

**LAPORAN PENELITIAN  
DOSEN MUDA**



**EFEK PENGHAMBATAN BUNGA ROSELLA MERAH (*Hibiscus  
sabdariffa* Linn) SEBAGAI ANTI ATEROSKLEROSIS TERHADAP  
AKTIFASI  $NF-\kappa\beta$  PADA KULTUR SEL ENDOTHEL YANG DIPAPAR  
LOW DENSITY LIPOPROTEIN TEROKSIDASI**

Oleh :  
Dyah Widowati, SKM  
Dwi Sarbini, SST, M.Kes

DIBIYAI OLEH KOORDINASI PERGURUAN TINGGI SWASTA WILAYAH VI SEMARANG  
DENGAN SURAT PERJANJIAN NO 019/006.2/PP/KT/2009, TERTANGGAL 16 MARET 2009  
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI  
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL


**JURUSAN GIZI FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SEPTEMBER, 2009**

## HALAMAN PENGESAHAN

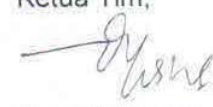
1. Judul Penelitian : Efek Penghambatan Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) sebagai Anti aterosklerosis terhadap aktivasi  $\text{nf-}\kappa\beta$  pada kultur sel endothel yang dipapar *low density lipoprotein* teroksidasi
2. Bidang Penelitian : Kesehatan
3. Ketua Peneliti
  - a. Nama Lengkap : Dyah Widowati, SKM
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. NIP : 798
  - d. Disiplin Ilmu : Biomedik Gizi
  - e. Pangkat/Golongan : IIIA/Asisten Ahli
  - f. Jabatan : Dosen
  - g. Fakultas/Jurusan : Ilmu Kesehatan/Gizi
4. Jumlah Tim Peneliti : 2 (dua) orang
5. Lokasi Penelitian : Surakarta
6. Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan
6. Biaya : Rp 10.000.000,00

Surakarta, 30 September 2009

Mengetahui,  
Dehan Fakultas Ilmu Kesehatan

  
Arif Widodo, A.Kep., M.Kes.  
NIK. 630

Ketua Tim,

  
Dyah Widowati, SKM.  
NIK. 798

Menyetujui,  
Ketua LPPM UMS

  
Dr. Harun Joko Prayitno  
NIP. 132049998

## RINGKASAN DAN SUMMARY

**Pendahuluan:** Penyakit jantung aterosklerosis saat ini menjadi ancaman global. Melihat patomekanisme aterosklerosis, ox-LDL merupakan salah satu penyebab utama proses atherogenesis diantaranya melalui pembentukan ROS yang akan mengaktifasi NF- $\kappa$ B dan merangsang ekspresi protein TNF- $\alpha$  dan ICAM-1 dan akan memicu terjadinya inflamasi pada aterosklerosis. Bunga Rosella Merah diduga mempunyai efek pada jalur ini, namun hal ini perlu dibuktikan berikut dosis pemberiannya. Bunga Rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) telah dibuktikan invitro dan invivo mempunyai aktifitas antioksidan oleh kandungan senyawa penoliknya (*protocatechuic acid* dan antosianin) dan vitamin C. Mekanisme kerja dari bunga rosella merah pada penghambatan atherogenesis belum banyak diketahui.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dan mekanisme kerja ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* linn) terhadap aktivasi NF- $\kappa$ B yang memediasi terjadinya inflamasi pada aterosklerosis.

**Metode:** Sebagai model penelitian menggunakan kultur sel endotel yang diisolasi dari vena umbilikalis manusia (HUVECs). Kelompok kontrol digunakan HUVECs tanpa paparan ox-LDL untuk kontrol negatif dan HUVECs yang dipapar 40 ug/ml Ox-LDL sebagai kontrol positif. Kelompok perlakuan adalah HUVECs yang dipapar dengan berbagai dosis bunga rosella merah (0.01 mg/ml, 0.005 mg/ml dan 0.001 mg/ml) dan diberikan selama 2 jam sebelum dipapar ox-LDL. Pengukuran aktivasi NF- $\kappa$ B dilakukan setelah 30 menit paparan Ox-LDL menggunakan imunohistokimia. Ekspresi protein TNF- $\alpha$  dan ICAM-1 diukur setelah 24 jam dipapar Ox-LDL menggunakan imunohistokimia.

**Hasil:** Berdasarkan pengukuran aktivasi NF- $\kappa$ B menunjukkan bahwa pemberian LDL teroksidasi pada kelompok kontrol positif yaitu HUVECs yang dipapar Ox-LDL dapat meningkatkan jumlah aktivasi NF- $\kappa$ B 22 kali lipat ( $48.40 \pm 17.84$ ) dibanding kelompok normal yaitu HUVECs tanpa dipapar Ox-LDL ( $2.21 \pm 7.28$ ). Jumlah NF- $\kappa$ B yang teraktivasi pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak bunga rosella Merah dengan berbagai dosis yaitu 0.001 mg/ml, 0.005 mg/ml dan 0.01 mg/ml menurun secara bermakna ( $p < 0.01$ ) berturut-turut 46.7 %, 47.67 %, 48.4 % dibanding pada kelompok yang tidak diberikan ekstrak bunga rosella merah (kontrol positif).

**Kesimpulan:** Berdasarkan analisis ANOVA ( $p < 0.01$ ) terdapat efek penghambatan ekstrak bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* linn) terhadap aktivasi NF- $\kappa$ B yang memediasi terjadinya inflamasi pada aterosklerosis melalui penghambatan aktivasi NF- $\kappa$ B. Berdasarkan analisis korelasi Spearman's ( $p < 0.01$ , Correlation Coeff = -1) terdapat hubungan negatif antara aktivasi NF- $\kappa$ B dengan dosis ekstrak bunga Rosella merah. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar pemberian dosis ekstrak bunga rosella merah pada sel endotel yang telah dipapar Ox-LDL semakin kecil jumlah aktivasi NF- $\kappa$ B.

**Saran:** Untuk penelitian lanjut disarankan pemaafaatan aktifitas aktioksidan bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* linn) dalam menghambat radikal bebas  $H_2O_2$  untuk membuktikan keterlibatan radikal bebas pada aterosklerosis melalui aktivasi NF-

$\kappa\beta$  menggunakan ekstrak murni zat bioaktifnya dan untuk pengukuran aktivasi NF- $\kappa\beta$  *sebaiknya menggunakan* metode EMSA. Dosis yang disarankan untuk pencegahan dan pengobatan aterosklerosis dalam konsumsi diet adalah 0.001 mg/ml atau setara 0.048 gr bahan keringnya dapat berbentuk minuman teh herbal.

## SUMMARY

**Background:** The atherosclerosis disease has recently been a global threat. Seeing the atherosclerosis pathomechanism, Ox-LDL was one of major source of atherogenesis process through the ROS formation as among other which would activate NF- $\kappa$ B and encouraged protein expression (TNF- $\alpha$  and ICAM-1) leading to the occurrence of inflammation in atherosclerosis disease. *Rosela* (*Hibiscus sabdariffa* Linn) was considered having effect on this track, but it still need to be proven together with its dosage. Recent studies indicate that *Rosela* is a tropical plant containing antioxidant, that is polyphenol compound (protocatechuic acid and antocyanin) and ascorbate acid invitro and invivo, and is widely distributed in Indonesia. The work mechanism of the red flower on the atherogenesis inhibition has not been largely known.

**Objective:** This study was aimed at knowing the effect and mechanism of the red Rosella flower (*Hibiscus sabdariffa* Linn) toward the decrease of NF- $\kappa$ B activation that mediated the occurrence of inflammation on atherosclerosis.

**Method:** Cultured endothelial cells or human umbilicalis vein cultured endothelial cells (HUVECs), is used for a model of endothelial cells. On 5 treated groups, that was the group of HUVECs culture without presenting Ox-LDL as negative control; groups with 40 ug/ml Ox-LDL presentation as positive control; groups given the Rosella flower extract with various dosages (0.001 mg/ml, 0.005 mg/ml and 0.01 mg/ml) then being presented Ox-LDL. 40 ug/ml of Ox-LDL is treated on HUVECs to stimulate responds of endothelial cells mimicking atherosclerosis and dyslipidemia condition. The Red Rosella flower in a various dose, and a vehicle for control, were given 2 h before Ox-LDL treatment. The NF- $\kappa$ B activation measured by immunohistochemistry.

**Result:** Based on NF- $\kappa$ B activation measurement show adding of Ox-LDL in groups with 40 ug/ml Ox-LDL presentation can increase NF- $\kappa$ B activation 22 times ( $48.40 \pm 17.84$ ) to compare group of HUVECs culture without presenting Ox-LDL as negative control ( $2.21 \pm 7.28$ ). Total of activation of NF- $\kappa$ B on group that treatment given by Red Rosella flower extract in various dosages (0.001 mg/ml, 0.005 mg/ml and 0.01 mg/ml) can decrease signifinactly ( $p < 0.01$ ), respectively 46.7 %, 47.67 %, 48.4 % to compare positive control group that is not added with Red Rosella flower extract.

**Conclusion:** The red rosella flower treatment on Ox-LDL-treated HUVECs, in adequate dose, may result in prevention NF- $\kappa$ B activation of in respond to Ox-LDL treatment, is (0.001 mg/ml, 0.005 mg/ml and 0.01 mg/ml) dosages. By correlation Spearman`s ( $p=0.01$ , Correlation Coeff= -1), there is negative correlation between NF- $\kappa$ B activation in positive control groups and groups given the Red Rosella tea extract with various dosages. It points out that the more doses of tea extract given on endothelial cell exposed in Ox-LDL, the less activation of NF- $\kappa$ B.

**Recomendation:** This study may contribute a benefit for prevention and medication for atherosclerosis disease progression in the future, particulary inhibition of free radical ( $H_2O_2$ ) with pure bioactive extract (great culture) and quantitative methods

like EMSA . The red Rosella Tea with 0.001 mg/ml or 0.048 g dried calyx can use consumption of diet for antiatherosclerosis.

## PRAKATA

*Alhamdulillahirobbil'alamin*, mengiringi terselesaikannya penyusunan laporan penelitian dosen muda dengan judul “Efek Penghambatan Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) sebagai Anti aterosklerosis terhadap aktivasi nf- $\kappa$ B pada kultur sel endothel yang dipapar *low density lipoprotein* teroksidasi”.

Kami menyadari, terselesaikannya penyusunan laporan ini tidak lepas dari bimbingan, arahan, dan partisipasi dari berbagai pihak. Untuk itu kami mengucapkan terimakasih, *jazakumullahu khoironkatsiron* kepada yang terhormat:

1. Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, melalui Rektor dan Lembaga Penelitian UMS yang telah memberikan dukungan dana kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian.
2. Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan UMS dan Ketua Program Studi Gizi yang telah memberikan ijin dan motivasi kepada peneliti selama melaksanakan penelitian.
3. Prof. DR. H. Djanggan Sargowo, Dr., SpPD.,SpJP(K) dan Dr. M. Saifur Rohman, Ph.D yang telah memberikan masukan berharga dan membuka wawasan pemikiran ilmiah dari penulis.
4. Semua laboran yang telah membantu penelitian.
5. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat peneliti sebutkan satu persatu.

Peneliti menyadari bahwa hasil penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu tegur sapa dari berbagai pihak sangat kami harapkan dan hargai, guna perbaikan di masa mendatang. Dipenghujung kata, segala kebenaran hanyalah dari Allah SWT dan hanya kepada Allah SWT peneliti berserah serta berlindung dari segala kekhilafan maupun kesalahan. Semoga penelitian ini bermanfaat. *Amin ya robbal'alamin*.

Surakarta, 30 September 2009

Tim Peneliti

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY .....	iii
PRAKATA .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
BAB I      PENDAHULUAN .....	1
BAB II      TINJAUAN PUSTAKA .....	4
BAB III     TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	16
BAB IV     METODE PENELITIAN .....	17
BAB V      HASIL DAN PEMBAHASAN .....	14
BAB VI     KESIMPULAN DAN SARAN .....	29
DAFTAR PUSTAKA .....	30
LAMPIRAN .....	33



## DAFTAR TABEL

Nomor  
Halaman

- |   |    |
|---|----|
| 1. Efek Pemberian Ekstrak Bunga Rosella Merah ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> Linn)<br>Terhadap Aktifasi NF- $\kappa$ B..... | 24 |
|---|----|

## DAFTAR GAMBAR

Nomor Halaman		
	1. Morfologi Sel Endotel Vena Umbilikalis Manusia Primer Normal Hari Ke-4 Kultur .....	20
	2. Sel Endotel Vena Umbilikalis Manusia Setelah Diinkubasi Ekstrak Bunga Rosella Merah Selama 2 Jam dan Dipapar LDL Teroksidasi Selama 30 Menit Sebelum Dilakukan Pengecatan imunohistokimia.....	22
	3. Hasil Sediaan Sel Endotel dengan Pengecatan Imunohistokimia Untuk Melihat Aktifasi NF- $\kappa$ B.....	23
	4. Diagram Interaksi Perbedaan Rerata Efek Ekstrak Bunga Rosella Merah Terhadap Aktifasi NF- $\kappa$ B.....	24

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Persolia Tenaga Peneliti