

KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur kehadirat Allah SWT, Media Farmasi Vol. 11 No.2 Tahun 2014 telah terbit.

Pada edisi ini, Jurnal Media Farmasi menyajikan artikel yang semuanya merupakan hasil penelitian. Sembilan artikel dari luar Fakultas Farmasi UAD membahas, (1) Studi pengguna spektrofometri inframerah dan kemometrika (2) Optimasi formula matrik *patch* mukoadhesif ekstrak daun sirih (*Piper batle L.*) (3) Pengembangan *basic cold cream* ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) (4) Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik berbagai jenis sayuran (5) Layanan pesan singkat pengingat (6) Pola persepan antiemetik pada penderita dispepsia pasien dewasa dan lanzia (7) Evaluasi kepatuhan pasien diabetes melitus tipe 2 (8) Pengaruh pengetahuan dan sikap orang tua terhadap swamedikasi obat demam pada anak. Tiga artikel dari penelitian Fakultas Farmasi UAD yang membahas tentang : (1) Penggunaan antibiotik pada pasien leukemia akut dewasa (2) Formula granul kombinasi ekstrak terpurifikasi herba pegagan (*Centella asiatica (L) Urban*) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata (Burm.f.)Ness*) (3) efek ekstrak etanol kelopak rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*).

Harapan kami, jurnal ini dapat bermanfaat bagi pembaca atau menjadi referensi peneliti lain. Kritik dan saran membangun, senantiasa kami terima dengan tangan terbuka.

Dewan editor

**EFEK EKSTRAK ETANOL KELOPAK ROSELLA
(*Hibiscus sabdariffa* L.) TERHADAP SEKRESI *NITRIT OXIDA*
(NO) MAKROFAG PERITONEUM TIKUS YANG DIINDUKSI
7,12-dimethylbenz(α)antracene (DMBA)**

**THE EFFECT OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.) CALYX
ETHANOLIC EXTRACT ON THE SECRETION OF *NITRIT OXIDE*
(NO) OF PERITONEAL MACROPHAGE OF *7,12-*
dimethylbenz(α)antracene (DMBA) INDUCED RATS**

Nurkhasanah, Lovrina Rahmi Zulkarmen

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta, Telp. (0274) 379418
Email: nurkhas@gmail.com

ABSTRAK

Sistem imun merupakan sistem perlindungan tubuh terhadap penyakit. Senyawa DMBA dilaporkan memiliki efek immunosupresif. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek ekstrak etanol kelopak rosella terhadap sekresi Nitrit Oxide makrofag tikus SD yang diinduksi DMBA. Tikus jantan galur SD sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus, kelompok I (normal) yang hanya diberi makan dan minum saja, kelompok II diberi DMBA 15 mg/tikus dan kelompok III, IV, V sebagai kelompok perlakuan yaitu diberi ekstrak etanol kelopak rosella dengan dosis 10 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB per oral. Setelah diberikan perlakuan, 5 ekor tikus pada masing-masing kelompok dibedah dan uji sekresi NO makrofag. Sekresi NO dilakukan dengan metode *Griess assay*. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kolmogorof Smirnov, kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA dan uji *post hoc* LSD untuk melihat kelompok mana saja yang menunjukkan perbedaan yang bermakna. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa terjadi pada kelompok DMBA terjadi penurunan sekresi NO dibandingkan normal. Perlakuan ekstrak rosella meningkatkan sekresi NO setelah perlakuan DMBA. Dosis ekstrak etanol kelopak rosella yang paling efektif dalam meningkatkan sekresi NO makrofag yaitu pada dosis 50 mg/kgBB.

Kata kunci : DMBA, sistem imun, Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), Nitrit oksida (NO).

ABSTRACT

The immune system is the body's protection against disease. DMBA compounds reported to have immunosuppressive effects. The purpose of this research was to determine the effects of roselle calyx ethanol extract of the secretion of Nitric Oxide DMBA-induced rat macrophages. SD strain male rats by 25 tails divided into 5 groups, each group consisted of 5 rats, group I (normal) were only given food and drink alone, the second (II) group was given 15 mg DMBA/rat and group III, IV, V as a treatment group that was given roselle calyx ethanol extract at a dose of 10 mg/kgBB, 50 mg/kgBB and 100 mg/kgBB orally. After being given the treatment, 5 rats in each group dissected and macrophage NO secretion test. NO secretion was conducted by Griess assay. Data were analyzed with Kolmogorof Smirnov test, followed by ANOVA and post hoc LSD test to see which groups showed no significant differences. The research found that DMBA treatment decrease the NO secretion compare to normal group. Treatment rosella extract increase the NO secretion. The dose 50mg/kg BW was found to be the most effectife dose on increasing the secretion of NO.

Keywords: DMBA, immune system, Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), Nitric oxide (NO)

PENDAHULUAN

Sistem imun adalah sistem yang digunakan tubuh sebagai perlindungan diri terhadap bahaya yang ditimbulkan oleh lingkungan hidup (Baratawidjaja, 2006). Sistem imun terbagi menjadi sistem imun spesifik dan sistem imun non spesifik (Kresno, 2001). Pada sistem imun non spesifik terdapat sel-sel yang berperan salah satunya adalah makrofag. Makrofag sebagai efektor pada sistem imun, berperan memusnahkan kuman atau patogen yang akan merusak tubuh (Harijanto, 2000), baik melalui mekanisme fagositosis intraseluler langsung maupun melalui mekanisme tak langsung dengan melepaskan Nitrit oxide (NO), Reactive Oxygen

Intermediate (ROI) dan sitokin (Wijayanti, 2000).

Nitrit oksida (NO) merupakan suatu radikal bebas yang disintesa oleh enzim *Nitric Oxide Synthase* (NOS) melalui reaksi yang kompleks. *Nitric Oxide* mempunyai banyak manfaat bagi tubuh, salah satu yang terpenting adalah peranannya dalam sistem imun tubuh (Idhayu, 2006).

Senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun disebut dengan imuno stimulansia. Imuno stimulansia dapat diperoleh dari tanaman, salah satu jenis tanaman yang dimanfaatkan untuk meningkatkan sistem imun adalah Rosella (*Hibiscus sabdarifa* L.). Ekstrak etanol kelopak rosella sebagai upaya pengobatan telah dibuktikan dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag,

jumlah sekresi NO, sekresi ROI, dan ekspresi IL-12 makrofag peritoneum tikus SD yang diinduksi DMBA (Akuba, 2013) pada tikus immunedepresi akibat radikal bebas. Penelitian ini akan melihat efek protektif dari pemberian rosella, sehingga rosella diberikan terlebih dahulu kemudian tikus diperlakukan DMBA.

Senyawa DMBA merupakan zat kimia yang termasuk dalam *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) (Budi dan Widyarini, 2010). Pembentukan metabolit DMBA melibatkan enzim sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) dan enzim mikrosomal hidrolase pada metabolisme fase I merubah DMBA menjadi DMBA-DE yang bersifat immunosupresif (Hamid dkk, 2009).

Induksi DMBA pada tikus dapat menurunkan jumlah makrofag peritoneal. Jika jumlah makrofag peritonealnya menurun, maka sekresi NO akan mengalami penurunan sehingga dapat menurunkan sistem imun. Torroella-Kouri dkk. (2009) telah melaporkan bahwa induksi DMBA menghambat ekspresi iNOS, menghambat sekresi NO dan sekresi IL-12 oleh makrofag, maka penelitian ini dirancang untuk mengetahui lebih dalam efek ekstrak kelopak rosella sebagai terapi pencegahan (preventif) terhadap sekresi Nitrit Oksida (NO) makrofag peritoneum tikus yang diinduksi DMBA.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) yang diperoleh dari Jawa Timur.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague Dawley* yang berumur kurang lebih 1,5 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) Yogyakarta.

Pembuatan Ekstrak Etanol Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*)

Sebanyak 1500 gram serbuk kelopak bunga rosella diekstraksi dengan pelarut etanol 60% 7500 ml (1:4) menggunakan metode maserasi dengan pengadukan selama kurang lebih 3 jam, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 60 °C dan dipisahkan di atas *waterbath* dengan suhu 60-70 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol kelopak bunga rosella ditimbang dan dihitung rendemennya.

Perlakuan Hewan Uji

Tikus SD sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor

tikus. Seluruh hewan uji diadaptasikan selama 1 minggu.

Kelompok I adalah kelompok *base line* atau normal yaitu tikus hanya diberi makan dan minum saja. Kelompok II adalah kelompok dengan pemberian DMBA dalam minyak jagung dengan dosis 15 mg/ekor secara *single dose*.

Kelompok III, IV dan V adalah kelompok dengan pemberian ekstrak etanol kelopak rosella dengan variasi dosis yaitu masing-masing 10mg/kgBB, 50mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB per oral dan DMBA dalam minyak jagung dengan dosis 15 mg/ekor secara *single dose*. Pada kelompok perlakuan ini terlebih dahulu masing-masing kelompok hewan uji diberikan ekstrak etanol kelopak rosella sesuai dengan dosis masing-masing kelompok selama 3 minggu dan diinduksi DMBA pada hari ke-22.

Setelah induksi, tikus pada setiap kelompok dibiarkan hidup selama 1 minggu dengan pemberian makan dan minum saja. Tikus ditimbang seminggu sekali untuk mengetahui perkembangan berat badan. Pada hari ke 30, lima ekor tikus pada masing-masing kelompok dibedah dan dilakukan uji sekresi NO makrofag.

Isolasi dan kultur makrofag

Semua kelompok hewan uji dibunuh dengan narkose menggunakan kloroform. Tikus diletakkan pada posisi telentang,

kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan selubung peritoneumnya dengan alkohol 70%, kemudian disuntikkan 10 ml medium RPMI dingin ke dalam rongga peritoneum, ditunggu selama 3 menit sambil digoyang-goyang perlahan. Cairan peritoneum dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan cara menekan rongga dengan 2 jari, cairan diaspirasi dengan spuit injeksi, dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus. Aspirat yang terkumpul dalam spuit injeksi dikumpulkan dan dimasukkan dalam wadah sesuai dengan kelompok (tanpa induksi DMBA dan induksi DMBA). Jumlah sel dihitung dengan *haemocytometer* dan ditentukan viabilitasnya, ditambahkan medium komplit sehingga didapatkan suspensi sel dengan kepadatan $2,5 \times 10^6$ ml/Suspensi sel ditumbuhkan dalam *mikrokultur* 24 sumuran. Setiap sumuran diisi 200 μ l (5×10^5 sel). Sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% selama 30 menit, ditambahkan medium komplit tiap sumuran dan diinkubasi sampai 24 jam. (Wijayanti, 2000). Diambil 100 μ l tiap sumuran, untuk dilakukan uji NO.

Determinasi NO

Pembuatan kurva baku nitrit oksida

Larutan Griess A dibuat dengan melarutkan 0,1 gram N-(1-naphthyl) ethylene diamin ehydrochloride (SigmaN, 5889) dalam 100 ml aquadest. Disimpan

pada suhu 0-4 °C, terlindung dari cahaya. Larutan Griess B dibuat dengan melarutkan 1 gram sulfanilamide (Sigma N 5589) dalam 100 mL 5% (v/v) orthophosphoric acid. Simpan pada suhu 0-4 °C, terlindung dari cahaya.

Nitrit standard dibuat dengan melarutkan 69,0 mg sodium nitrate dalam 100 ml aquadest. Disimpan pada suhu 0-4 °C, terlindung dari cahaya, buat larutan standar dari stock ini antara 0-50 uM nitrit. Sebanyak 100 uL sampel dan nitrit standard dimasukkan dalam *96-well mikrotiter plate*, jika kurang dari 100 uL sampel yang digunakan maka volume dinaikkan hingga 100 uL dengan air atau medium. Ditambahkan 100 uL larutan griess dan inkubasi pada temperatur kamar selama 15 menit hingga terjadi perubahan warna. Setelah semua sampel dan standar dimasukkan dalam *microtiter plate*, diukur absorbansinya dengan menggunakan alat ELISA reader. Ukuran absorbansi untuk sampel dan standar adalah 540 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

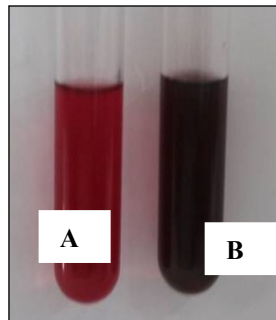
Analisis Kadar Fenolik

Kualitatif

Hasil uji polifenol menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga rosella yang digunakan pada penelitian positif mengandung senyawa polifenol. Hasil uji

polifenol dapat dilihat pada gambar 1.

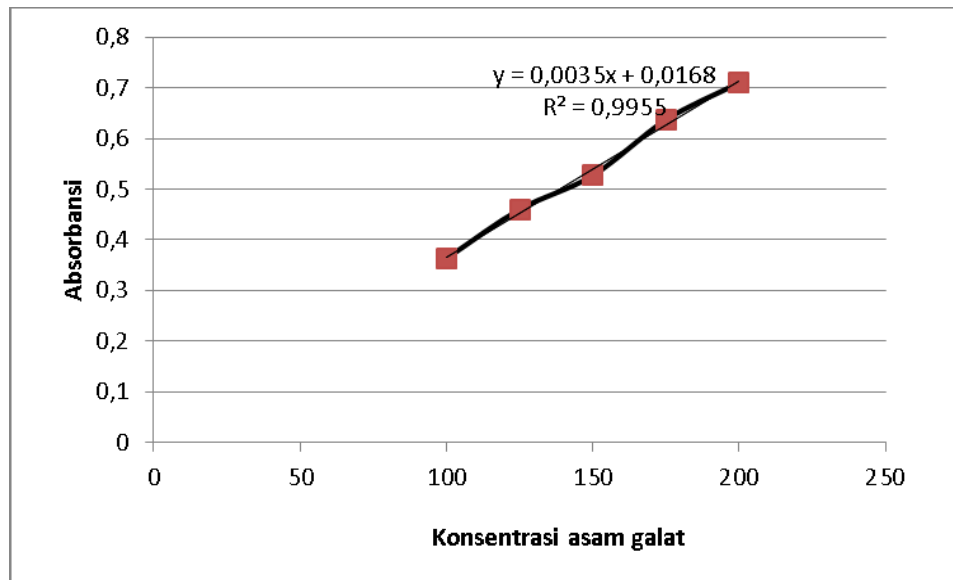
Uji polifenol dimaksudkan untuk memastikan adanya senyawa polifenol dalam ekstra ketanol kelopak rosella. Penetapan kadar polifenol dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Setelah dilakukan pengujian didapatkan operating time 57-77 menit, dan panjang gelombang maksimal 780. Pada penentuan kadar fenolik total, larutan standar yang digunakan adalah asam galat asam 3,4,5-trihidroksi benzoat ($C_6H_2(OH)_3CO_2H$) dengan variasi konsentrasi yaitu 100, 125, 150, 175, dan 200 µg/ml. Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena merupakan salah satu jenis senyawa fenolik. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel I.



Gambar 1. Hasil Uji Kualitatif dengan Penambahan FeCl_3 ; a) Filtrat EEKR sebelum ditambah FeCl_3 ; b) Filtrat EEKR setelah ditambah FeCl_3 Kuantitatif

Tabel I. Kurva baku larutan standar asam galat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
100	0,363
125	0,460
150	0,527
175	0,637
200	0,710



Gambar 3. Kurva baku penetapan kandungan fenolik total menggunakan standar asam galat

Berdasarkan data diatas dibuat kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar asam galat dengan absorbansi dan dicari persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang diperoleh, $y = 0,003x +$

$0,016$ dan $R = 0,997$, dimana $x =$ konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan $y =$ absorbansi, R tabel dengan $N = 5$ yaitu $0,878$. Dikatakan persamaan yang linear, jika R hitung lebih besar dari R tabel, dari data diperoleh

Rhitung $>R_{tabel}$ yaitu $0,997 > 0,087$, sehingga persamaan linear. Hasil pengukuran kandungan fenolik total ekstrak etanol kelopak bunga rosella dapat dilihat pada Tabel II.

Kandungan fenolik total rata-rata EEKR diperoleh kadar sebesar 2,3399 gram GAE/100g ekstrak. Kadar yang didapat berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan Apsari (2011) memperoleh kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak rosella merah adalah $1,568 \pm 0,031$ gram GAE/100g ekstrak. Perbedaan perolehan kadar ini dapat terjadi karena perbedaan tempat tumbuh, kondisi iklim bunga rosella yang digunakan dalam penelitian sehingga kandungan zat aktif yang diperoleh berbeda.

Uji Sekresi NO

Uji sekresi NO dilakukan untuk mengetahui efek preventif pemberian ekstrak rosella terhadap sekresi NO makrofag peritoneum tikus untuk menanggulangi immunosupresi akibat radikal bebas. Sekresi NO diuji dengan *griess reaction assay* yang menghasilkan warna merah

muda yang kemudian diukur absorbansinya dengan *Elisa Reader*

Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur SD yang memiliki sensitifitas sangat tinggi terhadap karsinogen DMBA. Tikus yang digunakan berumur 1,5 bulan karena merupakan periode yang paling sensitive untuk karsinogenesis (Kubatka, 2002).

Kemampuan makrofag peritoneum tikus SD dalam mensekresi NO diuji dengan *griess reaction assay* yang menghasilkan warna merah muda yang kemudian diukur absorbansinya dengan *ELISA Reader*. Pada metode ini nitrit direaksikan dengan reagen diazotasi yaitu sulfanilamide dalam suasana asam membentuk garam diazonium. Garam diazonium ini kemudian bereaksi dengan reagen kopling yaitu *N-naphthylethylendiamine* menjadi bentuk azo yang stabil. *Griess Reaction Assay* akan menghasilkan warna merah muda yang intensif. Absorbansi nitrit ini dibaca pada panjang gelombang 550 nm (Sun *et al.*, 2003; Stevenson *et al.*, 2005).

Sekresi NO oleh makrofag dihitung dengan membandingkan dengan kurva baku NO pada tabel III

Tabel II. Hasil penetapan kandungan fenolik total ekstrak etanol kelopak bunga rosella.

Replikasi sampel	Absorbansi	X ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar fenolik total (g GAE/100 g ekstrak)	X \pm SD
1	0,412	116,23	2,3236	2,3399 \pm 0,0316
2	0,409	115,35	2,3056	
3	0,417	117,70	2,3538	
4	0,421	118,88	2,3769	

Tabel III. Kurva baku larutan standar nitrit

Konsentrasi Nitrit Standar (μM)	Absorbansi
50	2,684
25	1,485
12,5	0,787
6,25	0,426
3,125	0,224

Tabel IV. Kadar sekresi NO makrofag peritoneum tikus SD yang diinduksi DMBA dan diberi perlakuan ekstrak etanol kelopak rosella (EEKR)

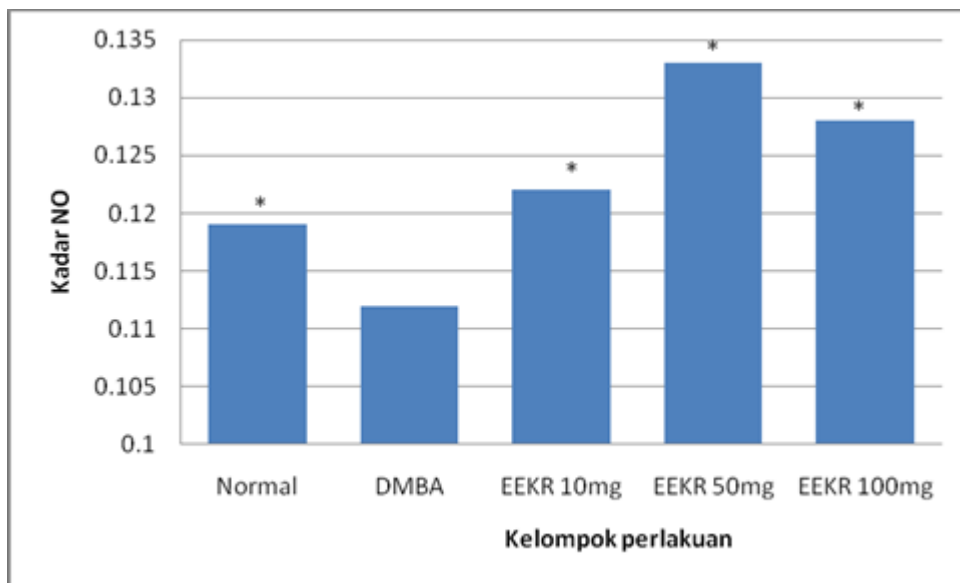
Kelompok	Replikasi		Rata-rata		SD
Normal	0,118	0,122	0,119	0,119	0,0020
DMBA	0,112	0,113	0,111	0,112	0,0010
EEKR 10mg	0,122	0,119	0,125	0,122	0,0030
EEKR 50mg	0,132	0,135	0,134	0,133	0,0015
EEKR 100mg	0,127	0,123	0,134	0,128	0,0055

Dari hasil kurva baku pada tabel III dihitung regresi linear antara absorbansi versus konsentrasi nitrit standar, diperoleh persamaan regresi linear sebagai berikut $Y = 19,09x - 2,04$, dengan nilai $R = 0,998$. Dari persamaan regresi linear tersebut akan didapatkan kadar sekresi NO makrofag peritoneum tikus SD pada setiap kelompok perlakuan.. Data aktivitas sekresi NO dapat dilihat pada tabel IV.

Hasil penelitian pada uji *Kolmogorof-Smirnof* menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$) yaitu 0,955 dan pada uji homogenitas varian dengan uji *Levene* menunjukkan data terdistribusi homogen ($p > 0,05$) yaitu sebesar 0,146. Analisis dilanjutkan dengan uji ANOVA dan uji LSD untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok. Hasil

menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok DMBA dengan kelompok normal dan kelompok variasi dosis.

Jika dilihat gambar 4, dapat terlihat bahwa semua kelompok variasi dosis dan kelompok normal memiliki rata-rata sekresi NO yang berbeda signifikan dengan kelompok DMBA ($p < 0,05$). Pemberian DMBA menimbulkan efek immunosupresi secara signifikan, kadar NO pada kelompok DMBA lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kadar NO pada kelompok normal. Selain itu, perlakuan ekstrak rosella pada semua dosis perlakuan meningkatkan kadar NO secara signifikan dibandingkan kelompok DMBA. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak rosella dapat meningkatkan sekresi NO pada kondisi immunosupresi



Ket : *berbeda signifikan dengan kelompok DMBA ($p < 0,05$)

Gambar 4. Grafik rata-rata sekresi NO makrofag peritoneum tikus SD yang diinduksi DMBA dan diberi perlakuan ekstrak etanol kelopak rosella

Untuk mengetahui dosis EEKR yang mampu mengembalikan sekresi NO menjadi normal, maka kelompok variasi dosis dibandingkan dengan kelompok normal. Secara umum, diperoleh rata-rata dari kelompok variasi dosis lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok normal, walaupun pada dosis 10 mg/kgBB setelah dilakukan uji statistik didapatkan signifikansi yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal yaitu $p = 0,376 > 0,05$, ini dapat disimpulkan bahwa EEKR dengan dosis 10 mg/kgBB dapat menormalkan sekresi NO makrofag.

Pada dosis 50 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB setelah dilakukan uji statistik didapatkan signifikansi yang berbeda signifikan dengan kelompok normal yaitu

masing-masing $p = 0,000$ dan $p = 0,008 < 0,005$. Dari data tersebut maka pada dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB mampu meningkatkan sekresi NO melebihi normal.

Gambar 4 juga menunjukkan bahwa pada perlakuan pada rentang dosis yang diberikan 10-100 mg/kg BB, diketahui perlakuan dengan dosis 100mg/kgBB memberikan efek peningkatan lebih kecil dibandingkan dengan dosis 50 mg/kg BB. Maka dapat disimpulkan bahwa dosis 50 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif untuk meningkatkan sekresi NO.

Juliyanti Akuba (2013) dalam penelitiannya juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol kelopak rosella dosis 10 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB sebagai upaya pengobatan dapat

meningkatkan sistem imun yang ditandai dengan meningkatnya aktifitas fagositosis, sekresi NO, sekresi ROI dan ekspresi IL- 12 pada makrofag tikus SD yang telah diinduksi DMBA. Sedangkan kelompok yang diinduksi DMBA dapat menurunkan aktifitas fagositosis, sekresi NO, sekresi ROI dan ekspresi IL- 12 pada makrofag sehingga dapat menurunkan sistem imun.

Pemberian ekstrak etanol kelopak rosella dapat meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis makrofag dengan pemberian ekstrak etanol kelopak rosella dan terjadi penurunan pada kelompok induksi DMBA. Ekstrak etanol kelopak rosella juga dapat meningkatkan sekresi ROI, bahwa pada pemberian ekstrak etanol kelopak rosella terjadi peningkatan persentase sekresi ROI dan penurunan persentase sekresi ROI pada kelompok induksi DMBA, pada uji sekresi ROI ini diperoleh dosis yang paling efektif yaitu dosis 10 mg/kgBB.

Nitrit Oxida (NO) mempunyai banyak manfaat bagi tubuh, salah satu yang terpenting adalah peranannya dalam sistem imun tubuh. *Nitrit Oxide* ikut membantu melindungi tubuh dari bakteri yang masuk melalui saluran pencernaan (Idhayu, 2006) dan merupakan efektor anti bakterial yang efektif dalam sistem imunitas tubuh.

Senyawa NO bersifat toksik dan berumur pendek, berupa molekul gas yang diproduksi oleh iNOS (Oca dkk, 2005). Adanya variasi dosis dalam penelitian ini dilakukan untuk melihat dosis mana yang paling efektif untuk meningkatkan sekresi NO makrofag pada tikus yang diinduksi DMBA.

Secara biokimia aktivitas imunostimulator yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol kelopak rosella mungkin disebabkan oleh kompleks fenol dengan protein atau masing-masing komponen tersebut yang berperan sebagai imunogen. Kompleks fenol dan protein ini akan berikatan dengan reseptor permukaan sel makrofag (TLR). Hal ini dapat memacu aktivitas makrofag sehingga dapat meningkatkan sekresi *Nitrit Oxide* dan *Reactive Oxygen Intermediate* yang merupakan komponen sistem imun nonspesifik. Kompleks fenol dengan protein juga dapat meningkatkan sistem imun spesifik dengan perantara NO yang dilepaskan oleh makrofag. NO yang dilepaskan oleh makrofag, dapat berdifusi masuk kedalam sel limfosit T dan meningkatkan proliferasi limfosit T (Betteli dkk., 2005). Secara umum dapat disimpulkan hasil penelitian ini telah menunjukkan bahwa ekstrak etanol kelopak rosella sebagai terapi pencegahan telah mampu meningkatkan sekresi NO makrofag peritoneum tikus SD yang diinduksi DMBA.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kelopak rosella dapat meningkatkan sekresi NO makrofag peritoneum tikus SD yang diinduksi DMBA, dengan dosis 50mg/kg BB adalah dosis efektif untuk peningkatan sekresi NO.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan UAD, atas bantuan biaya penelitian yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akuba, J., 2013, Efek Ekstrak Etanol Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Terhadap Aktifitas Fagositosis, Sekresi NO, Sekresi ROI dan Ekspresi IL-12 Makrofag Tikus Sprague Dawley yang di induksi DMBA, *Tesis*, Program Pasca Sarjana Unuversitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Apsari, P.D., 2011, Perbandingan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak merah dan ungu bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) secara spektrofotometri, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Baratawidjaja, K.G., 2006, *Imunologi Dasar*, Edisi 7, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Umum Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bettelli, E., Dastrange, M., Oukka, M., 2005, Foxp³ interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells, *Proc Natl Acad Sci.* 102(14): 5138-43
- Budi, R, T dan Widyarini, S., 2010, Dampak Induksi Karsinogenesis Glandula Mammae dengan 7, 12-dimetilbenz(a)antrasen terhadap Gambaran Histopatologis Lambung Tikus *Sprague Dawley*, *J Vet* Vol. 11 No. 1: 17-23.
- Hamid, S., Iwan., Sugiyanto., Meiyanto, E., Widyarini., 2009, Ekspresi CYP1A1 dan GST μ hepatosit terinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena dan pengaruh pemberian ekstrak etanolik *Gynura procumbens*, *MFI*, 20(4), 198-206.
- Harijanto, P.N., 2000, *Malaria Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganannya*, EGC, Jakarta.
- Idhayu, A., 2006, Pengaruh Pemberian polifenol Teh Hijau Terhadap sekresi *Nitrit Oksida* (NO) Sel Fagosit, *Karya Tulis Ilmiah*, Fakultas Kedokteran UNDIP, Semarang.
- Kresno, S, B., 2001, *Imunologi*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

- Kubatka, P., Ahlersova E., Ahlers, I., Bojkova, B., Kalicka, K., Adamekova, E., Markova, M., Chamilova, M., and Cermakova, M., 2002, Variability of Mammary Carcinogenesis Induction in Female *Sparague-Dawley* and Wistar: Han Rats: the effect of Season and Age, *Physiol. Res.* 51: 633-40
- Oca, MM., Torres, SH., Santics, D., Mata, A., Hernandez, N., Talano C., 2005, Sceletal muscel inflammation and nitric oxide in patients with COPD, *Eur Respir J.* Vol.26 no. 3. 390-397.
- Stevenson, L.M., Mathias, A., Banbury, L., Penman, K.G., Bone, K.M., Leach, D., Leachman, R.P., 2005, Modulation of Macrophage Immune respons by Echinacea, *Molecule*, 10, 1279-1285.
- Sun, J., Zhang, X., Broderick, M., Fein, H., 2003, Measurement of Nitirc Oxide Production in Biological System by Using Griess Reaction Assay, *Sensors*, 3, 276-284.
- Torroella-Kouri, M., Silvera, R., Rodriguez, D., Caso, R., Shantry, A., Opiela, S., Ilkovitch, D., Schwendener, RA., Iragavarapu-Charyulu, V., Cardentey, Y., Strbo, N., Lopez, DM., 2009, Identification of a subpopulation of macrophages in mammary tumor-bearing mice that are the neither M1 nor M2 and are less differentiated, *Cancer Res.* 69(11): 4800-9.
- Wijayanti, M.W., 2000, Sekresi Reactive Oxygen Intermediates oleh Makrofag Peritoneum Mencit yang Diimmunisasi Selama Infeksi *Plasmodium berghei*, *BIK*, 32, 77-