

PENGARUH PEMBERIAN SUBKRONIK EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus Sabdariffa* L.) TERHADAP KADAR SGPT SGOT DAN ALP

Nurkhasanah¹, Moch. Saiful Bachri¹, Nofa Risma Azis^{2*})

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

²Program Pascasarjana Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

Received May 23, 2016; Accepted August 15, 2016

Abstract: Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) has been known as traditional medicinal plants. It needed to evaluate the safety of roselle extract on long-term oral administration. The research aimed to determine the safety of ethanolic extract of roselle calyx. Subchronic toxicity study of ethanolic extract of roselle calyx had been carried out on 60 Sprague Dawleys (SD) rats for 28 days. The roselle extract was administered orally every day, with doses of 50, 100 and 200 mg/kgBW. There are 2 satellite groups, kept for another 14 days after the treatment in order to detect a delayed occurrence of toxic effect. Satellite group was given extract 200 mg/kgBW for 28 days and followed aquadest treatment for 14 days. At the end of experiment the blood was collected for measuring SGPT, SGOT and ALP activity. The result showed that treatment of roselle calyx extract had no significant changes in SGPT, SGOT, ALP activity. The delayed effect was not also observed. The ethanolic extract of roselle calyx didn't show toxic effects on the liver on subchronic administration.

Key words: Roselle (*Hibiscus sabdariffa*, L.), SGPT, SGOT, ALP

PENDAHULUAN

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) tanaman yang cukup banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Secara empirik dan praklinik rosella memiliki aktivitas yang cukup banyak seperti antipiretika, antibakterial, antioksidan, antihipertensi, antikolesterol (Reanmongkol dan Itharat, 2007; Ajay *et al.*, 2007). Rosella mengandung flavonoid gossypetin, hibiscetine, sabdarerine, ascorbic acid, mucilage, calcium citrate (Ali *et al.*, 2005).

Beberapa penelitian menunjukkan aktivitas farmakologi dari rosella, beberapa diantaranya adalah rosella dapat menurunkan tekanan darah pada tikus (Odigie *et al.*, 2003) dan telah diuji secara klinis pada pasien *essential hypertension* (Herrera *et al.*, 2004). Ekstrak rosella ditemukan dapat mencegah stres oksidatif erosit manusia dari lipid peroksidase (Suboh *et al.*, 2004). Ekstrak rosella juga dapat menurunkan kadar lipid dan menunjukkan aktivitas sebagai antiaterosklerosis pada kelinci yang diinduksi kolesterol tinggi (Chen *et al.*, 2003). Seduhan dari rosella mengandung

polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Kao *et al.*, 2009). Ekstrak rosella juga menunjukkan aktivitas hepatoprotektif pada tikus yang diinduksi DMBA dengan menurunkan aktivitas SGPT, SGOT dan ALP (Nurkhasanah dan Rahardhian., 2015)

Secara empirik banyak tanaman obat digunakan untuk menanggulangi penyakit degeneratif yang membutuhkan pengobatan dalam jangka waktu yang lama. Demikian juga banyak produk jadi obat tradisional yang bahan bakunya adalah rosella yang beredar di masyarakat dengan indikasi sebagai antioksidan. Berkembangnya penggunaan rosella di masyarakat sehingga perlu dilakukan uji mengenai keamanan penggunaan rosella tersebut. Sehingga untuk memperoleh data mengenai keamanan pemakaian jangka panjang rosella, perlu dilakukan penelitian toksisitas subkronis ekstrak kelopak bunga rosella pada hewan percobaan.

Pada uji toksistas akut, tidak ditemukan toksistas pada pemberian 5000 mg/kgBB ekstrak etanol rosella secara oral pada tikus (Sari, 2016).

*Corresponding author: Nofa Risma Azis
Email: nofarisma19@gmail.com

Hepar mempunyai peranan pada setiap fungsi metabolik tubuh. Pada proses metabolisme, sejumlah senyawa xenobiotik berpotensi untuk menimbulkan kerusakan pada hepar (hepatotoksik). Radikal bebas yang dihasilkan dari proses metabolisme suatu xenobiotik dapat menginduksi lesi dari hepar dan bereaksi dengan penyusun seluler hepar, seperti protein, lipid, RNA dan DNA. Kerusakan pada hepar akan ditunjukkan oleh aktivitas enzim seluler yang semakin meningkat.

Enzim hati yang dapat dijadikan pertanda kerusakan hati antara lain aminotransferase (transaminase) dan Alkaline fosfatase (ALP). Golongan enzim aminotransferase adalah serum alanine aminotransferase (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* atau SGPT) dan serum aspartate aminotransferase (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* atau SGOT). Enzim-enzim tersebut merupakan indikator yang spesifik untuk menentukan kerusakan sel hati. Alkaline fosfatase (ALP) merupakan kelompok enzim yang bekerja menghidrolisis ester fosfat pada suasana alkali. Kadar ALP tertinggi di dalam tubuh terdapat pada sel-sel yang mengalami pembelahan dengan cepat seperti epitel usus, jaringan sel tubulus proksimal ginjal dan plasenta. Peningkatan kadar enzim-enzim ini mencerminkan adanya kerusakan sel hepar.

Berdasarkan uraian diatas serta didukung penelitian yang sebelumnya maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keamanan pemberian ekstrak kelopak bunga rosella pada hepar tikus, dengan mengukur aktivitas SGOT, SGPT dan ALP.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah kelopak bunga rosella yang diperoleh dari petani rosella Kediri, Jawa Timur yang dipanen pagi hari sebelum matahari terbit, etanol 70% (*Merck*), hewan uji tikus betina *Sprague Dawley* berumur 6-8 minggu dengan berat badan 120-180 gram, berasal dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, Yogyakarta, reagen kit SGOT, SGPT dan ALP (*Dyasis*[®]).

Alat-alat gelas (*Pyrex*), seperangkat alat bedah, alat suntik, jarum oral, mikropipet (*Socorex*),

yellow tip, *blue tip*, (*Assistent*), corong *Buchner*, vakum (*Gast*), *rotary evaporator* (*Heidolph*), *stirrer* (*Ika Labortechnik*), *waterbath* (*Memmert*), timbangan analitik (*Ohaus*), toples, oven (*Binder*), Spektrofotometer (*Shimadzu*).

Ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah etanol 70%. Seribu lima ratus gram serbuk kelopak bunga rosella diekstraksi dengan pelarut etanol 70% 6000 mL (1:4) menggunakan metode maserasi dengan pengadukan selama kurang dari 3 jam, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Ekstrak cair hasil penyarian dengan lalu dievaporasi dan kemudian dipanaskan di *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Standarisasi Ekstrak

Penetapan Kadar Flavonoid

Penetapan kadar total flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen aluminium klorida sesuai prosedur Chang *et al.*, (2002). Menimbang 50 mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol 50 ml di encerkan hingga garis batas. Larutan tersebut sebagai larutan induk yang selanjutnya di encerkan dengan etanol sehingga diperoleh minimal 7 konsentrasi yang berbeda. Tiap konsentrasi di pipet sebanyak 2 mL larutan kemudian ditambahkan dengan 0,1 mL aluminium klorida (AlCl_3) 10% yang telah dilarutkan dengan etanol, 0,1 mL Na Asetat, 2,8 mL aquadest kemudian divortex, inkubasi campuran larutan pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 430 nm dengan menggunakan larutan blanko.

Penetapan Kadar Fenolik Total

Penetapan kadar polifenol pada sampel dibuat dengan menimbang sebanyak 50,0 mg ekstrak etanol kelopak merah bunga rosella dilarutkan sampai volume 50,0 mL dengan campuran etanol : aquades (1:1). Larutan ekstrak yang diperoleh dipipet 300 μL dan ditambah 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 mL larutan Na_2CO_3 7,5% dan didiamkan lagi pada range *operating time* pada

suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum (Lim dan Murtijaya, 2007).

Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji telah mendapat persetujuan etik dari komite etik penelitian Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor 011505043. Pengujian toksisitas rosella sesuai dengan Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Non klinik secara *In Vivo*. Hewan uji dibagi menjadi enam kelompok, masing-masing terdiri dari 10 tikus SD. Sebelumnya hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari. Pengelompokan hewan uji sebagai berikut:

Kelompok I : Kontrol pelarut, tikus diberi larutan pembawa (aquadest) secara peroral.

Kelompok II : Hewan uji diberi ekstrak dengan dosis 50 mg/kgBB secara peroral selama 28 hari.

Kelompok III : Hewan uji diberi ekstrak dengan dosis 100 mg/kgBB secara peroral selama 28 hari.

Kelompok IV : Hewan uji diberi ekstrak dengan dosis 200 mg/kgBB secara peroral selama 28 hari.

Kelompok V dan VI merupakan kelompok satelit, untuk melihat ketoksikan yang presisten atau reversible

Kelompok V : Kontrol satelit pelarut, hewan uji diberi larutan pembawa (aquadest) secara peroral selama 42 hari.

Kelompok VI : Hewan uji diberi ekstrak dengan dosis 200 mg/kgBB secara peroral selama 28 hari, dan selanjutnya selama 14 hari diberi aquadest.

Setelah diaklimatisasi selama 7 hari dan 28 hari perlakuan kelompok I, II, III, dan IV diambil darahnya dan kemudian dilakukan penetapan kadar SGPT, SGOT dan ALP. Sedangkan pada kelompok V dan IV dilanjutkan hingga hari ke-43 dan dilakukan pengambilan darah untuk dilakukan penetapan kadar SGPT, SGOT dan ALP.

Penetapan Kadar SGPT

Penetapan aktivitas SGPT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen kit Dyasis® SGPT (R1) TRIS pH 7,15 sebanyak 140 mmol/L, L-alanine 700 mmol/L dan LDH (*lactate dehydrogenase*) ≥ 2300 U/L: reagen SGPT (R2) 2- oksoglutarate 85 mmol/L dan NADH

1mmol /L. Larutan sampel berisi campuran R1 dan R2 dengan perbandingan 4 : 1. Sebanyak 600 µl reagen kit SGPT direaksikan dengan 60 µl sampel, divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Prosedur penetapan SGPT berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®.

Penetapan kadar SGOT

Penetapan aktivitas SGOT ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen kit Dyasis® SGOT (R1) TRIS pH 7,65 sebanyak 110 mmol/L, L-aspartate 320 mmol/L, MDH (*malate dehydrogenase*) ≥ 800 U/L dan LDH (*lactate dehydrogenase*) ≥ 1200 U/L: reagen SGOT (R2) 2-oksoglutarate 65 mmol/L dan NADH 1 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran R1 dan R2 dengan perbandingan 4:1. Sebanyak 600 µl reagen kit SGOT direaksikan dengan 60 µl sampel, divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 mn. Prosedur penetapan SGOT berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®.

Penetapan kadar ALP

Penetapan aktivitas ALP ditetapkan berdasarkan reaksi enzimatis menggunakan reagen kit Dyasis® ALP yang terdiri dari (reagen 1) *diethanolamine* pH 9,8 sebanyak 1,2 mmol/L dan *magnesium chloride* 0,6 mmol/L; (reagen 2) *p-nitrophenylphosphate* 50 mmol/L. Larutan sampel berisi campuran reagen 1 dan reagen 2 dengan perbandingan 4:1. Sebanyak 600 µl reagen kit ALP direaksikan dengan 12 µl sampel, divortex dan diinkubasi pada suhu kamar selama 1 menit selanjutnya sampel dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 405 nm, prosedur penetapan aktivitas ALP berdasarkan prosedur kerja dari Dyasis®.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian subkronis ekstrak kelopak bunga rosella yang diberikan secara peroral pada pemakaian jangka panjang dengan berbagai tingkat

dosis terhadap kadar SGPT, SGOT dan ALP pada hewan uji.

Standarisasi Ekstrak

Analisis Kadar Fenolik

Kadar fenolik total dari ekstrak etanol kelopak bunga rosella ditetapkan dengan menggunakan peraksi Folin-Ciocalteu. Prinsip reaksi fenolik ini adalah adanya reaksi reduksi dari gugus fenolik terhadap asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam peraksi Folin-Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat diukur serapannya dengan spektrofotometer visibel. Suasana basa dapat diciptakan dengan penambahan Na_2CO_3 7,5 % (natrium karbonat) sehingga terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk.

Hasil penetapan kandungan fenolik total diperoleh $y = 0,0199x + 0,1496$ dan $r = 0,9948$, dimana x = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) dan y = absorbansi. Kandungan fenolik total rata-rata ekstrak kelopak bunga rosella yang diperoleh kadar sebesar $1,96 \% \pm 0,04$.

Analisis Kadar Flavonoid Total

Kadar flafonoid total dari ekstrak kelopak bunga rosella ditetapkan dengan menggunakan pereaksi AlCl_3 . Aluminium klorida akan membentuk kompleks warna dengan flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Penambahan Na asetat dengan tujuan agar kompleks warna yang terbentuk stabil dan dapat dibaca serapannya.

Hasil penetapan kandungan flavonoid diperoleh $y = 0,0749x + 0,0346$ dan $r = 0,9856$ dimana x = konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) dan y = absorbansi. Kandungan flavonoid total rata-rata ekstrak kelopak bunga rosella yang diperoleh kadar sebesar $0,52\% \pm 0,02$.

Penetapan Kadar SGPT, SGOT dan ALP

Pengukuran aktivitas SGOT, SGPT dan ALP pada kelompok I, II, III dan IV dilakukan pada hari ke-29 setelah pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella selama 28 hari. Hasil pengukuran SGPT secara rinci dapat dilihat pada Tabel I serta disajikan pada Gambar 1.

Tabel I. Kadar SGPT, SGOT dan ALP setelah pemberian ekstrak kelopak bunga rosella.

Kelompok	Kadar SGOT (U/L) [rerata $\pm$ SD]	Kadar SGPT (U/L) [rerata $\pm$ SD]	Kadar ALP (U/L) [rerata $\pm$ SD]
Kontrol	69,45 $\pm$ 2,25	25,65 $\pm$ 3,10	108,63 $\pm$ 14,12
Dosis 50 mg/kgBB	70,85 $\pm$ 4,50	26,01 $\pm$ 2,55	109,72 $\pm$ 9,210
Dosis 100 mg/kgBB	71,02 $\pm$ 3,64	26,70 $\pm$ 3,52	117,17 $\pm$ 5,72
Dosis 200 mg/kgBB	70,15 $\pm$ 3,89	26,18 $\pm$ 2,14	110,83 $\pm$ 7,78
Normal ^a	65-203	16-48	26-147

Keterangan : * berbeda signifikan dengan kontrol

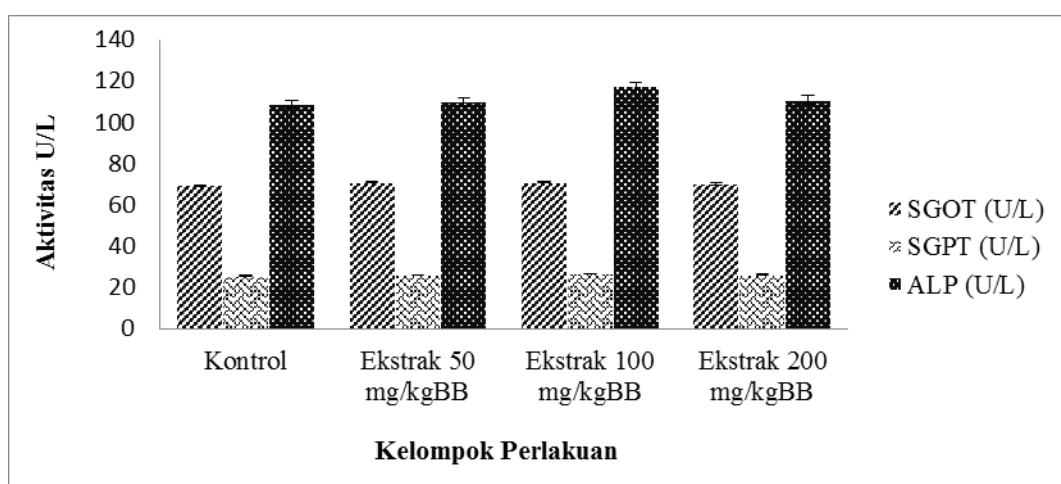
^a Charles River Laboratory

Tabel II. Kadar SGOT, SGPT dan ALP pada kelompok satelit, setelah pemberian ekstrak kelopak bunga rosella selama 28 hari dan dilanjutkan 14 hari diberikan aquadest

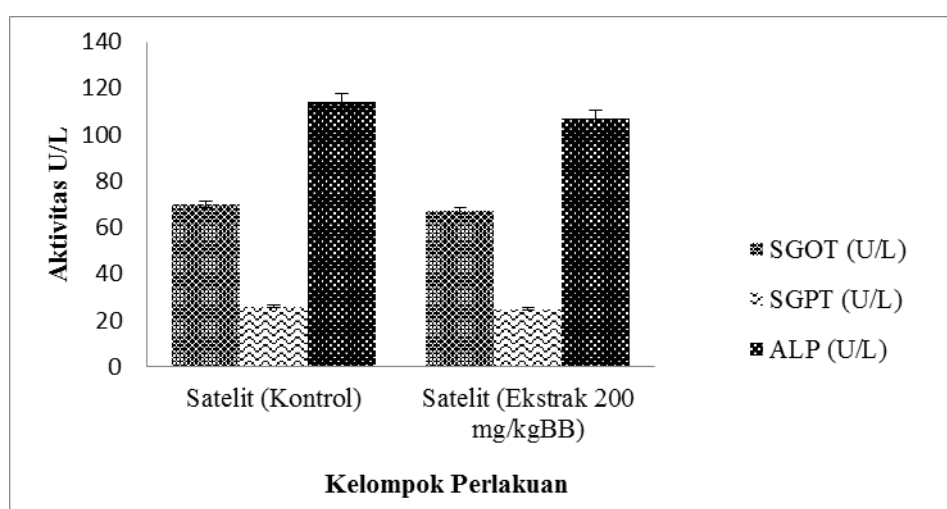
Kelompok	Kadar SGOT (U/L) [rerata $\pm$ SD]	Kadar SGPT (U/L) [rerata $\pm$ SD]	Kadar ALP (U/L) [rerata $\pm$ SD]
Satelit (kontrol)	69,80 $\pm$ 366	25,83 $\pm$ 4,26	113,86 $\pm$ 16,04
Satelit (Dosis 200 mg/kgBB)	67,01 $\pm$ 3,99	24,78 $\pm$ 4,04	106,70 $\pm$ 17,05
Normal ^a	65-203	16-48	26-147

Keterangan : * berbeda signifikan dengan kontrol

^a Charles River Laboratory



Gambar 1. Grafik kadar SGPT, SGOT dan ALP setelah pemberian ekstrak kelopak bunga rosella.



Gambar 2. Grafik kadar SGPT, SGOT dan ALP kelompok satelit

Hasil ANOVA pada kadar SGOT, SGPT dan ALP yang tidak menunjukkan adanya perbedaan kadar yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok tikus kontrol dengan kelompok perlakuan ekstrak kelopak bunga rosella dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB, sehingga dapat dikatakan semua hewan uji memiliki kondisi yang sama. Kadar ALP pada tikus yang diberikan ekstrak kelopak bunga rosella dengan variasi dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB terjadi kenaikan sebanding dengan dosis yang diberikan, tetapi kenaikan kadar tersebut tidak signifikan. Aktivitas SGOT, SGPT dan ALP dibandingkan dengan kadar normal, terlihat bahwa kadar SGOT, SGPT dan ALP setiap kelompok

berada pada rentang normal. Hasil penelitian toksikologi menunjukkan bahwa ada peningkatan aktivitas SGOT dan SGPT pada kelompok yang diberikan ekstrak metanol-air rosella selama 10 dan 15 hari. (Akindahunsi dan Olaleye, 2003). Penelitian toksisitas subkronik ekstrak air rosella dengan dosis 50 dan 200 mg/kg BB menunjukkan peningkatan SGOT dan SGPT yang signifikan (Sireeratawong *et al.*, 2013)

Pengukuran aktivitas SGOT, SGPT dan ALP pada kelompok V dan VI dilakukan pada hari ke-43 setelah pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella selama 28 hari dan 14 hari selanjutnya diberikan aquadest secara peroral. Hasil

pengukuran SGPT secara rinci dapat dilihat pada Tabel II serta disajikan pada Gambar 2.

Pada hari ke-43 dilakukan pengukuran kadar SGOT, SGPT dan ALP untuk kelompok satelit (kontrol dan dosis 200 mg/kgBB). Pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella selama 28 hari dan dilanjutkan pengamatan selama 14 hari tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol satelit. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik yang tertunda karena pemberian ekstrak kelopak bunga rosella. Rosella memiliki efek hepatoprotektor dan antioksidan pada tikus Wistar yang diinduksi CCl₄ dan diberikan ekstrak metanol rosella dalam dosis 50 dan 100 mg/kg BB dapat meningkatkan enzim SGOT, SGPT serta ALP (Adetutu *et al.*, 2013). Pemberian jangka panjang ekstrak etanol kelopak bunga rosella tidak menyebabkan perubahan pada kadar SGOT, SGPT dan ALP.

KESIMPULAN

Hasil pemberian subkronik ekstrak etanol kelopak bunga rosella dilihat dari kadar SGPT, SGOT dan ALP tidak menimbulkan toksisitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditjen DIKTI atas pembiayaan melalui Hibah Penelitian TIM Pascasarjana.

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 and Medical Research*, 3(4), 1574.
- Ajay, M., Chai, H.J., Mustafa, A.M., Gilani, A.H. and Mustafa, M.R., 2007. Mechanisms of the anti-hypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(3), 388-393.
- Akindahunsi, A.A. and Olaleye, M.T., 2003. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus*

sabdariffa L. *Journal of ethnopharmacology*, 89(1), 161-164.

- Ali, B.H., Wabel, N.A. and Blunden, G., 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytotherapy research*, 19(5), 369-375.
- BPOM RI, 2014, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis secara *In Vivo*, BPOM RI, Jakarta.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- Chen, C.C., Hsu, J.D., Wang, S.F., Chiang, H.C., Yang, M.Y., Kao, E.S., Ho, Y.C. and Wang, C.J., 2003. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5472-5477.
- Odigie, I.P., Ettarh, R.R. and Adigun, S.A., 2003. Chronic administration of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2), 181-185.
- Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chavez-Soto, M.A. and Tortoriello, J., 2004. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. *Phytomedicine*, 11(5), 375-382.
- Kao, E.S., Hsu, J.D., Wang, C.J., Yang, S.H., Cheng, S.Y. and Lee, H.J., 2009. Polyphenols extracted from *Hibiscus sabdariffa* L. inhibited lipopolysaccharide-induced inflammation by improving antioxidative conditions and regulating cyclooxygenase-2 expression. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(2), 385-390.

- Lim, Y. Y., & Murtijaya, J., 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT-Food Science and Technology*, 40(9), 1664-1669.
- Nurkhasanah, Rahardhian M.R.R, 2015. Hepatoprotective Effect Of *Hibiscus Sabdariffa* L Extract On 7,12-dimethylbenz(α) antracene (DMBA) Induced Rat t. *International Journal of Biological and Medical Research*.
- Reanmongkol, W. and Itharat, A., 2007. Antipyretic activity of the extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces L. in experimental animals. *Songklanakarin J Sci Technol*, 29(1), 29-38.
- Sari, F., 2016. Toksisitas ekut ekstrak etanol kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan pengaruhnya terhadap fungsi hepar. *Thesis*. Program Pascasarjana Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Sireeratawong, S., Itharat, A., Khonsung, P., Lertprasertsuke, N., & Jaijoy, K., 2013. Toxicity studies of the water extract from the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. in rats. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines: AJTCAM/African Networks on Ethnomedicines*, 10(4), 122–127.
- Suboh, S.M., Bילו, Y.Y. and Aburjai, T.A., 2004. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytotherapy Research*, 18(4), 280-284.