

# Efek Pemberian Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Inflamasi dan Disfungsi Endotel

Marita Kaniawati<sup>1\*</sup>, Agus Sulaeman<sup>1</sup>, Aulia Nurfazri<sup>1</sup>, Elis Susilawati<sup>1</sup>, Millata Auliyaa<sup>1</sup>, Floriana Maia de Fatima Freitas<sup>1</sup>

## Artikel Penelitian

**Abstract:** Obesity can cause enlargement and increase in the number of adipose cells in the body as well as a decrease in adiponectin levels. Adiponectin is an anti-inflammatory cytokine. Obesity is also associated with vascular endothelial dysfunction, which is caused by reduced nitric oxide (NO) availability, as a result of increase production of oxidative stress. This study aims to determine the effect of ethanol extract of rosella flowers (*Hibiscus sabdariffa* Linn) on adiponectin levels and serum NO levels in animal models of fructose-induced obesity. The research method was using a Post Test Only Control Group Design, using male Wistar rats for 60 days. This study consisted of 6 groups, namely the normal group (normal diet), the induction group (normal diet + fructose 60%), the comparison group (normal diet + fructose 60% + orlistat), and 3 test groups (normal diet + fructose 60% + ethanol extract of rosella flowers 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW and 500 mg/kgBW). The results show that the ethanol extract of rosella flowers has a reducing effect on body weight and increases serum adiponectin and NO levels. In conclusion, ethanol extract of rosella flowers at a dose of 250 mg/kgBW can increase adiponectin levels and a dose of 500 mg/kgBW is the best dose in improving endothelial dysfunction.

**Keywords:** obesity, rosella flower, adiponectin, nitric oxide

<sup>1</sup> Universitas Bhakti Kencana,  
Jl. Soekarno Hatta 754  
Bandung

### Korespondensi:

Marita Kaniawati  
marita.kaniawati@bku.ac.id

**Abstrak:** Obesitas dapat menyebabkan terjadinya pembesaran dan penambahan jumlah sel adiposa dalam tubuh serta penurunan kadar adiponektin. Adiponektin merupakan salah satu sitokin antiinflamasi. Obesitas juga berhubungan dengan disfungsi endotel vaskular, yang disebabkan oleh berkurangnya ketersediaan nitrit oksida (NO), sebagai akibat dari adanya peningkatan produksi stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) terhadap kadar adiponektin dan kadar NO serum pada model hewan obes yang diinduksi fruktosa. Metode penelitian disusun dengan *Post Test Only Control Group Design* menggunakan hewan uji tikus jantan Galur Wistar selama 60 hari. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (diet normal), kelompok induksi (diet normal + fruktosa 60%), kelompok pembanding (diet normal + fruktosa 60% + orlistat), dan 3 kelompok uji (diet normal + fruktosa 60% + ekstrak etanol bunga rosella 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol bunga rosella memiliki efek menurunkan bobot badan dan meningkatkan kadar adiponektin dan NO serum. Sebagai kesimpulan ekstrak etanol bunga rosella dengan dosis 250 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar adiponektin dan dosis 500 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam memperbaiki disfungsi endotel.

**Kata kunci:** obesitas, bunga rosella, adiponektin, nitrit oksida



Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International License

## Pendahuluan

Obesitas berkaitan dengan beberapa penyakit yang banyak diderita oleh masyarakat seperti diabetes, hipertensi, penyakit kardiovaskular, dan beberapa penyakit lainnya.

Berbagai cara telah dikembangkan untuk tujuan pencegahan terjadinya obesitas ataupun gangguan metabolisme yang akan ditimbulkannya, baik secara farmakologis ataupun non farmakologis, akan tetapi sampai saat ini belum dapat menurunkan angka kejadian obesitas secara berarti.

Pemanfaatan bahan alam sebagai salah satu cara pengelolaan obesitas dan penyakit yang ditimbulkannya sudah banyak dilakukan, diantaranya adalah penggunaan bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Kelopak bunga rosella mengandung antosianin yang mempunyai aktivitas sebagai senyawa antioksidan. Antioksidan dibutuhkan untuk menangkal efek dari radikal bebas. Radikal bebas yang berlebihan diketahui dapat menjadi penyebab timbulnya beberapa penyakit kronis. (1)

Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan antara obesitas dengan disfungsi endotel dan inflamasi kronik tingkat rendah. Inflamasi yang terjadi pada obesitas ditandai dengan sekresi proinflamasi dan terganggunya sekresi antiinflamasi. Adiponektin merupakan salah satu protein yang dihasilkan oleh sel adiposa. Fungsi adiponektin adalah sebagai antiinflamasi, meningkatkan sensitivitas insulin dan bersifat antiaterogenik. Kadar adiponektin yang rendah di dalam darah berkaitan dengan obesitas dan beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, diabetes mellitus tipe 2, dan hipertensi. (2)

Nitrit oksida (NO) merupakan unsur penting dalam vasodilatasi yang bergantung pada endotel. NO tidak hanya berperan dalam relaksasi sel otot polos, tetapi juga menghambat adhesi leukosit ke endotel. Melalui respons NO dan produk lain dari lapisan sel endotel, endotel dapat mengubah fungsi normalnya untuk mengatur berbagai aspek homeostasis pembuluh darah. (3). Disfungsi endotel dan inflamasi dapat menjadi pemicu terjadinya aterosklerosis, yang dikenal sebagai awal terjadinya penyakit kardiovaskular.

Penelitian ke arah disfungsi endotel dan inflamasi kronik tingkat rendah dengan menggunakan bahan alam masih jarang dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi peran bunga rosella terhadap disfungsi endotel dan inflamasi yang dipicu oleh obesitas, serta menjadi bahan untuk pembuatan sediaan nutrisi esensial di masa depan.

## Bahan dan Metode

### Bahan

Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), etanol 96%, pakan standar, fruktosa 60%, Na-CMC 0,5%, tablet Orlistat, kit Adiponektin (*Bioassay Technology Laboratory*), pereaksi Griess.

### Metode

Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung dengan nomor: 1101/UN6.KEP/EC/2023.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap kadar adiponektin dan kadar NO, pada tikus obes yang diinduksi fruktosa. Metode penelitian ini adalah uji preventif secara eksperimental dengan metode uji *in vivo* menggunakan hewan tikus wistar jantan yang diinduksi dengan fruktosa 60%. Simplisia bunga rosella diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor, Jawa Barat. Pada simplisia ini kemudian dilakukan determinasi tumbuhan dan pengolahan bahan.

Pada penelitian ini untuk setiap perlakuan digunakan hewan uji tikus dengan jumlah minimal perlakuan tiap kelompok dihitung menggunakan rumus Federer, yaitu :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah pengulangan setiap kelompok

Penelitian ini menggunakan 6 (enam) kelompok perlakuan sehingga perhitungan jumlah minimal pengulangan setiap kelompok adalah sebagai berikut :

$$(t-1) (n-1) \geq 15$$

$$(6-1) (n-1) \geq 15$$

$$5 (n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus Federer dihasilkan jumlah pengulangan setiap kelompok minimal 4 kali pengulangan. Dalam penelitian ini dilakukan jumlah pengulangan setiap kelompok sebanyak 5 kali sehingga jumlah yang digunakan adalah sebanyak  $5 \times 6$  kelompok uji = 30 ekor tikus.

Tikus wistar jantan yang digunakan adalah tikus yang berusia 2-3 bulan dengan bobot badan sekitar 200-300 gram. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok normal diberi pakan normal + Na-CMC 0,5%, kelompok induksi fruktosa diberi pakan normal + Fruktosa 60% + Na-CMC 0,5%, kelompok pembanding diberi pakan normal + Fruktosa 60% + Orlistat 10,8 mg/kg BB + Na-CMC 0,5%, kelompok uji 1 diberi pakan normal + Fruktosa 60% + ekstrak etanol bunga rosella 125 mg/kg BB + Na-CMC 0,5%, kelompok uji 2 diberi pakan normal + Fruktosa 60% + ekstrak etanol bunga Rosella 250 mg/kg BB + Na-CMC 0,5%, kelompok uji 3 diberi pakan normal + Fruktosa 60% + ekstrak etanol bunga rosella 500 mg/kg BB + Na-CMC 0,5%, dengan durasi penelitian selama 60 hari.

Pengukuran parameter indeks berat badan dilakukan setiap hari. Pemeriksaan NO (metode Griess) dan adiponektin dilakukan pada hari ke-60.

Kriteria obes untuk tikus diambil berdasarkan peningkatan bobot badan  $\geq 20\%$ . (4)

Kadar normal adiponektin dan NO untuk tikus belum tersedia. Pada penelitian ini hasil pengukuran adiponektin dan NO tikus kelompok uji dibandingkan secara statistik terhadap kadar adiponektin dan NO tikus kelompok normal dan kelompok induksi.

Alat yang digunakan diantaranya adalah rotary evaporator (Buchi Rotavapor R-215), spektrofotometer uv-vis (Shimadzu UV-1800), microplate reader (Thermo Scientific, Multiskan

skyhigh), timbangan analitik (Mettler Toledo), timbangan hewan (Mettler Toledo).

#### Uji Aktivitas

Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan mengukur kadar adiponektin dalam serum. Setelah tikus diberikan perlakuan sesuai kelompok selama 60 hari, dilakukan pengambilan darah dari vena di bagian bawah mata. Darah yang telah diambil kemudian dimasukkan dalam tabung vakum berisi EDTA 0,1% sebagai antikoagulan lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, plasmanya kemudian dipisahkan. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar adiponektin dengan menggunakan metode sandwich ELISA. Densitas optik diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Untuk uji aktivitas fungsi endotel dilakukan dengan mengukur kadar NO dalam darah. Pemeriksaan kadar NO serum tikus dilakukan menggunakan metode Griess. Pembuatan pereaksi Griess dilakukan dengan membuat larutan asam sulfamat sulfanida dalam 100 mL asam asetat 30% v/v yang merupakan larutan I. Larutan II berupa N-1-naftilen-diamonium 0,3 gram yang dilarutkan pada 70 mL aquadest panas sampai larut dan langsung dituangkan dalam keadaan panas ke dalam 30 mL asam asetat glasial. Setelah itu larutan I dan II dicampurkan menjadi satu dengan perbandingan 1:1, volume akhir 100 mL yang dimasukkan dalam botol reagen coklat. (5)

Serum darah tikus diambil sebanyak 100  $\mu$ L. Serum dideproteinasi dengan penambahan 20  $\mu$ L Zinc Sulfat 6% ( $ZnSO_4$ ) dan disentrifugasikan selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Setelah itu cairan tersebut direaksikan dengan kadmium 6% selama 15 menit untuk mendeteksi kadar nitrit oksida. Pereaksi Griess ditambahkan sebanyak 50  $\mu$ L dan direaksikan selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 540 nm. (6)

#### Uji Statistika

Dari data hasil pengamatan, hasil dianalisis secara statistika menggunakan aplikasi SPSS 27.0. Pada tahap awal dilakukan uji normalitas serta uji homogenitas, apabila distribusi data normal dan varians data sama atau homogen ( $p > 0,05$ ) maka

dilanjutkan ke analisis selanjutnya, yaitu *One Way Anova* untuk melihat apakah data hasil pengamatan memiliki perbedaan yang signifikan dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* untuk mengetahui perbedaan-perbedaan antara kelompok perlakuan. Bila data tidak berdistribusi normal atau varians data tidak homogen maka dilanjutkan pada uji alternatif dengan analisis Kruskal Wallis untuk melihat apakah data hasil pengamatan memiliki perbedaan yang signifikan dan uji *Post Hoc*, yaitu uji Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan antara kelompok pengujian.

### Hasil dan Diskusi

Determinasi tanaman bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran (UNPAD) dengan nomor sertifikasi determinasi No. 27/HB/04/2023.

Pengukuran bobot badan dilakukan setiap hari selama 60 hari. Pengukuran bobot badan ini bertujuan untuk mengetahui kenaikan bobot badan tikus yang digunakan serta untuk menentukan apakah bobot tikus yang digunakan sudah termasuk ke dalam kategori obes. Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Dari **Tabel 1** terlihat bahwa peningkatan bobot badan seluruh kelompok, baik itu kelompok normal, kelompok pembanding (orlistat 10,8 mg/kg BB) dan seluruh kelompok ekstrak etanol bunga rosella memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok induksi fruktosa 60% ( $p < 0,05$ ). Kelompok induksi fruktosa mengalami peningkatan bobot badan paling

tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya, yaitu sebesar  $43,43 \pm 8,06\%$ . Hal ini menandakan bahwa induksi 2 ml fruktosa 60% yang diberikan per oral selama 60 hari dapat meningkatkan bobot badan dan berhasil menginduksi hewan uji menjadi model obes. Fruktosa yang dikonsumsi secara berlebihan dalam jangka panjang dapat mengganggu kemampuan otak untuk mengenali perasaan kenyang, akibatnya mengarah pada ketidakseimbangan energi dalam mekanisme pengaturan lemak tubuh, yang berdampak pada kejadian obesitas.

Kenaikan bobot badan paling rendah ditemukan pada kelompok ekstrak etanol bunga rosella dosis 500 mg/kgBB (kenaikan bobot badan sebesar  $14,40 \pm 6,23\%$ ) yang menandakan bahwa dengan dosis tersebut ekstrak etanol bunga rosella memiliki kemampuan untuk mempertahankan bobot badan tikus lebih baik dibandingkan dengan dosis lainnya. Efek pemberian ekstrak etanol bunga rosella dengan dosis 500 mg/kgBB sejalan dengan efek orlistat. Dari seluruh kelompok uji ekstrak etanol bunga rosella memperlihatkan bahwa semakin besar dosisnya maka semakin besar peluang untuk mempertahankan bobot badan.

Kondisi obesitas sering dihubungkan dengan penurunan kadar adiponektin dalam tubuh. Adiponektin merupakan salah satu protein yang berfungsi untuk meningkatkan kepekaan insulin, mengurangi kadar glukosa dalam tubuh serta meningkatkan oksidasi asam lemak bebas dalam tubuh. Pengujian kadar adiponektin dilakukan dengan menggunakan ELISA kit dari *Bioassay Technology Laboratory*.

**Tabel 1.** Hasil Pengukuran Bobot Badan Hewan Uji

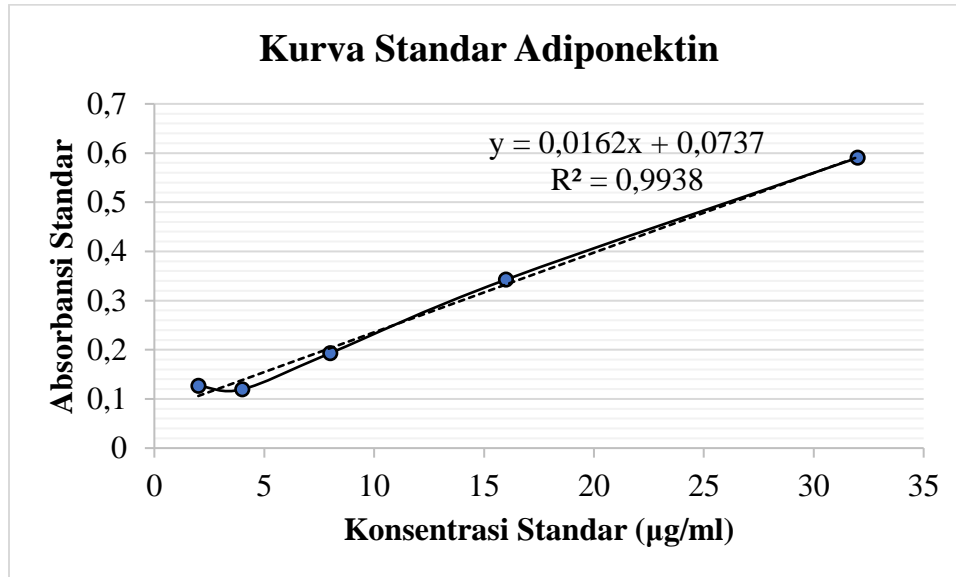
Kelompok	T0	T60	Kenaikan BB (%)
Normal	182,75 ± 5,85	220,58 ± 8,92*	20,68±1,78*
Induksi Fruktosa 60%	185,75 ± 3,40	266,53 ± 17,84#	43,43±8,06#
Orlistat 10,8 mg/kgBB	191,00 ± 4,32	225,78 ± 5,71*	18,26±4,33*
EEBR 125 mg/kgBB	191,75 ± 11,38	232,58 ± 23,02*	21,45±12,10*
EEBR 250 mg/kgBB	189,25 ± 13,77	229,28 ± 11,77*	21,30±3,40*
EEBR 500 mg/kgBB	191,00 ± 12,91	218,38 ± 17,41*	14,40±6,23*

Keterangan :

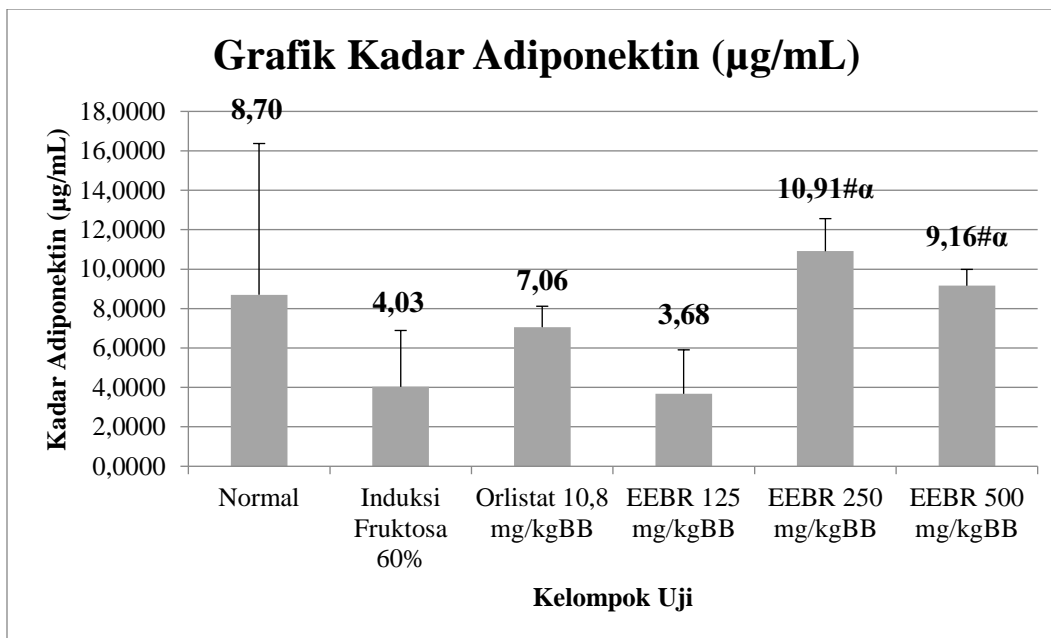
EEBR : Ekstrak Etanol Bunga Rosella

#Terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok normal ( $p < 0,05$ )

\* Terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok induksi fruktosa 60% ( $p < 0,05$ )



Gambar 1. Kurva standar adiponektin



Gambar 2. Grafik kadar adiponektin hewan uji

Keterangan :

EEBR : Ekstrak Etanol Bunga Rosella

\*Terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok normal ( $p < 0,05$ )

# Terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok induksi fruktosa 60% ( $p < 0,05$ )

α Terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok orlistat 10,8 mg/kgBB ( $p < 0,05$ )

Grafik kurva standar dari hasil pengujian dapat dilihat pada **Gambar 1**. Pengujian kurva regresi linear dari standar yang digunakan menghasilkan persamaan regresi linear  $y = 0,0162x + 0,0737$  dan nilai  $r^2$  sebesar 0,9938. Adapun hasil rata-rata pengukuran kadar adiponektin dalam tubuh

hewan uji dapat dilihat pada **Gambar 2**. Pada pasien yang mengalami obesitas, kadar adiponektin cenderung rendah akibat adanya penumpukan asam lemak bebas dalam tubuh yang dihasilkan dari proses hiperplasia dan hipertrofi jaringan adiposa. Suatu senyawa uji

dikatakan baik apabila mampu meningkatkan kadar adiponektin dalam tubuh. Senyawa yang meningkatkan kadar adiponektin ini dapat menjadi salah satu alternatif yang digunakan dalam pengobatan obesitas. Dari hasil uji statistik terlihat bahwa kelompok ekstrak etanol bunga rosella dengan dosis 250 mg/kgBB dan dosis 500 mg/kgBB memiliki perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok induksi fruktosa 60% dan kelompok pembanding orlistat 10,8 mg/kg BB. Hal ini menandakan bahwa kedua dosis ekstrak tersebut memiliki pengaruh untuk meningkatkan kadar adiponektin dan sejalan dengan kelompok pembanding orlistat 10,8 mg/kgBB. Ekstrak etanol bunga rosella dengan dosis 250 mg/kgBB memiliki nilai kadar adiponektin yang lebih tinggi, yaitu sebesar  $10,91 \pm 1,65 \mu\text{g/mL}$ , dibandingkan kedua dosis lainnya. Hal ini menandakan bahwa dosis tersebut lebih baik untuk meningkatkan kadar adiponektin dibandingkan kedua dosis lainnya.

NO diproduksi oleh sel endotel dan memiliki peran penting dalam regulasi sirkulasi darah, fungsi imun, dan proses inflamasi. Pengukuran kadar NO serum bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari zat uji yang diberikan terhadap kadar NO total yang dihasilkan dalam serum darah hewan uji. Hasil dari pengukuran kadar NO serum ditunjukkan pada **Tabel 2**.

NO adalah molekul pemberi sinyal yang banyak ditemukan di seluruh tubuh, berperan penting dalam berfungsinya setiap sel dan organ. Pembentukan NO secara enzimatik dari L-arginin, difasilitasi oleh enzim yang dikenal sebagai nitrit

oksida sintase atau NOS (7). Pembuatan kurva kalibrasi menghasilkan persamaan regresi  $y = 0,0869x + 0,01056$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r^2$ ) = 0,9752. Dari **Tabel 2** terlihat bahwa kadar NO kelompok induksi menunjukkan perbedaan signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan kelompok normal dan kelompok pembanding orlistat. Hal ini berarti bahwa pemberian fruktosa 60% selama 60 hari mempengaruhi kadar NO serum. Obesitas secara tidak langsung berkontribusi terhadap disfungsi endotel karena obesitas dapat menyebabkan peningkatan inflamasi yang dapat merusak sel endotel dan menghambat produksi NOS. Menurut Sansbury dan Hill, berkurangnya ekspresi enzim NOS menyebabkan produksi bioavailabilitas NO menurun, sehingga menyebabkan pembuluh darah menjadi sempit dan kaku, dan meningkatkan tekanan darah. (8).

Kadar NO pada kelompok ekstrak dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki perbedaan bermakna ( $P < 0,05$ ) dengan kelompok normal, induksi dan juga pembanding orlistat. Dari ketiga dosis ekstrak tersebut yang memiliki kadar NO paling tinggi adalah kelompok dosis 500mg/kgBB. Bunga rosella mengandung senyawa quersetin yang merupakan senyawa flavonoid yang diketahui memiliki potensi meningkatkan produksi NO pada sel endotel (9). Quersetin tampaknya memiliki peran yang bermanfaat dalam memperbaiki disfungsi endotel, dengan meningkatkan produksi NO melalui penghambatan fosforilasi eNOS, yang menyebabkan efek hepatoprotektif. Quercetin juga dapat meningkatkan kadar adiponektin(10).

**Tabel 2.** Hasil pengukuran kadar NO serum

No.	Kelompok	Kadar NO Serum ( $\mu\text{mol/L}$ ) $\pm$ SD
1	Normal	$503,85 \pm 7,14^{\beta\alpha}$
2	Induksi	$87,97 \pm 9,78^{*\alpha}$
3	Pembanding Orlistat	$398,07 \pm 2,50^{*\beta}$
4	EEBR 125 mg/kgBB	$181,44 \pm 4,09^{*\beta\alpha}$
5	EEBR 250 mg/kgBB	$103,18 \pm 8,16^{*\beta\alpha}$
6	EEBR 500 mg/kgBB	$286,15 \pm 4,80^{*\beta\alpha}$

Keterangan :

EEBR : Ekstrak Etanol Bunga Rosella

(\*) ada perbedaan bermakna dengan kelompok normal ( $P < 0,05$ )

( $\alpha$ ) ada perbedaan bermakna dengan kelompok Orlistat ( $P < 0,05$ )

( $\beta$ ) ada perbedaan bermakna dengan kelompok induksi ( $P < 0,05$ )

## Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol bunga rosella memiliki pengaruh terhadap kadar adiponektin dan NO. Ekstrak etanol bunga rosella dengan dosis 250 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar adiponektin paling tinggi, sedangkan dosis 500 mg/kgBB merupakan dosis yang paling baik dalam memperbaiki disfungsi endotel.

## Ucapan Terima Kasih

Riset ini dapat terlaksana atas bantuan LPPM Universitas Bhakti Kencana dengan nomor 001/01.LPPM/UBK/VI/2023.

## Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam tulisan ini.

## Referensi

1. Djaeni M, Ariani N, Hidayat R, Utari FD. Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2017; 6 (3).
2. Hernani YE. Adiponektin meregulasi turun ekspresi iNOS pada kultur HUVEC's yang dipapar Lipopolysaccharide (LPS). *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2008;24(3)
3. Darwin E, Elfi EF, Elfira D. Endotel. Fungsi dan Disfungsi. *Andalas University Press*. 2018; hal. 39.
4. Linder D, Mueller M. Pet obesity management. *Beyond Nutrition. Vet Clin Small Anim*. 2014; 44:p. 789–806. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.03.004>
5. Anggresani L, Hadriyati A, Syahyara AY, Pratama S. 2018. Analisis kandungan Natrium Nitrit pada daging sapi mentah di pasar dan supermarket kota Jambi. *Chempublish Journal*. 2018; 3 (2), hal. 69-75. <https://doi.org/10.22437/chp.v3i2.5726>
6. Harmely F, Nasrul E, Umar S, Zaini E, Aldi Y. Pengaruh Dispersi Padat Irbesartan-Poloxamer 188 Terhadap Tekanan Darah dan Kadar Nitric Oxide (NO) Pada Tikus Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2018; 5, 88–93.
7. Danuyanti I, Kristinawati E, Resnhaleksmana E. Hubungan kadar Nitrit Oksida (NO) dalam darah terhadap risiko kejadian DM tipe 2 dengan hipertensi di RSUP NTB. *Jurnal Kesehatan Prima*. 2014;8 (1).
8. Sansbury BE, Hill BG. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med*. 2014; 73, p. 383–399.
9. Alarcón-Alonso J, Zamilpa A, Aguilar FA, Herrera-Ruiz M, Tortoriello J, Jimenez-Ferrer E. Pharmacological characterization of the diuretic effect of *Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) extract. *J. Ethnopharmacol*. 2012;139, p. 751–756.
10. Hosseini A, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Quercetin and metabolic syndrome: A review. *Phytother Res*. 2021; 35(10) 5352-5364.