptik saluran pencernaan dan sebagai antioksidan. Komponen polifenol tanaman rosella mempunyai aktivitas antioksidan, antibakteri, hipokolesterolemik, dan antihipertensi serta ekstrak etanol kelopak bunga rosella mempunyai aktivitas penangkapan radikal bebas.[7]

Antosianin berfungsi sebagai antioksidan yang diyakini dapat menyembuhkan penyakit degeneratif. Antosianin memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal.⁷ Pada penelitian Uliabab, dkk tahun 2015, ekstrak bunga rosella mampu mencegah kenaikan kadar malondialdehid.[5]

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti ingin mengetahui bagaimana pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) terhadap kadar MDA ginjal tikus yang diinduksi etanol 20%.

2. Metode Penelitian

2.1. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dimana pada penelitian ini diberi perlakuan berupa intervensi terhadap suatu variabel yang diharapkan akan terjadi perubahan pada variabel lain. Rancangan dalam penelitian ini menggunakan rancangan Posttest dengan kelompok kontrol (*Posttest Only Control Group Design*) karena dalam penelitian ini dilakukan pengelompokan anggota kelompok

kontrol dan kelompok perlakuan secara acak dan tidak dilakukannya pretest. Setelah hasil didapatkan, hasil masing-masing kelompok dibandingkan.

2.2. Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar sebanyak 24 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran Bandung. Tikus harus memenuhi kriteria inklusi untuk dapat dijadikan sebagai subjek penelitian. Kriteria inklusi dari subjek pada penelitian ini tikus jantan galur Wistar yang berumur 2 – 3 bulan dengan berat badan 250 – 300 gram. Kriteria eksklusi pada penelitian ini ketika terdapat tikus yang sakit sebelum perlakuan dan terdapat adanya kelainan anatomi.

2.3. Perhitungan Besar Sampel

Pengukuran besar sampel yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus Federer [6]. Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan jumlah tikus yang digunakan yaitu 4 ekor perkelompok perlakuan. Pada penelitian ini digunakan 6 kelompok perlakuan sehingga total sampel minimal adalah 24 ekor tikus. Untuk menghindari drop out sampel saat penelitian makan setiap kelompok diberi tambahan sampel dengan rumus *drop out*.

2.4. Prosedur Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: spektrofotometer, sentrifugator, mikro-pipet, microtube 1,5 ml dan 2 ml, kertas saring, dan tabung sampel dan bahan yang digunakan pada penelitian ini Bahan ekstrak tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Jenis ekstraksi yang digunakan adalah maserasi bertingkat dengan pelarut air. Dosis ekstrak yang dipakai 250 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/ hari, 750 mg/kgBB/hari [7]. Selain itu digunakan antioksidan yang berasal dari vitamin C dengan dosis 1,8 mg/hari [8].

2.5. Metode

Langkah-Langkah kerja dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Pemeriksaan karakteristik ekstrak yang meliputi identifikasi kandungan kimia ekstrak bunga rosella yaitu alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida.[11]
2. Pembuatan larutan ekstrak bunga rosella dibuat dari kelopak bunga rosella kering kemudian dimaserasi dengan air selama 24 jam setelah itu disaring dan didapatkan filtratnya [9]. Setelah itu, dibagi sesuai dosis perlakuan sedangkan larutan vitamin C dengan aquades.
3. Rancangan penelitian hewan uji untuk tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Frederer yaitu $(t-1) (n-1) \geq 15$, t menunjukkan jumlah perlakuan dan n adalah jumlah pengulangan.[6] Hewan uji dikelompokkan secara acak dan dibagi dalam 6 kelompok masing-masing 4 ekor.[10]
4. Pemberian perlakuan tersebut yaitu: kelompok kontrol negatif/normal (K1) tikus diberi pakan standar dan aquades; kelompok kontrol positif I (K2) tikus diberikan pakan standar dan etanol 20% sebanyak 2 ml/hari; kelompok kontrol positif II (K3) tikus diberikan pakan standar, etanol 20% sebanyak 2 ml/hari, dan vitamin C dosis 1,8 mg/hari; kelompok perlakuan terdiri dari tikus yang diberikan etanol 20% dan ekstrak bunga rosella 250 mg/kgBB/hari (K4), tikus yang diberikan etanol 20% dan ekstrak bunga rosella 500 mg/kgBB/hari (K5) dan tikus yang diberikan etanol 20% dan ekstrak bunga rosella 750 mg/kgBB/hari (K6). Pada kelompok K2, K3, K4, K5, dan K6 Pemberian etanol 20% dilakukan setiap hari selama 30 hari dilanjutkan dengan pemberian ekstrak rosella dan vitamin C satu jam setelah pemberian etanol 20%.
5. Akhir perlakuan semua kelompok tikus dilakukan terminasi dan kemudian organ ginjal diambil dan dibersihkan selanjutnya dilakukan perhitungan kadar MDA. Pengukuran kadar MDA organ ginjal dilakukan dengan cara Organ ditimbang sebanyak 0,25 ml kemudian digerus sampai halus kemudian dimasukkan kedalam tabung appendorf dan ditambahkan aquades. Homogenat ditambahkan larutan TCA 0,025 ml lalu dilakukan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan

3000 rpm. Supernatant diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan larutan TBA 0,67% sebanyak 0,75 ml. Panaskan dengan penangas air yang mendidih (suhu 100° C) selama 10 menit. Setelah dingin, tabung reaksi diambil dan dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 rpm. Hitung kadar MDA dengan mengkonversikan hasil spektrofotometer ke dalam kurva standar MDA.

2.6. Analisa Data

Setelah pengambilan data, data dianalisis menggunakan uji *One way* Anova untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar MDA pada semua kelompok. Selanjutnya, untuk mengetahui letak perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok dilakukan analisis post-hoc multiple comparison test.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil uji fitokimia ekstrak bunga rosella diketahui bahwa ekstrak yang digunakan dalam penelitian terbukti mengandung senyawa antioksidan flavonoid dapat dilihat pada Tabel 1. Senyawa flavonoid dalam rosella berfungsi menangkal radikal bebas dengan memberi satu atom hidrogen dari gugusnya untuk bereaksi dengan radikal bebas.[10]

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia

| Uji Fitokimia | Hasil Uji |
|---------------|-----------|
| Flavonoid | + |
| Saponin | + |
| Tanin | - |
| Fenolik | + |
| Triterpenoid | + |
| Steroid | - |
| Glikosida | + |
| Alkaloid | + |

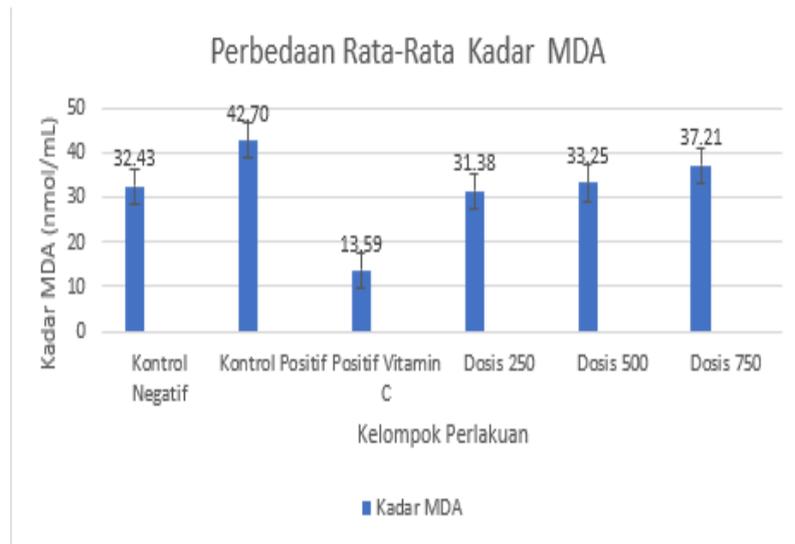
Pada tabel 2 dan Grafik 1 terdapat data dari rerata kadar MDA ginjal dinilai menggunakan jaringan ginjal tikus yang diambil setelah perlakuan selama 30 hari dan proses terminasi.[11]

Tabel 2 Rata-rata Kadar MDA Ginjal

| Kelompok | Perlakuan | Kadar MDA ± SD (ng/ml) |
|----------|--------------------------------------|------------------------|
| K 1 | Kontrol Negatif | 32.43 ± 10.5 |
| K 2 | Kontrol Positif 1 | 42.70 ± 11.79 |
| K 3 | Kontrol Positif 2 (Vitamin C) | 13.59 ± 0.56 |
| K 4 | Perlakuan 1 | 31.38 ± 3.91 |

| | | |
|-----|--------------------|--------------|
| K 5 | Perlakuan 2 | 33.25 ± 6.02 |
| K 6 | Perlakuan 3 | 37.21 ± 4.6 |

Gambar 1 Grafik Rata-rata Kadar MDA Ginjal



Pada tabel 2 dan grafik 1 dapat dilihat perbedaan rata-rata kadar MDA masing- masing kelompok. Secara laboratoris, rata-rata kadar MDA pada kontrol positif dan perlakuan 3 memiliki kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada keadaan konsumsi etanol selama 30 hari dapat menimbulkan terjadinya ROS, yang menyebabkan produksi asetaldehid yang berlebih, sehingga sel menjadi rusak dan mengalami penurunan ATP.[13] Sehingga dapat mengakibatkan terganggunya fungsi dan kematian sel pada sel ginjal dan tentunya meningkatkan resiko terjadinya gagal ginjal.¹⁶ Kelompok Oksigen Reaktif atau ROS ini akan bereaksi dengan *poly-unsaturated fatty acid's* (PUFAs) yang menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid. Hasil dari peroksidasi lipid tersebut salah satunya adalah malondialdehid (MDA). Malondialdehid banyak digunakan sebagai biomarker dari peroksidasi lipid. Reaksi antara ROS dengan asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat pada dinding sel.[11]

Kadar MDA terendah terdapat pada kelompok kontrol positif II dimana pada kelompok tersebut diberi perlakuan etanol 20% dan vitamin C dosis 1,8 mg/hari. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C sebagai antioksidan murni mampu menurunkan kadar MDA sehingga dapat mengurangi dampak dari stres oksidatif. Mekanisme vitamin C sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron sehingga senyawa yang reaktif berubah menjadi senyawa yang stabil.[10]

Pada kelompok perlakuan 1 dengan ekstrak bunga rosella dengan dosis 250 mg/kgBB/hari didapatkan kadar MDA rata- rata terendah kedua setelah vitamin C. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 250 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar MDA tapi kemampuannya masih belum menyamai dengan vitamin C sebagai antioksidan murni. Hal ini sesuai dengan penelitian bahwa pemberian ekstrak rosella dengan dosis 250 mg/kgBB/hari pada tikus yang dipapar karbon tetraklorida mampu menurunkan kadar MDA.¹¹ Hal ini disebabkan karena pada rosella terkandung senyawa flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid dalam rosella berfungsi menangkal radikal bebas

melalui proses radikal *scavenging* dengan memberi satu atom hidrogen dari gugusnya untuk bereaksi dengan radikal bebas.[10]

Pada kelompok perlakuan 2 yaitu dengan dosis 500 mg/kgBB/hari rata-rata kadar MDA lebih rendah dibandingkan kontrol positif yang hanya diberikan etanol 20% tanpa perlakuan tetapi masih lebih tinggi dibandingkn dengan kontrol negatif, Hal ini menunjukkan pada dosis 500 mg/kgBB/hari masih belum mampu bekerja secara maksimal sebagai antioksidan karena kadar MDA pada dosis 500 mg/kgBB/hari dengan kontrol positif berbeda namun tidak signifikan. Penurunan kadar MDA yang terdapat pada dosis 500 mg/kgBB/hari karena rosella mempunyai senyawa flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan namun kerja dari flavonoid tersebut tidak maksimal.

Kadar MDA tertinggi didapatkan pada kelompok perlakuan 3 yaitu pada dosis 750 mg/kgBB/hari. Hal ini menunjukkan pada dosis tersebut masih belum efektif dalam menurunkan kadar MDA. Senyawa flavonoid yang mengalami oksidasi akan menghasilkan suatu senyawa metabolit yang dapat merusak antioksidan *glutathione* (GSH). Efek dari rusaknya antioksidan tersebut diduga terjadi penurunan kerja antioksidan intrasel sehingga dapat menyebabkan kadar ROS di ginjal tetap tinggi.[11] Maka dari itu, proses peroksidasi lipid tetap terjadi sehingga menyebabkan kadar MDA tetap tinggi.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa dan pembahasan penelitian pemberian ekstrak bunga rosella terhadap kadar malondialdehid ginjal tikus yang diinduksi etanol 20% didapatkan kesimpulan terdapat adanya pengaruh antara vitamin C dengan masing-masing dosis ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dimana vitamin C dan ekstrak bunga rosella dosis 250mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar MDA hepar sedangkan dosis 500mg/kgBB/hari dan 750mg/kgBB/hari belum efektif dalam menurunkan kadar MDA ginjal dan dosis efektif ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang dapat mempengaruhi kadar MDA hepar tikus yang diinduksi etanol 20% adalah 250 mg/kgBB/hari.

Daftar Pustaka

- [1] Panjaitan, R. G. *Bahaya Gagal Hamil Yang Diakibatkan Minuman Beralkohol*, 2003.
- [2] Tritama, T. K. *Konsumsi Alkohol dan Pengaruhnya terhadap Kesehatan. J.Major.* 4, 7-10 .2015.
- [3] Mardiah, S., Ashadi, R.W. Mardiah, S., Ashadi, R. W. & Rahayu,A. *Budidaya dan Pengolahan Rosela: Si Merah Segudang Manfaat*. Agromedia, 2009.
- [4] T. K. Tritama, "Konsumsi Alkohol dan Pengaruhnya terhadap Kesehatan," *J. Major.*, vol. 4, no. 8, pp. 7–10, 2015.
- [5] S. Zakhari, "Overview: How is alcohol metabolized by the body?," *Alcohol Res. Heal.*, vol. 29, no. 4, pp. 245–254, 2006.
- [6] A. Ayala, M. F. Muñoz, and S. Argüelles, "Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal," *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/360438.
- [7] A. Werdhasari, "Peran Antioksidan Bagi Kesehatan," *Indones. J. Biotechnol. Med.*, vol. 3, no. 2, pp. 59–68, 2014, doi: 10.22435/jbmi.v3i2.4203.59-68.
- [8] H. Maryani and L. Kristiana, *Khasiat dan Manfaat Rosela*. Jakarta: Agromedia, 2005.
- [9] E. Nurnasari and A. D. Khuluq, "Potensi Diversifikasi Rosela Herbal (*Hibiscus sabdariffa* L.)

- untuk Pangan dan Kesehatan,” *Bul. Tanam. Tembakau, Serat Miny. Ind.*, vol. 9, no. 2, p. 82, 2018, doi: 10.21082/btsm.v9n2.2017.82-92.
- [10] S. Mardiah, R. W. Ashadi, and A. Rahayu, *Budidaya dan Pengolahan Rosela: Si Merah Segudang Manfaat*. Jakarta: Agromedia, 2009.
- [11] A. Ulilalbab, B. Wirjatmadi, and M. Adriani, “Ekstrak Kelopak Rosella Merah Mencegah Kenaikan Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok (Red Rosella Calyx Extract Prevent the Increase of Malondialdehyde of Wistar Rats Exposed to Cigarette Smoke),” *Jik*, vol. 13, no. 2, pp. 215–220, 2015.