

Efek Serbuk Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Ekspresi IL-10 pada Sukarelawan SehatNur Azizah Syahrana^{1*}, Akrom^{1,2}, Endang Darmawan¹¹Pascasarjana Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta²Pusat informasi dan kajian obat, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta

*Corresponding author: nurazizah.syahrana19@gmail.com

Abstract

Background: Rosella calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.) contain phenol and anthocyanin flavonoids that have activity as antioxidants and can stimulate the immune system. **Objective:** The purpose of this study was to investigate the effect of rosella powder capsule on expression IL-10 using pre and post test method on 21 healthy volunteers who fulfilled inclusion criteria and willing to fill informed consent. **Methods:** Volunteers were given rosella powder in capsules form with 500 mg dose for 30 days and IL-10 was examined using flowsitometric method on days 0, 30 and 45. The results were analyzed using SPSS with wilcoxon test. **Results:** The value of IL-10 expression in the 0, 30 and 45 day volunteers were 0.42 ± 0.24 ; 0.83 ± 0.47 and 1.06 ± 0.67 . These results showed that IL-10 expression had an effect on day 0 to 30 ($p < 0.05$) and IL-10 expression did not affect the 30 day of the 45 ($p > 0.05$). **Conclusion:** administration of rosella powder capsules (*Hibiscus sabdariffa* L.) dose 500 mg/day for 30 days increased the expression of IL-10, but within normal limits on healthy volunteers.

Keywords: roselle, IL-10 expression, healthy volunteers**Abstrak**

Pendahuluan: Bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung fenol dan flavonoid antosianin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan dapat meningkatkan sistem imun. **Tujuan:** Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kapsul serbuk bunga rosella terhadap ekspresi IL-10 menggunakan metode *pre and post test* pada 21 sukarelawan sehat yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengisi *informed consent*. **Metode:** Relawan diberikan serbuk rosella dalam bentuk kapsul dengan dosis 500 mg selama 30 hari dan dilakukan pemeriksaan IL-10 menggunakan metode flowsitometri pada hari ke-0, 30 dan 45. Hasil dianalisis menggunakan SPSS dengan uji *wilcoxon*. **Hasil:** Nilai ekspresi IL-10 pada sukarelawan hari ke 0, ke-30 dan ke-45 adalah $0,42 \pm 0,24$; $0,83 \pm 0,47$ dan $1,06 \pm 0,67$. Hasil ini menunjukkan ekspresi IL-10 berpengaruh pada hari ke-0 ke-30 ($p < 0,05$) dan ekspresi IL-10 tidak berpengaruh hari ke-30 ke-45 ($p > 0,05$). **Kesimpulan:** pemberian kapsul serbuk rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dosis 500 mg/hari selama 30 hari meningkatkan ekspresi IL-10, tetapi dalam batas nilai normal pada sukarelawan sehat.

Kata Kunci: rosella, ekspresi IL-10, sukarelawan sehat**PENDAHULUAN**

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) secara empiris berkhasiat sebagai antiseptik, diuretik, meningkatkan daya tahan tubuh, antihipertensi, antikolesterol, antibakteri dan bersifat antioksidan (Hodgson & Kevin, 2006; Kusumastuti, 2014; Rizki dkk., 2017). Rosella memiliki kandungan kimia berupa karbohidrat, asam amino, glikosida, steroid, flavonoid, tanin, fenol, triterpenoid, kuersetin, sianidin, β -karoten, fitosterol, delpinidin, gosiperidin, *hibiscetin*, *hibiscin*, dan *hibiscitrin* (Mahadevan dkk., 2009; Kumar, 2012). Adanya kandungan asam askorbat dan flavonoid

(flavonol dan pigmen antosianin) menjadikan tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan alami yang dapat menangkal berbagai radikal bebas dan memiliki efek sistem imun (imunostimulator) (Mardiyah, 2009). Sistem imun adalah sistem yang digunakan tubuh sebagai perlindungan diri terhadap bahaya yang ditimbulkan oleh lingkungan (Baratawidjaja, 2006). Sistem imun terdiri dari sistem imun spesifik (*imunadaptif*) dan sistem imun non spesifik (*innate* atau *natural immunity*). Sistem imun spesifik diperankan oleh limfosit B dan limfosit T. Sel T terdiri dari Th (helper) subset Th1, dan Th2. Sel-sel Th1

memproduksi IL-2, interferon gamma (IFN- γ) dan *tumor necrosis factor-beta* (TNF- β). Sel Th2 mensintesis interleukin (IL) yakni IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 dan IL-13 yang mengoptimalkan produksi antibodi (Ranieri dkk., 2014). Interleukin adalah bagian dari sistem kekebalan yang disebut sitokin yang mengaktifkan sistem kekebalan tubuh. IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi, berfungsi menghambat produksi beberapa jenis sitokin lain (TNF- α , IL-1, IFN- γ , *chemokine*, dan IL-12) dan menghambat fungsi makrofag dalam membantu aktivasi sel T (Couper dkk., 2008; Niikura dkk., 2011).

Penelitian tentang keamanan rosella dilakukan oleh Sari & Moch. (2016) menyatakan nilai *lethal dose* 50 (LD₅₀) ekstrak etanol rosella sebesar 850,90 mg/KgBB terhadap tikus SD (tergolong dalam toksik ringan, LD₅₀ > 500 - 5000 mg) (BPOM RI, 2014a). Hasil uji praklinik di atas diperlukan untuk melanjutkan ke fase uji klinik (BPOM RI, 2014b) dengan tujuan melihat keamanan dan pengaruh kapsul bunga rosella dosis 500 mg/hari selama 30 hari terhadap ekspresi IL-10 pada sukarelawan sehat.

BAHAN DAN METODE

Bahan

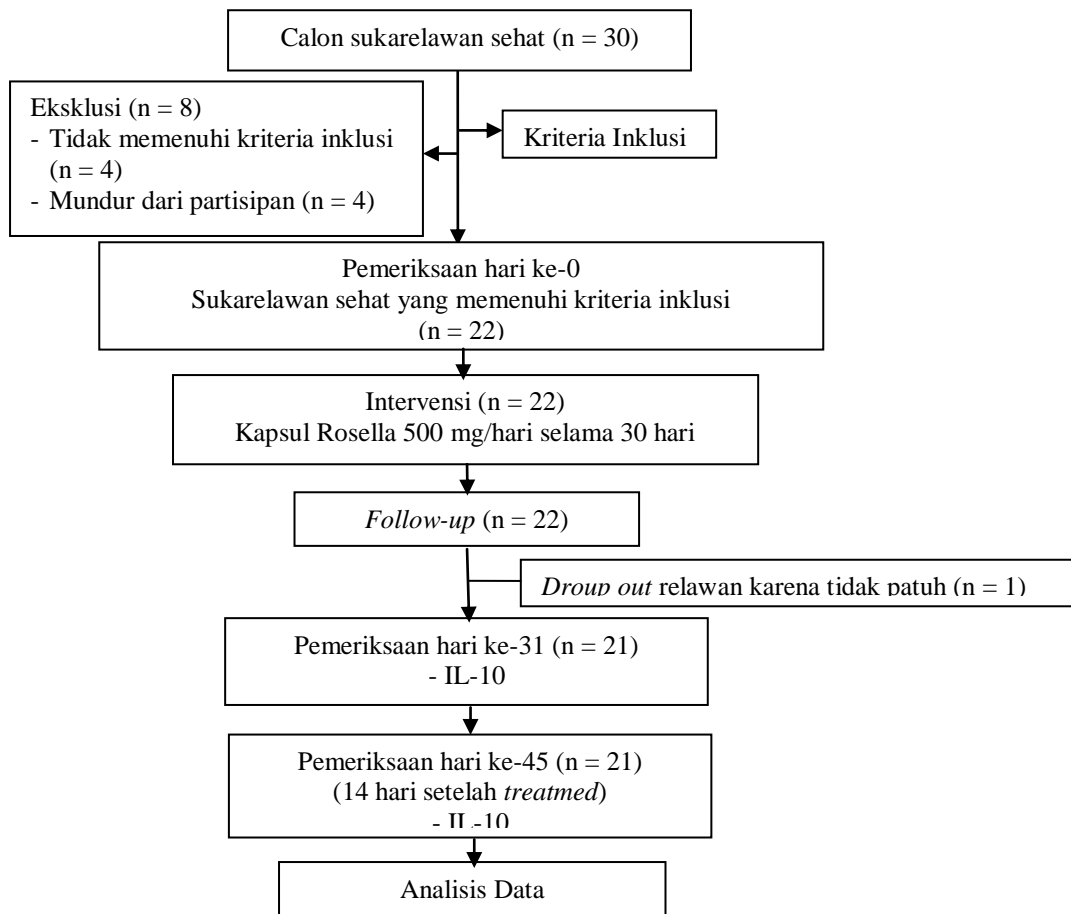
Penelitian ini memperoleh izin dengan terbitnya surat keterangan layak etik (*Ethical Clearance*) bernomor 255/EP-FKIK-UMY/IV/2017. Penelitian ini menggunakan serbuk rosella merah dari PT. Natura (nomor batch: RH162703, kode produk: 5055C).

Alat

Alat untuk pemeriksaan IL-10 *flowcytometri* merek Calibur.

Metode

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan *pre and post test*. Subjek berjumlah 21 orang terdiri 11 orang laki-laki dan 10 orang perempuan yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Serbuk rosella diberikan pada sukarelawan dalam bentuk kapsul dengan dosis 500 mg 1 kali sehari sesudah makan pada malam hari sebelum tidur. Penentuan dosis kapsul rosella berdasarkan penelitian yang dilakukan Nurkhasanah (2015) menyatakan ekstrak etanol rosella dengan dosis 50 dan 100 mg/KgBB berpotensi sebagai agen imunomodulator. Dosis 500 mg yang diperoleh dari konversi dosis tikus ke dosis manusia. Pemberian rosella dilakukan selama 30 hari. *Flowchart* penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Flowchart penelitian

Kriteria inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi sehat dibuktikan dengan pemeriksaan tanda vital didukung oleh pemeriksaan laboratorim klinis meliputi hematologi lengkap, fungsi hati dan fungsi ginjal dan dinyatakan sehat berdasarkan surat keterangan sehat dari dokter, laki-laki dan perempuan usia 18 - 45, IMT 18 - 30 Kg/m², tidak merokok dan bersedia mengisi *informed consent*. Kriteria eksklusi: wanita hamil, tidak minum obat sesuai interval dan petunjuk penggunaan obat, menggunakan herbal lain selama penelitian berlangsung.

Pemeriksaan IL-10

Darah tepi diambil dari *vena cubiti* sebanyak 3 cc. Darah yang sudah terkumpul, ditampung dalam tabung *vacutainer* yang berisi antikoagulan (EDTA). Hasil pengambilan darah relawan pada tabung EDTA dipipet sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam tabung falcon kemudian ditambahkan masing-masing 5 µL reagen antibodi IL-10 PE (*clones: JES3-19F1 antibody*). Campuran tersebut di *vortex* homogeny selama 1 menit, kemudian di inkubasi 15 menit dengan suhu 20 - 25°C (di tempat gelap). Larutan pelisis 50 µL diencerkan 10 x *fluoresce-activated cell sorting* (FACS) dengan aquades sebanyak 450 µL kemudian

dicampur homogen. Setelah masa inkubasi selesai, sampel ditambahkan 450 µL reagen FACS (1x) yang sudah diencerkan, campur homogen kemudian diinkubasi 15 menit dengan suhu 20 - 25°C (di tempat gelap). Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan analisis menggunakan alat FACS *flowcytometer*.

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik untuk melihat adanya perbedaan *pre and post treatment* pada sukarelawan dengan perbandingan antara sebelum dan sesudah pemberian kapsul ekstrak rosella menggunakan SPSS versi 21. Analisis data diawali dengan uji normalitas menggunakan *shapiro-wilk* dan dilanjutkan menggunakan uji *wilcoxon* pada taraf kepercayaan 95%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peneliti melibatkan tenaga dokter dalam pemilihan sukarelawan yang terlibat dalam penelitian dan diperoleh sebanyak 21 orang sukarelawan yang ikut serta dalam penelitian. Karakteristik sukarelawan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik sukarelawan sehat yang diberi kapsul ekstrak etanol rosella dosis 500 mg/hari selama 30 hari

No.	Karakteristik sukarelawan	Σ Sukarelawan (n = 21)	Persentasi (%)
1	Jenis kelamin		
	Laki-laki	11	52,4
	Perempuan	10	47,6
2	Usia(tahun)		
	a. ≤ 25 tahun	15	71,4
	b. > 25 tahun	6	28,6
3	Rerata Indeks Massa Tubuh (Kg/m ²)	21,25	100
4	Pendidikan		
	SMA	10	47,6
	Perguruan Tinggi	11	52,4
5	Pekerjaan		
	Tidak Bekerja	15	71,4
	Bekerja	6	28,6
6	Status Pernikahan		
	Tidakmenikah	17	81,0
	Menikah	4	19,0

Keterangan uji statistik: distribusi frekuensi

Pengukuran IL-10 dilakukan dengan menggunakan metode flowsitometri. Pengukuran dilakukan sebelum mengkonsumsi kapsul rosella dosis 500 mg/hari (hari ke-0), setelah mengkonsumsi kapsul rosella (hari ke-30) dan 15 hari setelah tidak mengkonsumsi
 P-ISSN: 2406-9388
 E-ISSN: 2580-8303

kapsul rosella (hari ke-45). Pemeriksaan hari ke-0 bertujuan sebagai baseline (*pre treatment*). Pemilihan 30 hari untuk mengkonsumsi kapsul rosella berdasarkan Resnik (2011) yang menyatakan interval standar penelitian fase 1 adalah 30 hari untuk ukuran

standar keamanan. Pemilihan pemeriksaan hari ke-45 berdasarkan ICH (2010) menyatakan setelah pemberian perlakuan suatu obat dilakukan evaluasi lebih lanjut selama 2 minggu untuk menilai toksisitas dan atau pemulihan yang tertunda. Data hasil

pengukuran ekspresi IL-10 sukarelawan yang diberi kapsul rosella dosis 500 mg/hari selama 30 hari dan 15 hari setelah tidak mengkonsumsi kapsul rosella disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis rata-rata ekspresi IL-10 hari ke-0 - hari ke-30 dan hari ke-30 - hari ke-45 sukarelawan sehat (n = 21)

Parameter	n	Hari ke - (Mean ± SD)			p-value (0-30)	p-value (30-45)
		0	30	45		
IL-10	21	0,42 ± 0,24	0,83 ± 0,47	1,06 ± 0,67	0,01	0,14

Keterangan: uji wilcoxon (p < 0,05)

Hari ke-0 : Sebelum pemberian kapsul ekstrak etanol rosella (*baseline*)

Hari ke-30 : Setelah pemberian kapsul ekstrak etanol rosella

Hari ke-45 : 15 hari setelah pemberian kapsul ekstrak etanol rosella

Hasil analisis yang terlihat pada Tabel 2 menunjukkan rerata kadar IL-10 pada pemeriksaan hari ke-0 sampai hari ke-30 terdapat perbedaan yang bermakna (p < 0,05), sedangkan rerata kadar IL-10 pada pemeriksaan hari ke-30 sampai hari ke-45 tidak terdapat perbedaan yang bermakna (p > 0,05). Kadar IL-10 hari ke-0 (sebelum diberikan kapsul rosella) adalah 0,42 ± 0,24 data ini bisa dianggap sebagai kadar normal IL-10 (*baseline*) pada sukarelawan sehat. Pemeriksaan hari ke-30 setelah mengkonsumsi kapsul rosella kadar IL-10 meningkat dari hari ke-0 sebesar 0,83 ± 0,47, dan hari ke-45 (15 hari setelah tidak mengkonsumsi kapsul rosella) sebesar 1,06 ± 0,67 pada sukarelawan sehat yang diberikan kapsul rosella dosis 500 mg/hari. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan kadar ekspresi IL-10 pada sukarelawan yang diberikan kapsul rosella dosis 500 mg/hari selama 30 hari, namun perubahan ini tidak signifikan secara klinis karena masih dalam batas normal. Nilai ekspresi IL-10 pada sukarelawan sehat yaitu 0,08 - 3,80 % (Muris dkk., 2012).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Fakeye dkk. (2008) mengemukakan kelopak bunga rosella kering larut air dosis 100 mg/KgBB dapat meningkatkan produksi IL-10. Penelitian Nurkhasanah (2015) menyatakan ekstrak etanol rosella dengan dosis 50 dan 100 mg/KgBB sekali sehari selama 21 hari berpotensi sebagai agen imunomodulator dengan efek peningkatan sekresi IL-10 pada tikus SD. Efek imunostimulator bunga rosella karena kandungan senyawa fenolik dan flavanoid (Chiang dkk., 2003; Mahadevan dkk., 2009).

Peningkatan IL-10 diketahui sebagai mediator penting dalam respon pertahanan. Aktivitas IL-10

terjadi karena menghambat produksi TNF-α dan berpengaruh terhadap sel B untuk memproduksi antibodi (Fakeye dkk., 2008). Mekanisme penghambatan ekstrak rosella terhadap ekspresi protein TNF-α melalui penghambatan aktivasi NF-κβ dengan penghambatan enzim kinase ikβ sehingga tidak terjadi fosforilasi akibatnya dimer NF-κβ (p50 dan p65) tidak terlepas dan selanjutnya tidak terjadi translokasi p50 dan p65 ke dalam inti sel (Sarhini dkk., 2011; Maiti dkk., 2015).

KESIMPULAN

Pemberian kapsul serbuk bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) dosis 500 mg/hari selama 30 hari berpengaruh dengan terjadinya peningkatan terhadap ekspresi IL-10, tetapi dalam batas nilai normal pada sukarelawan sehat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Hibah penelitian unggulan program studi dari LPP Universitas Ahmad Dahlan Tahun 2017 dan Relawan yang berpartisipasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). (2014)a. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Non klinik Secara In Vivo. Jakarta: BPOM.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). (2014)b. Peraturan Kepala

- Badan Pengawas Obat dan Makanan, Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Herbal Nomor 13. Jakarta: BPOM.
- Baratawidjaja, K. G. (2006). *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Chiang, L. C., Ng, L. T., Chiang, W., Chang, M. Y. & Lin, C. C. (2003). Immunomodulatory Activities of Flavonoids, Monoterpenoids, Triterpenoids, Iridoid Glycosides and Phenolic Compounds of Plantago Species. *Planta Medica*; 69; 600-604.
- Couper, K. N., Blount, D. G. & Riley, E. M. (2008). IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection, *Journal of Immunology. American Association Of Immunologist*; 180; 5771-5777.
- Fakeye, T. O., Pal, A., Bawankule, D. U. & Khanuja, S. P. (2008). Immunomodulatory Effect of Extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. (Family Malvaceae) in a Mouse Model. *Phytotherapy Research*; 22; 664-668.
- Hodgson, J. & Kevin, D. C. (2006). Dietary Flavonoids: Effects on Endothelial Function and Blood Pressure. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*; 86; 2492-2498.
- ICH. (2010). M3(R2) Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. *Guidance for Industry*; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
- Kumar, R. (2012). Phytochemical Properties And Antioxidant Activity of Hibiscus Sabdariffa Linn. *International Journal Of Pharmaceutical and Chemical Science*; 1.
- Kusumastuti, E., Juni, H. & Heni, S. (2014). Ekspresi COX-2 dan Jumlah Neutrofil Fase Inflamasi pada Proses Penyembuhan Luka Setelah Pemberian Sistemik Ekstrak Etanolik Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L) Studi in Vivo Pada Tikus Wistar. *Majalah Kedokteran Gigi*; 21; 13-19.
- Mahadevan, N., Shivali & Kamboj, P. (2009). Hibiscus sabdariffa Linn: An overview. *Natural Product Radiance*; 8; 77-83.
- Maiti, S., Dai, W., Alaniz, R. C. & Jayaraman, A. (2015). Mathematical Modeling of Pro- and Anti-Inflammatory Signaling in Macrophages. *Processes*; 3; 1-18.
- Mardiyah. (2009). *Budi Daya dan Pengolahan Rosella*, Cet. I. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Muris, A. H., Jan, D., Joost, S., Jan, W. C., Raymond, H. & Marielle, T. (2012). Intracellular IL-10 Detection in T Cells by Flowcytometry: The Use of Protein Transport Inhibitors Revisited. *Journal of Immunological Methods*; 381; 59-65.
- Niikura, M, Inone, S. I., & Kobayashi, F. (2011). Role of Interleukin-10 in Malaria: Focusing on Coinfection With Lethal and Nonlethal Murine Malaria Parasites. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*; 2011; 1-8.
- Nurkhasanah. (2015). The Effect of Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Treatment on IL-10 and IL-14 Secretion on Dimethylbenz (A) Anthracene (DMBA) Induced Rat. *International Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 7; 402-404.
- Ranieri, E., Popescu & Gigante, M. (2014). CTL Elispot Assay. *Cytotoxic T-Cells*; 1186; 75-86.
- Resnik, D. B. & Greg, K. (2011). A National Registry for Healthy Volunteers in Phase 1 Clinical Trials. *JAMA*; 305; 1236-1237.
- Rizki, M. I., Nurkhasanah, Tedjo, Y., Laela, H. N. & Krisana, K. (2017). Antioxidant Activity of Nanoparticle from Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Calyx Extract Originated Indonesia and Thailand. *Research Journal Of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*; 8; 149-157.
- Sarbini, D. D. J., Sargowo, S. & Rohman. (2011). Efek Penghambatan Ekstrak Teh Rosela Merah terhadap NF- κ B, TNF- α , dan ICAM-1. *Journal of Experimental Life Science*; 1; 56-110.
- Sari, F., Nurkhasanah & Moch. S. B. (2016). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) pada Tikus Sprague Dawley. *Traditional Medicine Journal*; 21; 12-18.