

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH TERONG BELANDA
(*Cyphomandra betacea* Sendtn.) TERHADAP KADAR
BILIRUBIN DAN AKTIVITAS ALP TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI ISONIAZID
DAN RIFAMPISIN**



Oleh:

**Haryanty Dwi Siswoyo
NIM. 17134026 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH TERONG BELANDA
(*Cyphomandra betacea* Sendtn.) TERHADAP KADAR
BILIRUBIN DAN AKTIVITAS ALP TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI ISONIAZID
DAN RIFAMPISIN**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S. Farm.)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Haryanty Dwi Siswoyo
NIM. 17134026 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH TERONG BELANDA
(*Cyphomandra betacea* Sendtn.) TERHADAP KADAR
BILIRUBIN DAN AKTIVITAS ALP TIKUS PUTIH
JANTAN YANG DIINDUKSI ISONIAZID
DAN RIFAMPISIN**

Oleh:

**Haryanty Dwi Siswoyo
NIM. 17134026 A**

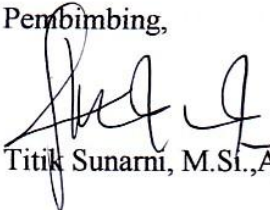
Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 27 Desember 2016

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,




Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,


Titik Sunarni, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,


Dr. Jason Merari Peranginangin, MM., M.Si., Apt.

Penguji :

1. Opstaria Saptarini., M.Si., Apt

2. Dra. Kartinah Wiryoedjoyo, SU

3. Dr. Rina Herowati., M.Si., Apt

4. M. Dzakwan., M.Si., Apt


1.
2.
3.
4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Janganlah hendaknya kamu khawatir tentang apapun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur (Filipi 4:6).

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

Tuhan Yang Maha Esa

Mama Christiana tersayang, papa Siswoyo, kak Eko Haryanto

Terimakasih untuk doa, perhatian, kepercayaan dan kasih

sayang yang tulus

Terimakasih untuk teman yang selalu bersama dalam

penelitian ini

Buat sahabat-sahabat tercinta

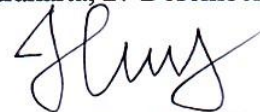
Agama, Bangsa dan Almamaterku

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 27 Desember 2016



Haryanty Dwi Siswoyo

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat, rahmat, dan tuntunan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **"PENGARUH PEMBERIAN SARI BUAH TERONG BELANDA (*Cyphomandra betacea* Sendtn.) TERHADAP KADAR BILIRUBIN DAN AKTIVITAS ALP TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ISONIAZID DAN RIFAMPISIN"**. Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka dengan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Titik Sunarni, M.Si.,Apt. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Dr. Jason Merari P, M.Si.,MM., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Segenap dosen, karyawan dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran skripsi ini.
6. Tim penguji skripsi, penulis mengucapkan terimakasih atas masukan, kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
7. Perpustakaan Universitas Setia Budi.
8. Untuk Ibu, Bapak dan kakak Eko yang sangat kukasihi, terimakasih untuk doa, semangat dan perhatian yang tulus.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini, untuk itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 27 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRAK.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman biji terong belanda (<i>Cyphomandra betacea</i> Sendtn.)	5
1. Klasifikasi tanaman	5
2. Deskripsi tanaman	6
3. Nama daerah.....	6
4. Kandungan dan manfaat terong belanda	6
B. Tinjauan Umum Hati.....	7
1. Hepatotoksisitas.....	8
2. Kerusakan hati	8
2.1. Peradangan	9
2.2. Degenerasi	9
2.3. Kematian Sel	9
2.4. Fibrosis	10
2.5. Sirosis	10

3.	Tes fungsi hati	11
3.1	Bilirubin.....	11
3.2.	ALP (Alkaline Phosphatase)	13
4.	Methicol®	13
C.	Obat Tuberkulosis	14
1.	Isoniazid (INH).....	15
2.	Rifampisin	17
D.	Hewan uji.....	18
1.	Sistematika tikus putih	18
2.	Karakter utama tikus putih	19
3.	Pemberian obat atau senyawa lain pada hewan percobaan	19
4.	Pengambilan darah hewan percobaan	20
E.	Landasan Teori	20
F.	Hipotesis	23
BAB III METODE PENELITIAN		24
A.	Populasi dan Sampel.....	24
B.	Variabel Penelitian	24
1.	Identifikasi variabel utama	24
2.	Klasifikasi variabel utama	24
3.	Definisi operasional variabel utama	25
C.	Alat, Bahan dan Hewan Percobaan	26
1.	Alat	26
2.	Bahan.....	26
3.	Hewan percobaan	27
D.	Jalannya Penelitian	27
1.	Identifikasi buah terong belanda (<i>Cyphomandra betacea</i> Sendtn.).....	27
2.	Penetapan dosis sediaan	27
3.	Identifikasi kandungan sari buah terong belanda.	28
3.1	Identifikasi flavonoid	28
3.2	Identifikasi saponin	28
3.3	Identifikasi tannin.....	28
4.	Pembuatan larutan uji	29
4.1	Pembuatan sari buah terong belanda	29
4.2	Pembuatan suspensi Methicol® 1%	29
4.3	Pembuatan larutan CMC-Na 0,5%	29
4.4	Pembuatan suspensi isoniazid 2%	29
4.5	Pembuatan suspensi rifampisin 2%	29
5.	Uji metabolit bilirubin dan ALP.....	30
5.1	Persiapan hewan uji.....	30
5.2	Pengambilan darah dan pengumpulan serum	30
5.3	Pengukuran metabolit bilirubin dan ALP.....	31
E.	Analisa Hasil	33
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		34

A. Identifikasi Buah Terong Belanda.....	34
B. Pembuatan Sari Buah Terong Belanda.....	34
C. Identifikasi Kandungan Kimia Buah Terong Belanda	35
D. Hasil dan Perlakuan Hewan Uji	36
1. Hasil pemeriksaan aktivitas bilirubin pada tikus jantan	36
2. Hasil pemeriksaan aktivitas ALP pada tikus jantan	38
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	 42
A. Kesimpulan.....	42
B. Saran	42
 DAFTAR PUSTAKA	 43
 LAMPIRAN.....	 46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Terong Belanda	5
Gambar 2 Reaksi asetilasi dan biotransformasi isoniazid	16
Gambar 3 Skema jalannya penelitian.....	32
Gambar 4. Grafik hubungan kadar rata-rata bilirubin dengan waktu pemeriksaan darah tikus.	37
Gambar 3. Grafik hubungan rata-rata kadar ALP dengan waktu pemeriksaan darah tikus.	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pembuatan sari buah terong belanda	35
Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan kimia sari buah terong belanda	35
Tabel 4. Data kualitatif rata-rata hasil pengukuran kadar bilirubin pada berbagai kelompok perlakuan.	36
Tabel 3. Data kualitatif rata-rata hasil pengukuran aktivitas ALP pada berbagai kelompok perlakuan.	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat identifikasi tanaman terong belanda	46
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji	47
Lampiran 3. Surat keterangan pembelian Methicol [®]	48
Lampiran 4. Surat keterangan reagen ALP	49
Lampiran 5. Surat keterangan reagen bilirubin.....	50
Lampiran 6. Reagen ALP dan bilirubin	51
Lampiran 7. Foto buah, sari buah dan larutan stok.....	52
Lampiran 8. Foto hewan uji tikus dan perlakuan terhadap hewan uji	53
Lampiran 9. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian	54
Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia	56
Lampiran 11. Hasil perhitungan dosis	57
Lampiran 12. Hasil penimbangan berat badan tikus.....	60
Lampiran 13. Dosis pemberian larutan uji berdasarkan berat badan.....	61
Lampiran 14. Data pengukuran ALP dan Bilirubin.....	62
Lampiran 15. Uji Statistik.....	63

INTISARI

Isoniazid dan rifampisin merupakan obat TBC yang dominan digunakan dan memberi hasil optimal dalam pengobatan. Efek samping dari penggunaan isoniazid dan rifampisin adalah hepatotoksik. Terong belanda mengandung flavonoid, tannin, vitamin C, vitamin E dan β karoten yang dapat melindungi hati. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efek dan dosis optimal dalam terong belanda untuk mencegah hepatotoksik dengan mencegah kenaikan bilirubin dan aktivitas ALP.

Tiga puluh ekor tikus dibagi dalam enam kelompok, Kelompok kontrol normal diberi CMC 0,5%. Kelompok kontrol negatif diberi INH dan rifampisin 50mg/kgBB. Kelompok kontrol positif diberi INH dan rifampisin serta methicol[®] 22,5mg/kgBB. Kelompok perlakuan pertama diberi sari buah terong belanda 17,5 g/kgBB. kelompok perlakuan kedua diberi sari buah terong belanda 35 g/kgBB dan kelompok perlakuan ketiga diberi sari buah terong belanda 70g/kgBB. Perlakuan masing-masing kelompok selama 21 hari dan dilakukan pengukuran bilirubin dan aktivitas ALP pada hari ke-0,7,14,21. Analisis data dilakukan dengan uji *One-way ANOVA* dan *post hoc LSD*.

Analisis data statistic menunjukkan penurunan bilirubin dan aktivitas ALP pada kelompok perlakuan. Dosis terbaik dalam menurunkan kadar ALP dan bilirubin tikus yang diinduksi INH dan rifampisin adalah 70 g/kgBB.

Kata Kunci :Chypomandra betacea Sendtn, isoniazid, rifampisin, Bilirubin, ALP.

ABSTRACT

Isoniazid and rifampicin are the dominant TB drug use and provide optimal results in the treatment. The side effects of the use of isoniazid and rifampicin are hepatotoxic. Terong belanda contains flavonoids, tannins, vitamin C, vitamin E and β -carotene can protect the liver. The purpose of this study to determine the effect and optimal dose in terong belanda to prevent hepatotoxicity by preventing the increase in bilirubin and ALP activity.

Thirty rats were divided into six groups, normal control group was given 0.5% CMC. Negative control group were given INH and rifampin 50 mg / kg. The positive control group were given INH and rifampin as well as methicol[®] 22,5mg / kg. The first treatment group were given terong belanda juice 17.5 g / kg. The second treatment group were given juice 35 g / kg and a third treatment group were given juice 70g / kbBB. Each treatment group for 21 days and ALP and bilirubin measurements were taken on 0th, 7th, 14th, 21th day. Data were analyzed by *two-way ANOVA* test and *post hoc LSD*.

Statistical data analysis showed a significant reduction in ALP and bilirubin in the treatment group. The best dose in lowering levels of ALP and bilirubin-induced rat INH and rifampicin was 70 g / kg.

Keywords: *Chypomandra betacea* Sendtn, isoniazid, rifampisin, ALP, Bilirubin.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh basil *Mycobacterium tuberculosis*. Basil tersebut dapat bertahan lama pada tubuh manusia. Pengobatan infeksi tuberkulosis dibagi dalam dua kelompok besar. Kombinasi pertama memiliki efikasi besar dengan derajat toksisitas yang dapat diterima. Obat-obatan dalam kelompok ini antara lain isoniazid, rifampisin, etambutol dan streptomisin. Kelompok kedua terdiri dari pirazinamida, etionamida, sikloserin, viomisin, asam amino salisilat, amikasin, kanamisin, kapreomisin dan amitiozin. Pengobatan terhadap penderita tuberkulosis dilakukan dengan kombinasi obat untuk mencegah terjadinya *M. tuberculosis* yang resisten terhadap obat yang digunakan tunggal (Wattimena *et al.* 1991).

Basil *Mycobacterium tuberculosis* sangat sukar dibunuh. Setelah pengobatan, eliminasi basil tersebut dari tubuh sangat pelan sehingga pengobatan infeksi mikobakterium memerlukan waktu yang lama (Siswandono dan Soekardjo 1995). Pemberian rifampisin dan isoniazid, merupakan obat lama yang tetap dominan digunakan. Obat tersebut memberikan hasil optimal bagi penyakit yang disebabkan *M. tuberculosis* (Wattimena *et al.* 1991). Namun, penggunaan isoniazid dan rifampisin kombinasi dapat menyebabkan kerusakan hati (Gunawan 2009).

Penyakit pada hati memiliki konsekuensi yang luas karena organ lain yang bergantung pada fungsi metabolik hati (Robbins 2010). Sebab hati merupakan pusat aktivitas metabolik untuk karbohidrat, protein dan lipid. Hati mendetoksifikasi banyak produk metabolik, obat dan toksin (Baron 1990). Bila terjadi sakit pada hati, maka satu atau lebih fungsi hati akan melemah, berbagai tes untuk fungsi hati tidak dapat berdiri sendiri sebagai suatu kesatuan, karena banyak tes memberikan hasil abnormal serupa pada penyakit yang khas. Pengukuran bilirubin total dilakukan untuk pemeriksaan ikterus dan ALP untuk kemungkinan toksisitas kolestatik atau hepatik dari banyak obat (Baron 1995). Isoniazid dapat menyebabkan kerusakan hati karena N-asetilisoniazid terhidrolisis menjadi asetilhidrazin. selanjutnya asetilhidrazin teroksidasi menghasilkan senyawa antara yang reaktif. Rifampisin dapat menghambat pompa eksporter garam empedu dan mengganggu klirens bilirubin pada membrane sinusoidal (Adidin *et al.* 2016). Kombinasi isoniazid dan rifampisin meningkatkan kejadian hepatotoksik (Wattimena 1991).

Hepatoprotektor dapat diberikan selama penggunaan obat tuberkulosis untuk mencegah terjadinya hepatotoksik (Rahman 2013). Buah terong belanda sangat menarik untuk diteliti sebagai hepatoprotektor. Kandungan buah terong belanda yaitu flavonoid dan tannin (Depkes 1995). Flavonoid dapat bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida. Dengan demikian flavonoid dapat melindungi lipid membrane terhadap sel yang merusak (Robinson 1995).

Penelitian tentang pengaruh pemberian sari buah terong belanda (*Cyphomandra betaceae* Sendtn) terhadap kadar bilirubin dan aktivitas ALP pada

tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin belum pernah diteliti sebelumnya. Buah terong belanda diharapkan dapat bermanfaat sebagai hepatoprotektor bukan hanya sebagai suplemen untuk pasien yang mengkonsumsi obat-obat TBC, namun dapat juga digunakan sebagai tindakan pencegahan dari kerusakan hati. Dosis yang digunakan sebagai acuan dalam variasi dosis buah terong belanda berdasarkan dosis pada penelitian yang dilakukan Syariah *et al.* (2011) yaitu dosis yang memberikan efek dalam penurunan kolesterol total darah tikus yaitu 3,5 g/100 g BB atau 35 g/kg BB.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apakah sari buah terong belanda dapat mencegah peningkatan bilirubin dan aktivitas ALP tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin ?

Kedua, berapakah dosis yang optimal untuk mencegah peningkatan bilirubin dan aktivitas ALP tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, mengetahui pengaruh pemberian sari buah terong belanda dalam mencegah peningkatan bilirubin dan aktivitas ALP tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin.

Kedua, mengetahui dosis optimal dari sari buah terong belanda merupakan dalam mencegah peningkatan bilirubin dan aktivitas ALP tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat pada umumnya, mengenai aktivitas antioksidan buah terong belanda yang bermanfaat sebagai hepatoprotektor pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi INH dan Rifampisin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman buah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.)

1. Klasifikasi tanaman

Buah terong belanda memiliki sistematika sebagai berikut :

Botani

Sinonim : *Chypomandra crassifolia* Machbride.

Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Solanales

Suku : Solanaceae

Marga : *Cyphomandra*

Spesies : *Cyphomandra betacea* Sendtn (Depkes 1995).



Gambar 1. Terong Belanda

2. Deskripsi tanaman

Terong belanda berupa perdu dengan tinggi \pm 3 meter, batang berkayu, memiliki cabang, bentuk bulat telur, ujung meruncing, pangkal berlekuk, tepi rata, panjang 20-30 cm, lebar 10-19 cm, pertulangan menyirip dan berwarna hijau.

Bunga majemuk, berbentuk tandan, berkelopak lima, warna kuning keunguan, mahkota berbentuk bintang, benang sari lima, putik satu, tangkai putik putih, kepala putik kuning muda, putih keunguan.

Buah berbentuk buni, bulat telur, ujung runcing, masih muda hijau setelah tua merah kecokelatan. Biji berbentuk bulat, masih muda putih setelah tua kuning. Akar tanaman tunggang dan berwarna coklat (Depkes 1995).

3. Nama daerah

Nama umum buah ini terong madras, di daerah Sumatera disebut terong belanda (Melayu), daerah Jawa disebut terong menen (Sunda) dan terong madras (Jawa Tengah) (Depkes 1995).

4. Kandungan dan manfaat terong belanda

Khasiat buah terong belanda antara lain sebagai obat tekanan darah tinggi dan penyegar badan. Terong belanda sebagai obat tekanan darah tinggi, dipakai \pm 3 buah terong belanda, dikupas untuk sekali makan. Kandungan kimia yang dimiliki terong belanda antara lain flavonoid dan tannin (Depkes 1995). Penelitian yang dilakukan oleh Lister *et al.* (2005) bahwa terong belanda mengandung antioksidan antara lain antosianin, vitamin C, vitamin E dan β -karoten.

Kandungan antosianin pada terong belanda yaitu *pelargonidin-3-rutinosida*, *pelargonidin-3-glucoside*, *cyanidine-3-rutinosida*, *cyanidine-3-glucoside*, *delphinidin-3-rutinosida* dan *delphinidine-3-glucoside*. Pada terong

belanda, antosianin yang paling dominan adalah jenis *delphinidin-3-rutinoside*, sedangkan pada kulit terong belanda tergolong dalam jenis *cyanidin-3-rutinoside* (Wrolstad dan Heatherbell 2006).

Antosianin pigmen alami yang memberikan warna biru, ungu, merah dan orange pada buah dan sayuran. Antosianin merupakan salah satu antioksidan yang dapat mencegah stress oksidatif dan melindungi sel dari radikal bebas. Antosianin mengikat O_2 , OH^\cdot , ROO^\cdot , asam nitrat oksida dan peroksidasi lipid (Sawitri 2011). Selain berperan sebagai pewarna makanan, antosianin juga dipercaya berperan dalam sistem biologis, termasuk kemampuan sebagai pengikat radikal bebas (*free radical scavenging*), *cardio protective capacity* dan kemampuan untuk mengambat tahap inisiasi reaksi kimiawi yang menyebabkan karsinogenesis (Smith *et al.* 2000).

B. Tinjauan Umum Hati

Kuadran kanan atas abdomen didominasi oleh hati serta saluran empedu. Struktur ini dibahas bersama-sama tidak saja karena kedekatannya secara anatomis dan fungsinya yang saling terkait, tetapi juga penyakit yang mengenai organ ini mungkin memperlihatkan gambaran yang saling tumpang tindih. Pembahasan mengenai hati lebih dominan karena hati berperan lebih besar dalam fisiologi normal dan terkena penyakit yang lebih beragam (Robbins *et al.* 2007). Fungsi hati antara lain : 1) menyimpan berbagai senyawa, termasuk besi dan vitamin B_{12} serta vitamin A, 2) sel parenkim hepar yang terdiri dari 60 persen massa hepar, bertanggung jawab untuk konjugasi bilirubin dan untuk ekskresinya

ke dalam saluran empedu, 3) hepar merupakan pusat aktivitas metabolik bagi karbohidrat, protein dan lipid (Baron 1995).

1. Hepatotoksisitas

Obat yang dikatakan hepatotoksik adalah obat yang dapat menginduksi kerusakan hati atau biasanya disebut *drug induced liver injury* (Sonderup 2006). Hepatotoksisitas merupakan komplikasi potensi obat yang paling sering dijumpai dalam resep, Hal ini mungkin dikarenakan peran hati dalam memetabolisme obat (Aithal & Day 1999). Hepatotoksisitas akibat obat secara umum dibagi menjadi dua kategori besar, yaitu hepatotoksisitas intrinsik (disebut juga hepatotoksisitas direk atau dapat diprediksi) dan hepatotoksisitas idiosinkratik (disebut juga hepatotoksisitas indirek atau tidak dapat diprediksi). Contoh hepatotoksisitas intrinsik adalah hepatotoksisitas terhadap zat kimia industri maupun lingkungan atau toksin, seperti karbon tetraklorida, fosfor, atau beberapa jenis jamur yang mengakibatkan jejas hati. Sebaliknya, hepatotoksisitas idiosinkratik merupakan hepatotoksisitas yang disebabkan obat-obatan konvensional (Loho & Hasan 2014).

2. Kerusakan hati

Kerusakan sel hati selain disebabkan karena virus, juga dapat disebabkan oleh obat-obatan yaitu penggunaan obat dalam jangka waktu yang lama atau juga peminum alkohol. Obat yang dikatakan hepatotoksik adalah obat yang dapat menginduksi kerusakan hati atau biasanya disebut *drug induced liver injury* (Sonderup 2006).

Sudut pandang patologik hati merupakan organ dengan ragam respon yang terbatas terhadap cedera. Apapun penyebabnya, terdapat lima respon umum yang prosesnya dijelaskan oleh Robbins *et al.* (2007) secara ringkas sebagai berikut :

2.1. Peradangan. Cedera hepatosit yang menyebabkan influx sel radang akut atau kronis ke hati disebut hepatitis. Walaupun nekrosis hepatosit mungkin mendahului peradangan. Peradangan mungkin terbatas di saluran porta atau mungkin meluas ke parenkim, jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag akan dengan cepat menelan sel yang mati, membentuk gumpalan sel radang di parenkim yang normal. Benda asing, organisme dan berbagai obat dapat memicu granulomaltosa (Robbins *et al.* 2007).

2.2. Degenerasi. Kerusakan akibat gangguan toksik atau imunologis dapat menyebabkan hepatosit membengkak, tampak edematosa (degenerasi balon), dengan sitoplasma irregular bergumpal dan rongga-rongga jernih yang lebar. Selain itu bahan empedu yang tertahan dapat menyebabkan hepatosit tampak membengkak seperti berbusa (degenerasi busa) (Robbins *et al.* 2007).

2.3. Kematian Sel. Hampir semua gangguan yang signifikan terhadap hati dapat menyebabkan destruksi hepatosit (Robbins *et al.* 2007). Kematian hepatosit dapat terjadi melalui dua proses, yaitu proses yang diperantarai apoptosis atau nekrosis. Pada apoptosis, terjadi pengerutan dan fragmentasi sel menjadi pecahan-pecahan kecil dengan membran sel tetap utuh. Sedangkan proses nekrosis menyebabkan hilangnya fungsi mitokondria dan deplesi ATP yang menyebabkan pembengkakan dan lisis sel yang merangsang terjadinya proses inflamasi lokal (Navarro 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Lee (2003)

mengungkapkan proses apoptosis dan nekrosis tersebut tercetus melalui berbagai mekanisme. Sebagian besar kasus diawali dengan bioaktivasi obat menjadi metabolit reaktif yang mampu berinteraksi dengan makromolekul seluler, seperti protein, lemak dan asam nukleat. Hal ini menyebabkan disfungsi protein, peroksidasi lipid, kerusakan DNA, dan stress oksidatif. Selain itu, metabolit reaktif ini dapat mencetuskan gangguan pada gradien ionik dan penyimpanan kalsium intraseluler, menyebabkan terjadinya disfungsi mitokondria dan gangguan fungsi energi. gangguan fungsi seluler ini pada akhirnya dapat menyebabkan kematian sel dan gagal hati.

2.4. Fibrosis. Berbagai bentuk dari kerusakan sel hepar ditandai dengan adanya fibrosis. Fibrosis merupakan peningkatan deposisi komponen matrix ekstraseluler (kolagen, glikoprotein, proteoglikan) di hepar (Doubatty 2009). Jaringan fibrosa terbentuk sebagai respon terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hati. Tidak seperti lesi lain yang reversible, fibrosis umumnya dianggap sebagai konsekuensi irreversible kerusakan hati, tetapi semakin banyak bukti bahwa berhentinya cedera hati pada keadaan tertentu dapat menyebabkan berkurangnya fibrosis (Robbins *et al.* 2007).

2.5. Sirosis. Sirosis hepatis merupakan keadaan yang menggambarkan akhir dari perjalanan histologi pada berbagai macam penyakit hepar kronik. Istilah sirosis pertama kali diperkenalkan oleh Laennec tahun 1826. Istilah ini diambil dari bahasa Yunani yaitu *scirrhus* yang digunakan untuk mendeskripsikan permukaan hepar yang berwarna oranye jika di lihat pada saat autopsi. Tapi karena kemudian arti kata sirosis atau *scirrhus* banyak yang salah menafsirkannya akhirnya istilah ini berubah artinya menjadi pengerasan (Doubatty 2009).

Pengertian sirosis hati dapat dikatakan sebagai suatu keadaan disorganisasi yang difuse dari struktur hati yang normal akibat nodul regeneratif yang dikelilingi jaringan mengalami fibrosis. Secara lengkap sirosis hati adalah suatu penyakit dimana sirkulasi mikro, anatomi pembuluh darah besar dan seluruh sistem hati mengalami perubahan menjadi tidak teratur dan terjadi penambahan jaringan ikat (fibrosis) pada sekitar hati yang mengalami regenerasi. (Baron 1995).

3. Tes fungsi hati

3.1 Bilirubin. Bilirubin di dalam tubuh, sebagian besar terbentuk di jaringan dari pemecahan hemoglobin (Ganong 2002). Bilirubin juga terbentuk dari hasil perputaran hemoprotein hati dan dari destruksi premature eritrosit yang baru terbentuk dalam sum-sum tulang (Robbins 2007). Bilirubin berikatan dengan albumin di dalam peredaran darah. Sebagian berikatan erat, namun sebagian besar dapat terurai di hati dan bilirubin bebas masuk ke dalam sel-sel hati, kemudian berikatan dengan protein-protein sitoplasma. Bilirubin kemudian dikonjugasikan dengan asam glukoronat dalam suatu reaksi yang dikatalis oleh enzim *glukoronil transferase* (UDP-glukoroniltransferase). Enzim ini terutama terdapat di retikulum endoplasma halus. Setiap molekul bilirubin berinteraksi dengan 2 molekul asam uridin difosfolukoronat (UDPGA) membentuk bilirubin diglukoronida. Glukoronida ini, yang lebih mudah larut dalam air daripada bilirubin bebas., lalu diangkut melawan gradient konsentrasi oleh suatu proses aktif ke dalam kanakulus biliaris. Sejumlah kecil bilirubin glukoronida masuk ke dalam darah, dan kemudian berikatan dengan albumin tetapi dengan kekuatan

yang lebih rendah dari bilirubin bebas dan diekskresikan melalui urin. Dengan demikian bilirubin total mencakup bilirubin bebas ditambah sebagian kecil bilirubin terkonjugasi, sebagian bilirubin glukoronida disalurkan melalui duktus biliaris di dalam usus (Ganong 2002).

Mukosa usus relatif tidak permeable terhadap bilirubin terkonjugasi tetapi permeable terhadap bilirubin tidak terkonjugasi dan terhadap urobilinogen, yaitu bilirubin tidak berwarna yang terbentuk oleh kerja bakteri di usus, hal tersebut menyebabkan sebagian pigmen empedu dan urobilinogen diserap kembali ke dalam sirkulasi portal. Sebagian zat yang diserap ulang ini kemudian disekresikan kembali oleh hati (sirkulasi enterohepatik), tetapi sejumlah kecil urobilinogen masuk ke dalam sirkulasi umum dan disekresikan di urin (Ganong 2002).

Penumpukan bilirubin bebas atau bilirubin terkonjugasi dalam darah, warna kulit, sklera dan membrane mukosa menjadi kuning. Warna kuning ini dikenal sebagai ikterus (*jaundice*) dan dapat terditeksi apabila bilirubin plasma total lebih besar dari 2 mg/dL (34 μ mol/L). Penyebab hiperbilirubinemia disebabkan oleh 1).Pembentukan bilirubin berlebihan (anemia hemolitik), 2).Penurunan ambilan bilirubin oleh sel hati, 3).Gangguan konjugasi atau pengikatan protein intrasel, 4).Gangguan sekresi bilirubin terkonjugasi ke dalam kanakulis biliaris dan 5).Sumbatan dukus biliaris intra ataupun ekstrahepatik. Bilirubin bebas dapat meningkat oleh salah satu dari 3 proses pertama. Apabila disebabkan oleh gangguan sekresi bilirubin terkonjugasi atau sumbatan dukus biliaris, bilirubin glukoronida akan kembali ke dalam aliran darah dan di dalam plasma yang terutama meningkat adalah bilirubin terkonjugasi (Ganong 2002). Rentang nilai normal bilirubin total 0,1-1,0 mg/dL (Sacher dan McPherson 2012).

3.2. ALP (Alkaline Phosphatase). ALP merupakan enzim yang berperan dalam mempercepat hidrolisis fosfat organik dengan melepaskan fosfat anorganik. Enzim ini ditemukan pada sel-sel hati yang berada di dekat saluran empedu. Peningkatan ALP merupakan salah satu pertanda adanya sumbatan pada saluran empedu. (Sari *et al*, 2008). Rentang nilai normal ALP pada anak usia 3-15 tahun 117-390 U/L dan dewasa 31-97 U/L (Sacher dan McPherson 2012). Kenaikan ALP disebabkan, enzim ini terdapat di epitel saluran empedu dan di membran kanakulis hepatosit yang masuk ke dalam sirkulasi darah akibat efek detergen garam-garam empedu yang tertahan di membran hepatosit (Robbins 2007). Enzim ini akan meningkat 3-10 kali dari nilai normal sebelum timbul ikterus . Pengukuran alkaline phosphatase penting dilakukan untuk mengetahui toksisitas kolestatik atau hepatic dari banyak obat (Baron 1995).

4. Methicol®

Methicol® merupakan sediaan farmasi dari pabrik Otto, dalam setiap tabletnya mengandung metionin 100 mg, kolin bitartrat 100 mg, vitamin B1 nitrat 2 mg, vitamin B6 HCl 2 mg, vitamin B12 0,67 µg, vitamin E 3 mg, vitamin H 100 µg, vitamin kalsium pantotenat 3 mg, asam folat 400 µg, nikotinamid 6 mg. Indikasi Methicol® untuk penyakit hati menular, degradasi lemak atau infiltrasi hati, serta gangguan akibat obat-obatan (Arianti 2012).

Arianti (2012) mengungkapkan dalam penelitiannya, Methicol® mengandung dua zat lipotropik, yaitu Methionine dan Choline. Methionine bekerja melawan keracunan yang disebabkan oleh hepatotoksin serta memiliki peranan dalam metabolisme hati, sedangkan choline sebagai suatu zat lipotropik

yang mencegah dan menghilangkan perembesan lemak ke dalam hati, bekerja melawan keracunan dengan memperlancar proses transmetilasi. Vitamin B kompleks sebagai ko-enzim dibutuhkan dalam proses-proses di dalam jaringan hati, seperti metabolisme asam amino, lemak dan kolesterol, atau proses metilasi dan transmetilasi. Vitamin E merupakan faktor yang penting dalam metabolisme lemak.

C. Obat Tuberkulosis

Tuberkulosis merupakan masalah kesehatan yang penting di Indonesia. Indonesia menjadi negara dengan prevalensi tuberkulosis tertinggi ke-5 di dunia setelah Bangladesh, China, Korea, dan India. Jumlah pasien tuberkulosis di Indonesia adalah sekitar 5,8% dari total jumlah pasien tuberkulosis di dunia. Setiap tahunnya diperkirakan terdapat 528.000 kasus tuberkulosis baru, dengan angka kematian sekitar 91.000 orang. Prevalensi tuberkulosis di Indonesia tahun 2009 adalah 100/100.000 penduduk dan 70% diantaranya merupakan pasien dalam usia produktif. Tuberkulosis adalah penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Goodman & Gilman 2014).

Obat-obatan yang digunakan dalam pengobatan tuberkulosis dapat dibagi menjadi dua kategori utama. Obat-obatan pilihan pertama menggabungkan tingkat efikasi terbesar dengan suatu derajat toksisitas yang dapat diterima. Kategori ini meliputi isoniazid, rifampisin, etambutol, streptomisin dan pirazinamida. Sebagian besar pasien tuberkulosis berhasil ditangani dengan obat-obatan ini. Pada pasien dengan tuberkulosis yang tidak resisten terhadap obat, hasil yang

sangat baik dapat dicapai dengan pengobatan selama 6 bulan, isoniazid, rifampisin dan pirazinamida dapat diberikan selama 2 bulan pertama, dilanjutkan dengan isoniazid dan rifampisin pada 4 bulan berikutnya. Pemberian rifampisin dalam kombinasi dengan isoniazid selama 9 bulan juga merupakan terapi yang efektif untuk semua bentuk penyakit yang disebabkan oleh galur *Mycobacterium tuberculosis* yang rentan terhadap dua obat tersebut (Tjay dan Rahardja 2007).

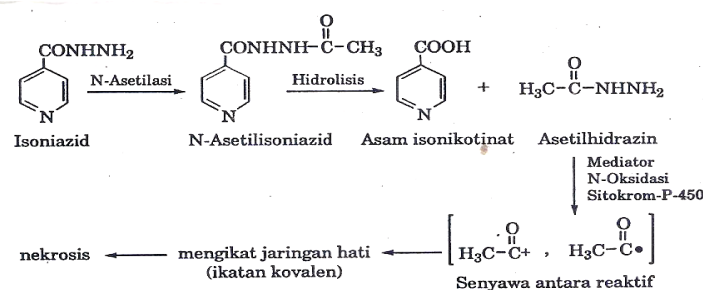
1. Isoniazid (INH)

Isoniazid (Isonikotinhidrazid atau INH) merupakan suatu hidrazid dari asam isonikotinat. Obat ini, digunakan untuk semua tipe tuberculosis terutama dalam kombinasi. Sebagai profilaktik dapat digunakan dalam bentuk tunggal. Isoniazid sebagai bakterisid dapat digunakan untuk infeksi bakteri intraselular dan ekstraselular terutama mikobakteri yang memerlukan biosintesis asam mikolat dalam dinding selnya (Wattimena *et al.* 1991). Kekosongan asam mikolat menyebabkan struktur dinding sel menjadi lemah kemudian pecah sehingga menyebabkan mikobakteri mengalami kematian (Siswandono dan Soekardjo 1995).

Sediaan lazim dari isoniazid berupa tablet 100 mg dan 300 mg per tablet, bentuk sediaan oral 10 mg/ml. Penggunaan secara oral dapat digunakan dalam dosis tunggal atau dua kali sehari dengan dosis 10 mg/kg, maksimum 600 mg/hari pada orang dewasa. Profilaktik pada anak-anak 5 mg/kg sekali, 10 mg/kg sehari dan maksimum 300 mg sehari untuk terapi. Dosis untuk terapi 5-15 mg/kg sekali, 10-30 mg/kg sehari dan peningkatan dosis dapat dilakukan hingga 300-500 mg sehari. Pemberian isoniazid secara oral atau parenteral dapat diabsorpsi secara baik.

Konsentrasi puncak dalam plasma 1-2 jam setelah pemberian oral dengan dosis lazim adalah 3-5 ug/ml (Wattimena *et al.* 1991).

Metabolisme isoniazid terutama melalui proses asetilasi. Faktor genetik mempengaruhi proses ini. Reaksi asetilasi melibatkan perpindahan gugus asetil dan dikatalisis oleh enzim N-asetil tranferase. Asetilator lambat memiliki enzim N-asetil tranferase yang lebih sedikit dibandingkan dengan asetilator cepat. Aktivitas antituberkulosis isoniazid sangat tergantung dari kecepatan asetilasi. Isoniazid cepat diekskresikan dalam bentuk asetilisoniazid yang tidak aktif pada asetilator lambat, sehingga obat mempunyai masa kerja pendek dan memerlukan dosis pengobatan yang lebih besar. Proses asetilator lambat pada isoniazid memungkinkan terjadinya efek samping yang tidak diharapkan lebih besar. Asetilasi merupakan jalur metabolisme obat yang mengandung gugus amin primer. Hasil N-asetilasi tidak banyak meningkatkan kelarutan dalam air. Asetilasi berfungsi membuat senyawa tidak aktif dan mudah didetoksifikasi. Kadang hasil N-asetilasi lebih aktif dari senyawa induknya atau bersifat lebih toksik , contohnya : N-asetilisoniazid (Siswandono dan Soekardjo 1995).



Gambar 2. Reaksi asetilasi dan biotoksifikasi isoniazid (Siswandono dan Soekardjo. 1995)

Proses asetilator cepat pada isoniazid menyebabkan kerusakan hati, karena N-asetilisoniazid terhidrolisis menjadi asetilhidrazin dan kemudian teroksidasi

menghasilkan senyawa antara yang bersifat reaktif yang dapat mengikat jaringan hati melalui ikatan kovalen dan menyebabkan nekrosis (Siswandono dan Soekardjo 1995).

2. Rifampisin

Rifampisin merupakan turunan dari rifamisin, antibiotik yang berasal dari *S. mediterranei*. Aktivitas rifampisin secara *in vivo* dan *in vitro* pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Rifampisin lebih aktif terhadap sel yang sedang bermultiplikasi dan sel bakteri yang beristirahat (Siswandono dan Soekardjo 1995). Secara *in vitro* dengan konsentrasi 0,005-0,2 µg/ml dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis*. Mekanisme kerja rifampisin yaitu menghambat RNA-polimerase yang tergantung pada DNA dari mikobakteri dan beberapa mikroorganisme, di mana terjadi penekanan inisiasi pembentukan rantai dalam sintesis RNA. Obat ini bekerja spesifik pada subunit β pada kompleks enzim yang bersangkutan. Penggunaan rifampisin pada konsentrasi tinggi untuk mengibisi enzim bakteri dapat juga mengibisi sintesis RNA dalam mitokondria mamalia. Rifampisin bentuk kapsul diberikan dalam dosis 600 mg atau 10-20 mg/kg/hari untuk dewasa dan anak-anak. dosis maksimum anak-anak 600 mg/hari. Konsentrasi puncak rifampisin secara oral dalam waktu 2-4 jam. Eliminasi dalam empedu setelah 6 jam, dalam proses ini terjadi deasetilasi. Metabolit ini tetap mempunyai aktivitas antibakteri, namun reabsorpsi intestinalnya berkurang. Waktu paruh rifampisin bervariasi antara 1,5- 5 jam dan akan lebih besar pada gangguan fungsi hati (Wattimena *et al.* 1991).

Rifampisin merupakan induser kuat sistem CYP 450 pada hati dan usus, yang dapat meningkatkan metabolisme dari senyawa lain. Penggunaan kombinasi

rifampisin dan isoniazid telah dihubungkan dengan peningkatan risiko hepatotoksik. Rifampisin menginduksi hidrolasi isoniazid, sehingga meningkatkan produksi hidrazine ketika dikombinasikan dengan isoniazid (terutama pada asetilator lambat) yang dapat lebih meningkatkan toksisitas dari kombinasi tersebut (Rahman 2013).

Periode pertama pemakaian rifampisin dapat terjadi sakit kuning akibat kenaikan eksresi biliar akibat induksi enzim, selain akibat kenaikan ekskresi empedu oleh sel-sel hati, sakit kuning dapat juga disebabkan pertukaran kompetitif bilirubin di mana kemudian masuk ke dalam peredaran darah dalam bentuk konjugasinya. Terjadinya gangguan hati dapat dikurangi dengan menekan dosis pemakaian obat ini, bila tetap muncul gejala hepatitis maka pemakaian obat ini harus dihentikan (Wattimena *et al.* 1991). Rifampisin dapat menghambat eksporter garam empedu dan mengganggu klirens bilirubin pada membran sinusoidal. Secara klinis, hepatotoksik yang utama dari rifampisin adalah kolestatik (Abidin *et al.* 2016).

D. Hewan uji

1. Sistematika tikus putih

Sistematika tikus putih menurut Sugiyanto (1995), adalah sebagai berikut:

Filum : Chordata
Sub filum : Vertebrata
Kelas : Plasentalia

Bangsa : Rodentia
Suku : Muidae
Marga : Ratus
Jenis : *Rattus novergicus*

2. Karakter utama tikus putih

Menurut Sugiyanto (1995) Penentuan jenis kelamin hewan uji dapat digunakan suatu sumber variasi availabilitas sistemik, distribusi dan kecepatan eliminasi obat-obatan. Tikus jantan kecepatan metabolismenya lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Kondisi biologis tubuh tikus jantan lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina yang secara berkala dalam tubuhnya mengalami berbagai perubahan kondisi seperti masa menstruasi, kehamilan, dan menyusui.

Umumnya berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur 4 minggu beratnya 35-40 gram dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram, tetapi tergantung pada galur. Tikus jantan tua dapat mencapai 500 gram tetapi tikus betina jarang lebih dari 350 gram. Lama hidup tikus 2-3 tahun, bahkan sampai 4 tahun. Umur dewasa tikus sekitar 40-60 hari dan dapat dikawinkan saat umur 10 minggu. Perkawinan terjadi pada saat estrus (masa birahi). Siklus estrus 4-5 hari dan lamanya 9-20 jam (Mangkoewidjojo 1988).

3. Pemberian obat atau senyawa lain pada hewan percobaan

Pemberian secara oral melalui mulut dapat dicampur dengan makanan atau minuman dan biasanya dilakukan perlakuan untuk jangka waktu lama. Pemberiannya dilakukan dengan jarum khusus, dengan ukuran 20 dan panjang

kira-kira 5 cm untuk memasukkan secara langsung ke dalam lambung melalui esophagus. Jarum oral ini ujungnya ke samping (Mangkoewidjojo 1988).

4. Pengambilan darah hewan percobaan

Pengambilan darah dengan volume yang diperlukan hanya sedikit, darah dapat diperoleh dengan memotong ujung ekor, atau dari vena ekor, juga jari kaki dapat dipotong tetapi hanya kalau kandang tikus bersih sekali supaya jari tidak terinfeksi. Pengambilan darah dari vena ekor sukar karena perlu jarum intradermal kecil sekali, biasanya dengan ukuran 28 (*28 gauge*). Sering kali dengan jarum sekecil ini, darah dalam jarum menjedal sebelum diperoleh cukup banyak darah.

Pengambilan darah dengan volume yang cukup banyak biasanya dapat diperoleh dengan volume yang cukup banyak biasanya diperoleh dari *sinus orbitalis*. Darah diambil dari medial *canthus sinus orbitalis* dan yang penting bahwa posisi tabung kapiler harus betul-betul tepat saat pengambilan darah (Mangkoewidjojo 1988).

E. Landasan Teori

Hati merupakan salah satu organ tubuh yang memiliki fungsi yang kompleks, diantaranya berperan dalam memetabolisme karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan obat-obatan dan mempertahankan homeostatis tubuh (Robbins 2007). Gangguan fungsi hati dapat menyebabkan satu atau lebih fungsi hati akan melamah (Baron 1995). Sondrup (2006) memaparkan bahwa kerusakan hati dapat disebabkan karena virus tetapi dapat juga disebabkan oleh penggunaan obat-obatan dalam jangka waktu lama.

Isoniazid merupakan obat kemoterapi terpenting terhadap berbagai tipe tuberculosis dan selalu sebagai multiple terapi dengan rifampisin (Tjay & Rahardja 2007). Efek samping dari isoniazid salah satunya adalah kerusakan hati. Metabolit isoniazid, asetilhidrazin dapat menyebabkan kerusakan hati (Wattimena 1991). Asetilhidrazin terbentuk dari proses asetilator cepat menghasilkan asetilhidrazin. Kemudian, asetilhidrazin ini teroksidasi membentuk senyawa reaktif yang mengikat jaringan hati melalui ikatan kovalen sehingga menyebabkan nekrosis pada hati (Siswandono dan Soekardjo 1995). Penggunaan rifampisin pertama kali dapat menyebabkan penyakit kuning akibat kenaikan ekskresi biliar akibat induksi enzim, selain akibat kenaikan ekskresi empedu oleh sel-sel hati, sakit kuning juga disebabkan pertukaran kompetitif bilirubin di mana kemudian masuk ke dalam peredaran darah dalam bentuk konjugasinya (Wattimena *et al.* 1991). Rifampisin adalah induser kuat sistem CYP450 pada hati dan usus, yang dapat meningkatkan metabolisme dari senyawa lain. Penggunaan kombinasi rifampisin dan isoniazid telah dihubungkan dengan peningkatan risiko hepatotoksik. Rifampisin menginduksi hidrolasi isoniazid, sehingga meningkatkan produksi hidrazine ketika dikombinasikan dengan isoniazid (terutama pada asetilator lambat) yang mana dapat lebih meningkatkan toksisitas dari kombinasi tersebut (Rahman 2013). Rifampisin dapat menghambat pompa eksporter garam empedu dan mengganggu klirens bilirubin pada membran sinusoidal (Adidin *et al.* 2016).

Bilirubin merupakan hasil akhir katabolisme dari eritrosit. Eritrosit yang dihancurkan oleh makrofag akan melepaskan hemoglobin yang mengalami

degradasi menjadi heme dan globin dalam limpa. Heme kemudian dirubah menjadi *unconjugated /indirect bilirubin* (bilirubin tak terkonjugasi). Bilirubin ini terikat albumin kemudian masuk ke hati dan mengalami konjugasi dengan glukuronat menjadi *conjugated/direct bilirubin* (bilirubin terkonjugasi). Bilirubin total serum merupakan penjumlahan dari bilirubin terkonjugasi dengan bilirubin tak terkonjugasi (Sulaiman *et al* 2006).

Peningkatan kadar alkaline phosphate (ALP) dianggap sebagai indikator jejas hati, sedangkan peningkatan bilirubin total merupakan parameter penilaian fungsi hati secara keseluruhan. Jejas hati hepatoselular ditandai dengan peningkatan bilirubin total disertai sedikit peningkatan ALP, contohnya adalah jejas hati imbas isoniazid (Loho & Hasan 2014).

WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker (WHO 2008). Buah terong belanda mengandung senyawa-senyawa seperti flavonoid dan tannin (Anonim 2000). Selain itu mengandung antosianin, vitamin C, vitamin E dan β karoten (Lister *et al.*2005). Flavonoid mempunyai aktivitas hepatoprotektor dan merupakan senyawa pereduksi yang baik, karena mampu menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzimatis (Robinson 1995).

Sebagai antioksidan vitamin C berperan sebagai donor elektron, dengan cara memindahkan satu elektron ke senyawa logam Cu. Selain itu, vitamin C juga dapat menyumbangkan elektron ke dalam reaksi biokimia intraseluler. Di luar sel, vitamin C mampu menghilangkan senyawa oksigen reaktif (Winarsih 2007).

Berdasarkan hal tersebut, diharapkan kandungan antosianin dan vitamin C pada terong belanda dapat menjadi berkhasiat sebagai hepatoprotektor.

F. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

Pertama, sari buah terong belanda dapat mencegah peningkatan bilirubin dan ALP tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin.

Kedua, dosis paling tinggi dari sari buah terong belanda merupakan dosis yang optimal dalam mencegah peningkatan bilirubin dan enzim ALP tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.) yang diambil secara acak dari Desa Sikunang Dieng Kecamatan Kejajar Wonosobo.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.) yang sudah matang/masak, berwarna merah tua yang diambil secara acak dari Desa Sikunang Dieng Kecamatan Kejajar Wonosobo.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.).

Variabel utama kedua, kadar bilirubin total dan ALP tikus putih jantan yang diinduksi Isoniazid dan Rifampisin.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis sari buah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.).

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, galur, lingkungan tempat hidup, kondisi percobaan, laboratorium dan peneliti.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar bilirubin total dan aktivitas ALP dari serum darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi obat tuberkulosis (isoniazid dan rifampisin) dan diberi sari buah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, terong belanda adalah terong belanda yang diambil dari buah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.) yang sudah matang, berwarna merah keunguan yang diperoleh dari Desa Sikunang Dieng Kecamatan Kejajar Wonosobo.

Kedua, sari buah terong belanda adalah hasil perasan segar buah terong belanda yang sudah dicuci bersih kemudian dipotong kecil-kecil, dihaluskan dengan alat juicer dan diperas.

Ketiga, dosis sari buah terong belanda yang diberikan terdiri dari 3 variasi dosis, yaitu 17,5 g/kgBB, 35 g/kgBB, 70 g/kgBB (Syariah *et al.* 2011)

Keempat, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar sehat, usia 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kelima, aktifitas hepatoprotektor adalah perlindungan hati dari terong belanda dengan parameter penurunan kadar bilirubin dan aktivitas ALP.

Keenam, isoniazid dan rifampisin adalah obat tuberkulosis yang digunakan sebagai penginduksi kerusakan hati.

Ketujuh, bilirubin dan aktivitas ALP merupakan parameter uji fungsi hati. Pengukuran kadar Bilirubin dan aktivitas ALP secara fotometrik. Pengukuran kadar bilirubin dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546

nm. Pengukuran kadar aktivitas ALP dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 405 nm.

C. Alat, Bahan dan Hewan Percobaan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk pembuatan sari buah adalah, pisau, timbangan, blender (juicer) Miyako, mortir, stamper, labu takar (10 ml, 100 ml dan 500 ml), beaker glass (50 ml, 100 ml, dan 250 ml), gelas ukur (10 ml dan 100 ml) Pyrex.

Alat untuk pengambilan darah dan pengumpulan serum serta mengukur kadar bilirubin dan aktivitas ALP yaitu: sentrifuge, pipa kapiler, tabung reaksi Pyrex, Spektrofotometer Star Dust, klinipet (100 μ l dan 1000 μ l).

Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan percobaan adalah kandang, jarum oral, sarung tangan.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah terong belanda yang diperoleh dari Desa Sikunang Dieng Kecamatan Kejajar Wonosobo.

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah methicol[®] (PT. Otto), serbuk isoniazid dan rifampisin (PT. Phapros), CMC-Na (PT. Bratachem), etanol (PT, Brataco), asam klorida, besi (III) klorida, magnesium dan aquadestilata.

Reagen untuk mengukur kadar bilirubin dan ALP. Reagen untuk bilirubin terdiri atas R1 (NaCl, buffer phosphate, detergent dan penstabil) , R2 (HCl, detergent dan 2,4 dichlorophenol–diazonium salt). Reagen ALP terdiri atas R1

(diethanolamine pH 9,8 dan magnesium chloride), R2 (p-nitrophenylphosphate) (Dyasis[®] (Diagnostic System International) kit).

3. Hewan percobaan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan galur wistar usia 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Tikus yang digunakan dalam keadaan sehat yang dikondisikan dan memiliki berat badan ideal.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasiasi buah terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.)

Identifikasi tanaman bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang akan digunakan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologis terong belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn.) terhadap pustaka dan dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2. Penetapan dosis sediaan

Dosis yang digunakan sebagai acuan dalam menentukan variasi dosis terong belanda berdasarkan dosis pada penelitian yang dilakukan Syariah *et al.* (2011) yaitu dosis yang memberikan efek terbesar dalam menurunkan kolesterol total darah yaitu 3,5 g/100g BB atau 35 g/kg BB tikus.

Variasi dosis terong belanda pada penelitian ini sebesar 17,5 g/kg tikus, 35 g/kg BB tikus dan 70 g/kg BB tikus.

Dosis methicol[®] satu tabletnya yang digunakan pada manusia untuk sekali minum adalah 250 mg untuk pemberian 1-3 kali sehari. Konversi dari manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018. Sehingga untuk sekali pemberian sediaan untuk tikus dengan berat 200 gram 4,5 mg/200 g BB tikus atau 22,5 mg/kg BB tikus.

Dosis isoniazid dan rifampisin yang menunjukkan toksik terhadap hati sebesar 50 mg/kg BB tikus per hari (Rana *et al* 2006), dosis tersebut digunakan dalam penelitian ini.

3. Identifikasi kandungan sari buah terong belanda.

3.1 Identifikasi flavonoid. Dimasukan sebanyak 1 ml sari buah terong belanda ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium . Ditambahkan 1 ml alkohol dan pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat dan dibiarkan memisah. Warna merah, jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alcohol menunjukkan hasil positif (Depkes 1978).

3.2 Identifikasi saponin. Dimasukan sebanyak 1 ml sari buah terong belanda ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml aquadestilata panas, didinginkan. Dikocok kuat-kuat selama 10 detik. buih yang terbentuk selama ±10 menit dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang menunjukkan hasil positif (Depkes 1978).

3.3 Identifikasi tannin. Dimasukan sebanyak 1 ml sari buah terong belanda ke dalam tabung reaksi, Ditambahkan aquadestilata kemudian dididihkan selama beberapa menit. Disaring larutan dan ditambahkan FeCl₃ 1% (b/v). Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan hasil positif (Depkes 1978).

4. Pembuatan larutan uji

4.1 Pembuatan sari buah terong belanda. Buah terong belanda segar dicuci dengan air bersih dengan menggunakan air mengalir, ditiriskan, kemudian dipotong kecil-kecil. Buah dihancurkan dengan alat juicer untuk mendapatkan sarinya, kemudian disaring dengan kain flannel. Sari buah yang telah diperoleh dimasukkan ke dalam labu takar 25 ml, ditambahkan aquadestilata sampai tanda batas. Masing-masing tikus diberikan 2,1 ml/200 g BB sari buah terong belanda, untuk memperoleh dosis 17,5 g/ kg BB maka dibutuhkan potongan terong belanda sebanyak 41,667 g, dosis 35 g/kgBB sebanyak 83,333 g dan dosis 70 g/kgBB sebanyak 166,667 g.

4.2 Pembuatan suspensi Methicol® 1%. Ditimbang 4 tablet methichol® (250mg/tablet), kemudian dimasukkan dalam mortar dan digerus sampai homogen. Ditimbang serbuk setara dengan \pm 1 gram methicol® ke dalam labu takar 100 ml dan disuspensikan dengan larutan CMC-Na 0,5% sampai tanda batas.

4.3 Pembuatan larutan CMC-Na 0,5%. Ditimbang 2,5 gram CMC-Na, dimasukkan ke dalam 500 ml aquadestilata panas. Larutan ini digunakan sebagai suspending agent isoniazid, rifampisin, methicol® dan sebagai kontrol normal.

4.4 Pembuatan suspensi isoniazid 2%. Ditimbang sebanyak 2 gram serbuk baku isoniazid, dimasukan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan aquadestilata sampai tanda batas.

4.5 Pembuatan suspensi rifampisin 2%. Ditimbang sebanyak 2 gram serbuk baku rifampisin, dimasukan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan aquadestilata sampai tanda batas.

5. Prosedur uji hepatoprotektif.

5.1 Persiapan hewan uji. Tikus diadaptasikan terhadap lingkungan selama satu minggu. hal yang harus diperhatikan adalah kelembaban dan suhu karena hal tersebut dapat mempengaruhi hasil penelitian. Penimbangan dilakukan sebelum perlakuan untuk pengaturan dosis. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor. Setiap kelompok diberi pakan standar dan minum aquadestilata selama percobaan dilakukan.

Kontrol normal (Kelompok 1) diberi suspensi CMC 0,5%. Kontrol negatif (Kelompok 2) diberi suspensi obat tuberkulosis (isoniazid-rifampisin) dengan dosis masing-masing 50 mg/kg BB. Kontrol positif (Kelompok 3) diberi obat antihepatotoksik methicol[®] dosis 22,5 mg/kg BB, kemudian dilanjutkan dengan suspensi obat tuberkulosis (isoniazid-rifampisin) dengan dosis masing-masing 50 mg/kg BB.

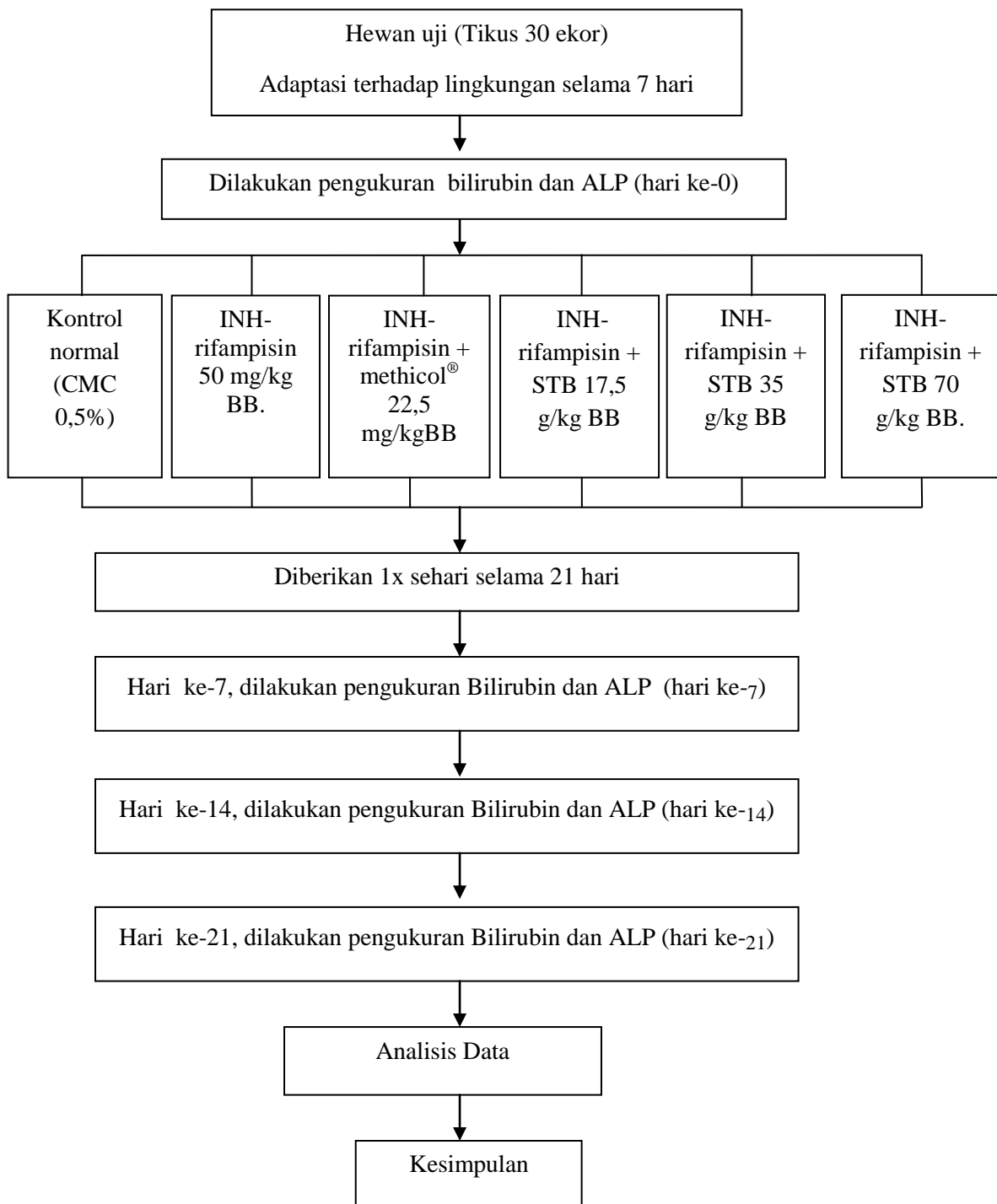
Kelompok 4 diberi sari buah terong belanda dengan dosis 17,5 g/kg BB. Kelompok 5 diberi sari buah terong belanda dengan dosis 35 g/kg BB. Kelompok 6 di beri sari buah terong belanda dengan dosis 70 g/kg BB dan dilanjutkan dengan pemberian suspensi obat tuberkulosis (isoniazid-rifampisin) dengan dosis masing-masing 50 mg/kg BB. Interval pemberian sari buah terong belanda dan isoniazid-rifampisin adalah 30 menit. Perlakuan dilakukan selama 21 hari. Bilirubin dan aktivitas ALP ditentukan pada hari ke 0, 7, 14, dan 21.

5.2 Pengambilan darah dan pengumpulan serum. Pengambilan darah pada tikus dilakukan melalui vena mata menggunakan pipa kapiler, darah ditampung dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 15 menit, disentrifuge

dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit agar sel-sel darah mengendap. Beningan di atas endapan diambil sebagai serum.

5.3 Pengukuran metabolit bilirubin dan ALP. Dipipet sebanyak 1000 μ l reagen kerja ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37^o C, selanjutnya ditambahkan 100 μ l serum dan diukur kadar bilirubin dan ALP. Pengukuran kadar bilirubin dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 546 nm. Pengukuran kadar aktivitas ALP dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 405 nm (Dyasis[®] (Diagnostic System International) kit).

RANCANGAN PENELITIAN



Keterangan : STB (sari terong belanda), INH (isoniazid), ALP (*alkaline phosphatase*)

Gambar 2 skema jalannya penelitian

E. Analisa Hasil

Analisa dilakukan menggunakan *SPSS for Windows release 17*. Langkah pertama yang dilakukan yaitu menguji distribusi normal dari data dengan uji *Shapiro wilk*, data terdistribusi normal jika $\rho > 0,05$ dan tidak normal jika $\rho < 0,05$. Data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk mengetahui kesamaan varian. Varian data sama apabila $\rho > 0,05$ sedangkan tidak sama bila $\rho < 0,05$. Data yang memiliki varian yang sama dilanjutkan dengan metode parametrik. Uji *One way Anova* digunakan untuk mendapatkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Jika $\rho > 0,05$ berarti terdapat perbedaan bermakna antara tiap kelompok, jika $\rho < 0,05$ memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara tiap kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *Post hoc* untuk mengetahui kelompok-kelompok yang memiliki perbedaan bermakna, uji *LSD Post hoc* digunakan untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Identifikasi Buah Terong Belanda

Tanaman terong belanda yang digunakan untuk bahan penelitian ini terlebih dahulu dilakukan identifikasi agar diketahui ciri-ciri tanaman berdasarkan morfologi yang ada pada tanaman, kebenaran tentang kebenaran tanaman yang digunakan dan menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi tanaman dilakukan di Departemen Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

Berdasarkan hasil identifikasi dinyatakan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah tanaman terong belanda *Chypomandra betaceae* (Cav.) Sendtn sesuai surat keterangan yang tercantum pada Lampiran 1.

B. Pembuatan Sari Buah Terong Belanda

Buah terong belanda untuk penelitian ini diperoleh dari desa Sikunang Dieng Kecamatan Kejajar Wonosobo, Jawa Tengah. Buah terong belanda matang segar yang berwarna merah dibersihkan dengan air bersih mengalir kemudian dikeringkan dengan kain bersih, selanjutnya dipotong kecil-kecil, ditimbang dan disari dengan alat juicer. Sari yang diperoleh tampung dalam labu takar ukuran 25 ml, ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

Tabel 1. Hasil pembuatan sari buah terong belanda

Sediaan (g/kgBB)	Berat potongan buah terong belanda (gram)	Hasil SBTB murni (ml)	Volume add (ml)
Dosis 17,5	41,667	6	25
Dosis 35	83,333	12	25
Dosis 70	166,667	25	25

Keterangan :SBTB (Sari Buah Terong Belanda)

C. Identifikasi Kandungan Kimia Buah Terong Belanda

Sari buah terong belanda yang diperoleh dengan menggunakan alat juicer dilakukan uji kualitatif dengan reaksi warna agar diketahui kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Identifikasi dilakukan untuk memastikan sari buah mengandung zat aktif berkhasiat. Hasil identifikasi sari buah terong belanda berdasarkan daftar pustaka dan percobaan yang dilakukan mengandung flavonoid, saponin dan tannin, dapat dilihat pada tabel di bawah ini dan tercantum pada Lampiran 5.

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan kimia sari buah terong belanda

Kandungan Kimia	Metode	Pustaka	Hasil percobaan
Flavonoid	Sampel diencerkan dengan sedikit air, didihkan selama 15 menit, disaring + serbuk Mg + 2 ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) + pelarut amil alkohol kocok kuat biarkan memisah.	Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Anonim 1995).	Warna jingga pada lapisan amil alkohol
Saponin	Sampel dididihkan dengan air, didinginkan, dikocok, diamkan selama beberapa menit	Terbentuk buih yang mantap ± 10 menit (Anonim 1987)	Terbentuk buih yang mantap
Tanin	Sampel dididihkan dengan air, disaring kemudian ditambahkan FeCl ₃ 1 %	Warna biru tua atau hitam kehijauan (Anonim 1978)	Warna hitam kehijauan

D. Hasil pengujian

1. Hasil pemeriksaan kadar bilirubin pada tikus jantan

Data kualitatif pengukuran Bilirubin pada tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 14, dari tabel tersebut dapat dilihat peningkatan bilirubin pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-21 mengalami kenaikan.

Tabel 3. Data kualitatif rata-rata hasil pengukuran kadar bilirubin total pada berbagai kelompok perlakuan.

Kelompok Uji	Hari ke-0	Rata- rata kadar bilirubin (mg/dL) setelah pemberian larutan uji		
		Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
1	0,4 ± 0,2	0,48 ± 0,18	0,58 ± 0,16 ^x	0,8 ± 0,23 ^x
2	0,36 ± 0,11	0,56 ± 0,18	1,02 ± 0,13 ^{ap}	1,44 ± 0,20 ^{ap}
3	0,46 ± 0,11	0,54 ± 0,15	0,56 ± 0,17 ^x	0,86 ± 0,29 ^x
4	0,32 ± 0,13	0,5 ± 0,16	0,92 ± 0,15 ^{ap}	1,28 ± 0,41 ^a
5	0,46 ± 0,21	0,66 ± 0,11	0,8 ± 0,16 ^{axp}	1,06 ± 0,20 ^x
6	0,38 ± 0,008	0,56 ± 0,13	0,68 ± 0,13 ^x	0,9 ± 0,22 ^x

Keterangan:

1: Kontrol normal (CMC 0,5%)

2: Kontrol negatif (Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

3: Kontrol positif (Methicol 22,5mg/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

4: Sari buah terong belanda (17,5 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

5: Sari buah terong belanda (35 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

6: Sari buah terong belanda (70 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

a : $\rho < 0,05$ terhadap kontrol normal

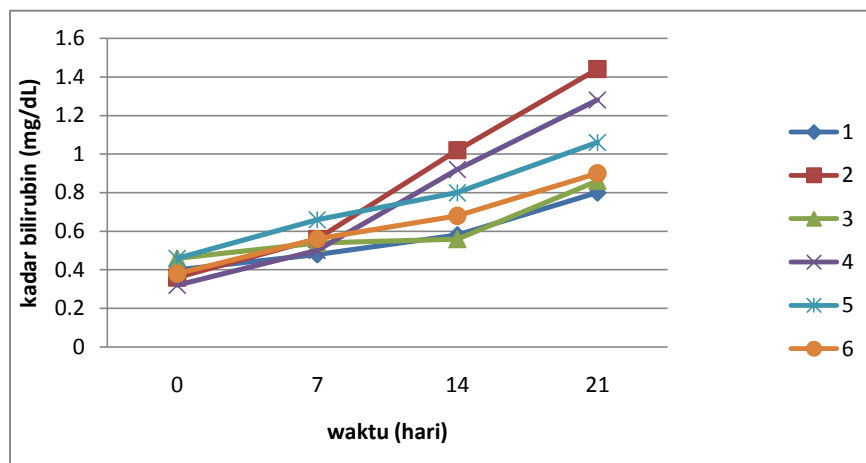
x : $\rho < 0,05$ terhadap kontrol negatif

p : $\rho < 0,05$ terhadap kontrol positif

Kadar bilirubin mulai meningkat pada hari ke-14. Kelompok kontrol normal dan kontrol methicol[®] berbeda signifikan terhadap kontrol hepatotoksik yang hanya diinduksi isoniazid dan rifampisin. Pada kelompok 4 terdapat perbedaan terhadap kontrol normal dan kontrol methicol[®], artinya pemerian sari buah terong belanda 17,5 g/ kg BB tidak mencegah kenaikan bilirubin. Kelompok 5 berbeda signifikan terhadap kontrol normal, kontrol hepatotoksik dan kontrol methicol[®], sari buah terong belanda 35 g/kg BB dapat mencegah kenaikan bilirubin namun, tidak sebaik methicol[®]. Kelompok 6 terdapat perbedaan

signifikan pada kontrol hepatotoksik, artinya dosis tersebut dapat mencegah kenaikan kadar bilirubin.

Hari ke-14, kadar bilirubin pada kontrol normal dan kontrol methicol[®] terdapat perbedaan terhadap kontrol hepatotoksik. Kelompok 4 signifikan terhadap kontrol normal, dosis ini tidak dapat menghambat kerusakan hati akibat induksi isoniazid dan rifampisin. Pada kelompok 5 dan kelompok 6 terdapat beda signifikan terhadap kontrol sakit namun, Kelompok 6 lebih mendekati nilai kontrol normal dan kontrol methicol[®], sari terong belanda 70 g/kg BB lebih efektif dalam menghambat kerusakan hati akibat induksi isoniazid dan rifampisin.



Gambar 4. Grafik hubungan rata-rata kadar bilirubin dengan waktu pemeriksaan darah tikus.

Keterangan : 1: Kontrol normal (CMC 0,5%), 2: Kontrol negatif (Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 3: Kontrol positif (Methicol 22,5mg/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 4: Sari buah terong belanda (17,5 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 5: Sari buah terong belanda (35 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 6: Sari buah terong belanda (70 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB).

Bilirubin adalah pigmen empedu yang berasal dari sel eritosit tua yang dihancurkan di limpa serta dari sumber-sumber lain seperti mioglobin dan

sitokrom. Penyebab peningkatan kadar bilirubin total adalah kebocoran bilirubin dari sel-sel hati atau duktuli (Baron 1992).

2. Hasil pemeriksaan aktivitas ALP pada tikus jantan

Data kualitatif pengukuran ALP pada tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 3. Data selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 14, dari tabel tersebut dapat dilihat peningkatan ALP pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-21 mengalami kenaikan.

Tabel 4. Data kualitatif rata-rata hasil pengukuran aktivitas ALP pada berbagai kelompok perlakuan.

Kelompok uji	Hari ke-0	Rata-rata kadar ALP (U/L) setelah pemberian larutan uji		
		Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
1	589,8 ± 43,38	604,4 ± 51,68 ^{xp}	618,4 ± 64,44 ^{xp}	646,6 ± 34,33 ^{xp}
2	607 ± 57,42	694,8 ± 39,85 ^a	742,2 ± 34,56 ^{ap}	939,8 ± 11,45 ^{ap}
3	590,2 ± 30,21	655 ± 46,18 ^a	668,6 ± 7,76 ^{ax}	733 ± 29,79 ^{ax}
4	590,2 ± 30,21	640,4 ± 6,54 ^x	705 ± 22,27 ^a	854,4 ± 36,34 ^{xp}
5	627,6 ± 9,21	654,2 ± 40,0 ^a	692,8 ± 31,30 ^{ax}	770,6 ± 19,73 ^{xp}
6	614,8 ± 66,82	657,8 ± 32,87 ^a	687,8 ± 33,66 ^{ax}	759,2 ± 31,99 ^{ax}

Keterangan:

1: Kontrol normal (CMC 0,5%)

2: Kontrol negatif (Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

3: Kontrol positif (Methicol 22,5mg/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

4: Sari buah terong belanda (17,5 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

5: Sari buah terong belanda (35 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

6: Sari buah terong belanda (70 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB)

a : $\rho < 0,05$ terhadap kontrol normal

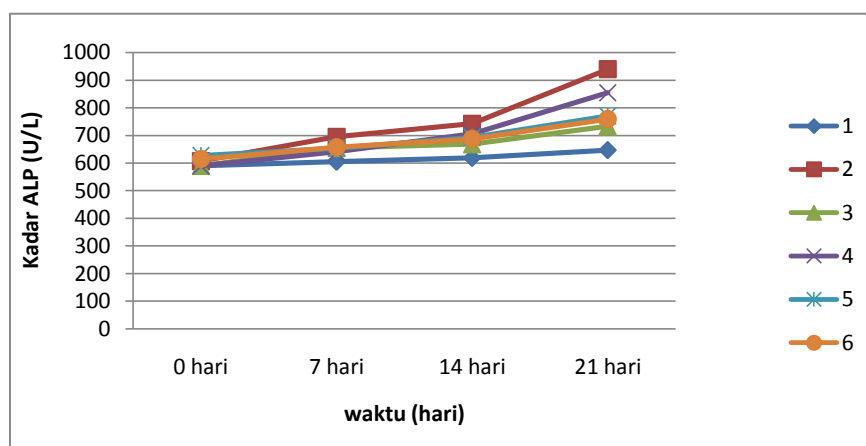
x : $\rho < 0,05$ terhadap kontrol negatif

p : $\rho < 0,05$ terhadap kontrol positif

Pada hari ke-7, antara kontrol normal, kontrol hepatotoksik dan kontrol methicol[®] terdapat perbedaan bermakna. Kelompok 6 memiliki perbedaan dengan kontrol normal, artinya terdapat kenaikan aktivitas ALP, kelompok 5 dan kelompok 6 berbeda signifikan terhadap kontrol normal dan kontrol hepatotoksik, pada dosis ini tidak berbeda dengan kontrol methicol[®].

Pengukuran ALP pada hari ke-14 terdapat perbedaan signifikan antara kontrol normal, kontrol hepatotoksik dan kontrol methicol[®]. Kelompok 4 berbeda signifikan terhadap kontrol normal. Kelompok 5 dan kelompok 6 berbeda dengan kontrol normal dan kontrol hepatotoksik, hal ini berarti dosis terong belanda 35 g/kg BB dan 70 g/kg BB memiliki efek mencegah kenaikan aktivitas ALP.

Hari ke-21, kelompok 4 dan kelompok 5 berbeda signifikan terhadap kontrol normal. Semakin lama waktu percobaan, dapat mengakibatkan kerusakan hati pada tikus sedangkan kelompok 6 atau dosis terong belanda 70 g/kg BB tidak berbeda dengan kontrol methicol[®].



Gambar 5. Grafik rata-rata aktivitas ALP dengan waktu pemeriksaan darah tikus.

Keterangan : 1: Kontrol normal (CMC 0,5%), 2: Kontrol negatif (Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 3: Kontrol positif (Methicol 22,5mg/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 4: Sari buah terong belanda (17,5 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 5: Sari buah terong belanda (35 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB), 6: Sari buah terong belanda (70 g/kgBB, Isoniazid 50mg/kgBB dan Rifampisin 50mg/kgBB).

Pemeriksaan kadar bilirubin menggunakan tes fotometrik dengan prinsip dalam kondisi larutan yang bersifat asam. Bilirubin langsung (direct) membentuk senyawa azo berwarna merah melalui diazotasi menjadi *2,4-dichloraniline*.

Campuran sabun tertentu memungkinkan penentuan dari bilirubin total. Metode penentuan kadar bilirubin total dengan menggunakan *2,4-dichloraniline*.

Rentang nilai normal bilirubin total 0,1-1,0 mg/dL (Sacher dan McPherson 2012). Judiance dapat terdeteksi apabila bilirubin plasma total lebih besar dari 2 mg/dL (Ganong 2002). Tikus pada kelompok 2 dengan kadar bilirubin saat hari ke-21 sebesar 1,44 mg/dL melebihi nilai normal. Hati pada tikus masih dapat mentoleransi induksi isoniazid dan rifampisin. Faktor penyebab peningkatan kadar bilirubin total adalah kebocoran bilirubin dari sel-sel hati atau sel duktuli, sehingga bilirubin dapat masuk ke dalam aliran darah, memasuki semua cairan tubuh seperti cairan otak, cairan asites atau mewarnai kulit dan skelera (Baron 1992). Kenaikan bilirubin secara normal dapat terjadi pada karena usia sel darah merah yang pendek dan mengalami lisis atau destruksi sehingga kadar bilirubin bebas akan meningkat (Puspitosari 2006) sehingga mempengaruhi bilirubin total yang merupakan penggabungan dari bilirubin bebas dan bilirubin terkonjugasi.

Prinsip kerja *Alkaline phosphatase* (ALP) adalah mengkatalis *p-Nitrophenylphosphate* dan air (H_2O) menjadi *phosphate* dan *p-Nitrophenol*. Pemeriksaan aktivitas ALP berdasarkan metode kinetik tes fotometrik sesuai dengan *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)*.

Alkaline phosphatase / fosfat (ALP) merupakan enzim yang mempercepat hidrolisis fosfat organik dengan melepaskan fosfat anorganik. Peningkatan ALP terjadi akibat kolestasis dan pada obstruksi intra maupun ekstrasiliar, enzim ini akan meningkat 3-10 kali dari nilai normal sebelum timbul ikterus (Baron 1992).

Tidak terjadi peningkatan 3-10 kali nilai enzim ALP pada setiap kelompok namun, peningkatan enzim ALP sudah terjadi pada kelompok 2. Artinya, sudah terjadi kerusakan tetapi belum terjadi kolestasis dan obstruksi intra maupun ekstrabiliar.

Nilai ALP yang tinggi pada saat awal pengukuran dapat diakibatkan proses berkembang secara normal tikus percobaan, mengingat tikus yang digunakan berusia 2 bulan, perkembangan pada tulang dan saluran pencernaan dapat mempengaruhi nilai ALP. Kee (2012) mengungkapkan bahwa ALP merupakan enzim yang diproduksi oleh hati dan tulang, enzim ini juga berasal dari usus, ginjal dan plasenta.

Isoniazid dapat menyebabkan kerusakan hati karena N-asetilisoniazid terhidrolisis menjadi asetilhidrazin melalui proses asetilator cepat. selanjutnya, teroksidasi menjadi senyawa yang reaktif dan dapat mengikat jaringan hati melalui ikatan kovalen sehingga terjadi nekrosis (Siswandono dan Soekardjo 1995). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun nonenzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida, sehingga dapat melindungi lipid membrane terhadap reaksi yang merusak (Robinson 1995).

Dosis yang optimal dalam mencegah peningkatan bilirubin dan aktivitas ALP sebesar 70 g/kgBB. Konsumsi untuk manusia setelah dikonversikan sebesar 784 g/ 70 gBB.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, sari buah terong belanda dapat mencegah peningkatan bilirubin dan enzim ALP tikus putih jantan yang diberikan induksi isoniazid dan rifampisin.

Kedua, dosis 70 g/kgBB sari buah terong belanda efektif dalam mencegah peningkatan bilirubin dan enzim ALP tikus putih jantan yang diberikan induksi isoniazid dan rifampisin.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui senyawa aktif sari buah terong belanda sebagai hepatoprotektor.

Kedua, perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas sari buah terong belanda untuk mengetahui efeknya bila digunakan dalam waktu yang lama.

DAFTAR PUSTAKA


- Abidin A, Keliat E. N, Zubir Z, Triyono. 2016. Drug Induced Liver Injury Tipe Kolestasis Akibat Rifampisin. Medan : FK USU
- Aithal, P.G., Day, C.P., 1999, *The Natural History of Histologically Proved Drug Induced Liver Disease*. GUT, 44:731–735.
- Arianti R. 2012. *Aktivitas Hepatoprotektor dan Toksisitas Akut Ekstrak Akar Alang-alang (Imperata cylindrical)* [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Baron DN. 1992. *Kapita Selekta Patologi Klinik. Ed ke- 4*. Andrianto P dan Gunawan J, penerjemah; Jakarta: EGC. Terjemahan dari: A Short Textbook of Chemical Pathology. hlm. 113-231.
- [Depkes RI] Departemen Republik Indonesia. 1978. *Materia Medika Indonesia Jilid II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hm 91-95.
- [Depkes RI] Departemen Republik Indonesia. 1987. *Analisa Obat Tradisional Jilid I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hm 43, 68.
- [Depkes RI] Departemen Republik Indonesia. 1995. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 89-90.
- Doubatty AC. 2009. *Perbandingan Validitas Skor Mayo End Stage Liver Disease Dan Skor Child-Pugh Dalam Memprediksi Ketahanan Hidup 12 Minggu Pada Pasien Sirosis Hepatis* [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Ganong. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC. Hal. 255-256, 259, 261
- Gilman, Goodman. 2003. *Dasar Farmakologi Terapi. Edisi 10*. Aisyah et al., Penerjemah; Hardman JG, Limbird LE, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *The Pharmacological Basic of Therapeutics*. hlm 1247-1252
- Gunawan SG, editor. 2009. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 5. Jakarta: Badan penerbit FKUI. hlm 613
- Kee, J. L. 2012. *Buku Saku Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik dengan Implikasi Keperawatan. Edisi 2*. EGC. Jakarta
- Lee WM. *Drug-induced hepatotoxicity*. N Engl J Med [serial on Internet]. 2003 [cited 2009 Sep 28]; 349: 474-85.

- Lister CE, Morrison SC, Kerkhofs NS, Wright KM. 2005. The Nutritional Composition And Health Benefits of New Zealand Tamarillos. Corp & Food Research Confident Report 1281.
- Loho MI dan Hasan I. 2014. *Drug-Induced Liver Injury-Tantangan Dalam Diagnosis*. CDK 214:167-168
- Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia-Press.
- Navarro VJ, Senior JR. 2006. *Drug-related hepatotoxicity*. N Engl J Med 354:731-9.
- Puspitosari R D, Sumarno, Susatia B. 2006. *Pengaruh Paparan Sinar Matahari Pagi Terhadap Penurunan Tanda Ikterus Pada Ikterus Neonatorum Fisiologis*. Jurnal kedokteran Brawijaya : 22(3).
- Rahayu MT. 2012. Aktivitas tablet kunyah kombinasi ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap nekrosis hati tikus putih galur wistar yang diinduksi isoniazid dan rifampisin. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Rahman AO. 2013. Hubungan kadar hidrazin (Metabolit Isoniazid) dengan kadar SGPT pada akhir fase intensif pengobatan pasien tuberkulosis paru [Tesis]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran aUniversitas Gadjah Mada.
- Rana S. Ravinder P, Ki V, Kartar S. 2006. *Effect of Different Oral Doses of Isoniazid-Rifampisin in Rats*. Molecular and Cellular Biochemistry.189, 39-47.
- Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 7. Pendit BU, Alih Bahasa; Hartanto H *et al.*, Editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari; *Robbins Basic Pathology 7th Ed*. Hlm.911
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB. hlm 191
- Sari, Indrawati, & Gin djing. 2008. *Care Your Self Hepatitis*. Jakarta : Penebar Plus
- Sacher RA dan McPherson RA. 2012. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium* . Edisi 11. Jakarta :EGC. hlm 675

- Sawitri I. A. D. 2011. Pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) menurunkan kadar malondialdehid darah tikus putih (*Rattus noverhicus*) yang diinduksi aktivitas fisik berlebih [Tesis]. Denpasar: Universitas Udayana.
- Siswandono dan Soekardjo B. 1995. Kimia Medisinal. Surabaya: Airlangga University Press. hlm :104, 203, 205.
- Smith M, K. Marley, D. Seigler, K. Singletary & B. Meline. 2000. *Bioactive properties of wild blueberry fruits*. *Journal of Food Science*. 65. 352– 356
- Sonderup, M.W., 2006, *Drug Induced Liver Injury is a Significant Cause of Liver Disease, Including Chronic Liver, Drug Induced Liver Injuries*, 29(6).
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi* Edisi IV. Fakultas Farmasi laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Jogja: UGM.
- Sulaiman A. 2007. Pendekatan klinis pada pasien ikterus. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S, editors. Buku ajar ilmu penyakit dalam. 4th ed. Jakarta: Balai Penerbit FKUI:2006. 422 (8).
- Syariah *et al.* 2011. Pengaruh Jus Buah Terong Belanda (*Cyphomandra betaceae*) Terhadap Kadar Kolesterol Tikus Putih Jantan. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 50:95-98
- Tjay, T. H., dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi ke VI. Jakarta: PT Elex Media Komputindo. Hlm 149-150,150-151.
- Wattimena Joke R *et al.* 1991. Farmakodinamik dan terapi antibiotik. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hlm 136,139, 141,144.
- Wrolstad RE, Heatherbell DA. 2006. Identification of anthocyanins and distribution of flavonoids in tamarillo fruit (*Chyphomandra betaceae* (Cav.) Sendt.)
- World Health Organization.2008. Global tuberculosis report. Geneva: World Health Organization.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat identifikasi buah terong belanda



DEPARTEMEN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA
 Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281
 Telp., 0274.649.2568 Fax. +274-543120

SURAT KETERANGAN
 No.: BF/24/Ident/Det/II/2016

Kepada Yth. :
 Sdri/Sdr. Haryanty Dwi Siswoyo
 NIM. 17134026 A
 Fakultas Farmasi USB
 Di Surakarta

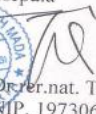
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi sampel yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :


No.Pendaftaran	Jenis	Suku
24	<i>Cyphomandra betacea</i> (Cav.) Sendtn.	Solanaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 9 Februari 2016
 Kepala



Dr. rer. nat. Triana Hertiani, M.Si., Apt.
 NIP. 197306091998032003



Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
√ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Haryanty Dwi Siswoyo

Nim : 17134026 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar

Umur : 2-3 bulan

Jenis kelamin : Jantan

Jumlah : 30 ekor

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 16 Mei 2016

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Surat keterangan pembelian Methicol®



038/S.Pr/PPPP-LPP/III/16
Semarang, 10 Maret 2016

Kepada Yth:
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
d/a Jl.Let. Jend. Sutoyo
Solo – 57127 Telp.0271-852518
Up. Ibu Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Perihal : Permohonan Pembelian Bahan

Dengan hormat,
Memenuhi permintaan Ibu sesuai surat no. 1512/A10-4/24.02.16 per tgl. 24 Februari 2016 dan no. 1517/A10-4/27.02.16 per tgl. 27 Februari 2016 perihal tersebut di atas, bersama ini kami kirimkan :

No.	Nama bahan baku	Um	Jumlah	Certificate Of Analysys
1	Glibenclamide	Gr	10	√
2	Isoniazid	Gr	29	√
3	Rifampisin	Gr	28	√

Untuk keperluan penelitian Mahasiswa :

No.	Nama	NIM
1	Rahmi	17134027A
2	Haryanty Dwi Siswoyo	17134026A
3	Ariyani Bepa Luku Lewa	18123575A
4	Syarifah Mifthahul Hayati	18123603A
5	Ernita Septiary	18123654A

Adapun biaya penggantian untuk bahan baku tersebut adalah sebesar Rp. 100.000 (Seratus Ribu Rupiah) dapat Ibu transfer melalui :

Bank Mandiri Cabang Mpu Tantular Semarang
No. Rek. 136.0066000016
A/n : PT. Phapros Tbk.

Mohon diterima dengan baik dan selanjutnya apabila penelitian telah selesai, agar mengirimkan 1 eksemplar laporan untuk keperluan perpustakaan kami.

Demikian, semoga bermanfaat dan terima kasih.

Hormat Kami,

Phapros 11/3/16
Dr. **Santosa Adiwibawa, ST., MM**
Manager PPIC

Diterima oleh :
Tanggal :
Tanda tangan :

Jn

OFFICE:
PT. Phapros, Tbk
Gedung RNI
Jl. Denpasar Raya Kav. DIII
Kuningan, Jakarta 12950, INDONESIA
Phone: (62-21) 527 9263, 252 3820
Fax: (62-21) 520 9381
E-mail: marketing@phapros.co.id
Website: http://www.phapros.co.id

FACTORY:
PT. Phapros Tbk.
Jl. Simongan 131
Semarang 50148, INDONESIA
Phone: (62-24) 766 30021 (hunting)
Fax: (62-24) 760 5133
P.O. Box: 1233
E-mail: factory@phapros.co.id
Website: http://www.phapros.co.id

Lampiran 4. Surat keterangan reagen Bilirubin



Bilirubin Auto Total FS*

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of total bilirubin in serum or plasma on photometric systems

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 0811 99 10 021	R1 5 x 20 mL + R2 1 x 25 mL
1 0811 99 10 026	R1 5 x 80 mL + R2 1 x 100 mL
1 0811 99 10 023	R1 1 x 800 mL + R2 1 x 200 mL
1 0811 99 10 704	R1 8 x 50 mL + R2 8 x 12.5 mL
1 0811 99 10 917	R1 8 x 60 mL + R2 8 x 15 mL
1 0811 99 10 191	R1 4 x 36 mL + R2 4 x 9 mL
1 0811 99 10 940	R1 8 x 60 mL + R2 8 x 15 mL
1 0811 99 90 314	R1 10 x 20 mL + R2 2 x 30 mL

Summary [1,2]

Bilirubin is a breakdown product of hemoglobin. Free, unconjugated bilirubin is extremely apolar and nearly insoluble in water, thus forming a complex with albumin for the transport in the blood from the spleen to the liver. In the liver, bilirubin is conjugated with glucuronic acid and the resulting water soluble bilirubin glucuronides are excreted via the bile ducts.

Hyperbilirubinemia can be caused by increased bilirubin production due to hemolysis (pre-hepatic jaundice), by parenchymal damages of the liver (intra-hepatic jaundice) or by occlusion of bile ducts (post-hepatic jaundice). A chronic congenital (predominantly unconjugated) hyperbilirubinemia called Gilbert's syndrome is quite frequent in the population. High levels of total bilirubin are observed in 60-70% of neonates due to an increased postpartal breakdown of erythrocytes and because of delayed function of enzymes for bilirubin degradation. Common bilirubin methods detect either total bilirubin or direct bilirubin. Determinations of direct bilirubin measure mainly conjugated, water soluble bilirubin. Unconjugated bilirubin can therefore be estimated as the difference between total bilirubin and direct bilirubin.

Method

Photometric test using 2,4-dichloroaniline (DCA)

Principle

In acidic solution, direct bilirubin forms a red colored azocompound with diazotized 2,4-dichloroaniline. A specific mixture of detergents enables a safe determination of the total bilirubin.

Reagents

Components and Concentrations

R1: Phosphate buffer	50 mmol/L
NaCl	150 mmol/L
Detergent, stabilizers	
R2: 2,4-Dichlorophenyl-diazonium salt	5 mmol/L
HCl	130 mmol/L
Detergent	

Storage Instructions and Reagent Stability

The reagents are stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 8 °C and contamination is avoided. Do not freeze the reagents!
Reagent 2 must be protected from light!

Warnings and Precautions

1. Reagent 1 and reagent 2 S24/25: Avoid contact with skin and eyes.
2. Reagent 1 R52/53: Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment. S61: Avoid release to the environment. Refer to special instructions/safety data sheets.
3. Please refer to the safety data sheets and take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Waste Management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

The reagents are ready to use.

Materials required but not provided

NaCl solution 9 g/L
General laboratory equipment

Specimen

Serum or heparin plasma

It is very important to store the sample protected from light!

Stability [3]:	1 day	at	20 - 25 °C
	7 days	at	4 - 8 °C
	6 months	at	-20 °C

if frozen immediately. Freeze only once!

Discard contaminated specimens!

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

Wavelength	546 nm (540 - 560 nm)
Optical path	1 cm
Temperature	20 - 25 °C/37 °C
Measurement	Against reagent blank

	Blank	Sample or calibrator
Sample or calibrator	-	25 µL
Dist. Water	25 µL	-
Reagent 1	1000 µL	1000 µL
Mix, incubate for 5 min. at 37 °C or 10 min. at 20 - 25 °C, read absorbance A1, then add:		
Reagent 2	250 µL	250 µL
Mix, incubate for 5 min. at 37 °C, or 10 min. at 20 - 25 °C, then read absorbance A2.		

$$\Delta A = [(A2 - A1) \text{ sample or calibrator}]$$

Calculation

With calibrator

$$\text{Bilirubin [mg/dL]} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Cal}} \times \text{Conc. Cal. [mg/dL]}$$

Conversion factor

$$\text{Bilirubin [mg/dL]} \times 17.1 = \text{Bilirubin [\mu mol/L]}$$

Lampiran 5. Surat keterangan reagen ALP



Alkaline phosphatase FS*

IFCC mod. 37 °C

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of alkaline phosphatase (ALP) in serum or plasma on photometric systems

Order Information

Cat. No.	Kit size
1 0441 99 10 021	R1 5 x 20 ml + R2 1 x 25 ml
1 0441 99 10 026	R1 5 x 80 ml + R2 1 x 100 ml
1 0441 99 10 023	R1 1 x 800 ml + R2 1 x 200 ml
1 0441 99 10 704	R1 8 x 50 ml + R2 8 x 12.5 ml
1 0441 99 10 917	R1 8 x 60 ml + R2 8 x 15 ml

Summary [1,2]

Alkaline phosphatase (ALP), a hydrolytic enzyme acting optimally at alkaline pH, exists in blood in numerous distinct forms which originate mainly from bone and liver, but also from other tissues as kidney, placenta, intestine, testes, thymus, lung and tumors. Physiological increases are found during bone growth in childhood and in pregnancy, while pathological increases are largely associated with hepatobiliary and bone diseases. In hepatobiliary disease they indicate obstruction of the bile ducts as in cholestasis caused by gall stones, tumors or inflammation. Elevated activities are also observed in infectious hepatitis. In bone diseases elevated ALP activities originate from increased osteoblastic activity as in Paget's disease, osteomalacia (rickets), bone metastases and hyperparathyroidism.

Method

Kinetic photometric test, according to the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC).

Principle

p-Nitrophenylphosphate + H₂O \xrightarrow{ALP} Phosphate + p-Nitrophenol

Reagents

Components and Concentrations

N.B. Concentrations are those in the final test mixture.

R1: 2-Amino-2-methyl-1-propanol pH 10.4	0.90 mol/l
Magnesium acetate	1.6 mmol/l
Zinc sulphate	0.4 mmol/l
HEDTA	2.0 mmol/l
R2: p-Nitrophenylphosphate	16.0 mmol/l

Storage Instructions and Reagent Stability

The reagents are stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 8 °C and contamination is avoided. Do not freeze the reagents!
Reagent 2 must be protected from light.

Warnings and Precautions

- The reagents contain sodium azide (0.95 g/l) as preservative. Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes.
- During reaction p-nitrophenol is produced which is poisonous when inhaled, swallowed or absorbed through skin. If the reaction mixture comes in contact with skin or mucous membranes wash copiously with water!
- Take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Waste Management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation

Substrate Start

The reagents are ready-to-use.

Sample Start

Mix 4 parts of R1 + 1 part of R2

(e.g. 20 ml R1 + 5 ml R2) = monoreagent

Stability: 4 weeks at 2 - 8 °C
5 days at 15 - 25 °C

The monoreagent must be protected from light.

Materials required but not provided

NaCl solution 9 g/l.

General laboratory equipment.

Specimen

Serum or heparin plasma.

Don't use hemolytic samples!

Loss of activity within 2 - 3 days at 15 - 25 °C < 10 %.

Stability: 7 days at 4 - 8 °C
2 months at - 20 °C

Discard contaminated specimens.

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

Wavelength Hg 405 nm, (400 - 420 nm)
Optical path 1 cm
Temperature 37 °C
Measurement Against reagent blank

Substrate start

	Blank	Sample
Sample	-	20 µl
Dist. Water	20 µl	-
Reagent 1	1000 µl	1000 µl
Mix, incubate for approx. 1 min., then add:		
Reagent 2	250 µl	250 µl
Mix, read absorbance after 1 min. and start stopwatch.		
Read absorbance again after 1, 2 and 3 min.		

$\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min Sample}] - [\Delta A/\text{min blank}]$

Sample start

	Blank	Sample
Sample	-	20 µl
Dist. Water	20 µl	-
Monoreagent	1000 µl	1000 µl
Mix, read absorbance after 1 min. and start stopwatch.		
Read absorbance again after 1, 2 and 3 min.		

$\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min Sample}] - [\Delta A/\text{min blank}]$

Calculation

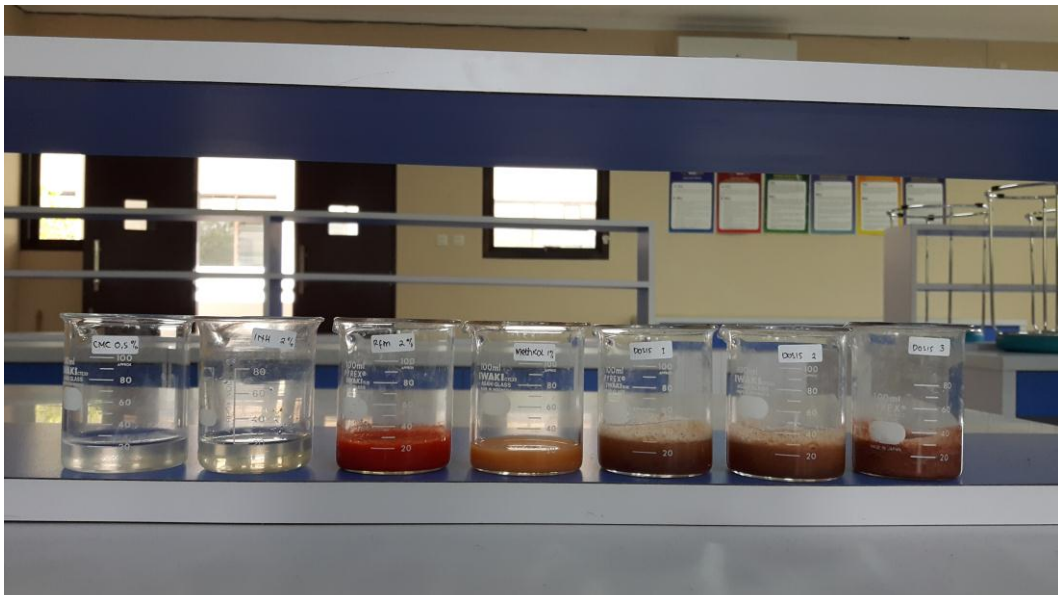
From absorbance readings calculate $\Delta A/\text{min}$ and multiply by the corresponding factor from table below:

$\Delta A/\text{min} \times \text{factor} = \text{ALP activity [U/l]}$

Substrate start	405 nm	3433
Sample start	405 nm	2757

Lampiran 6. Reagen Bilirubin dan ALP



Lampiran 7. Foto buah, sari buah dan larutan stok**Buah terong belanda****Sari buah terong belanda****larutan stok**

Lampiran 8. Foto hewan uji tikus dan perlakuan terhadap hewan uji



Pemberian oral suspensi sari buah terong belanda






Pemberian induksi isoniazid-rifampisin

Lampiran 9. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian**Juicer Miyako****Timbangan digital****Rotary evaporator**



Spektrofotometer Rayto RT-9200

Lampiran 10. Hasil identifikasi kandungan kimia

Identifikasi flavonoid	Identifikasi tanin	Identifikasi saponin
		
<p>sampel + Mg + alkohol + HCl + amil alkohol, didiamkan (Anonim 1995)</p>	<p>sampel dididihkan, dikocok dan beberapa menit (Anonim 1987)</p>	<p>Foto hasil identifikasi tanin sampel + FeCl₃ 1 %. (Anonim 1978)</p>
<p>Warna merah pada lapisan amil alcohol</p>	<p>Warna hitam kehijauan</p>	<p>Buih mantap ± 10 menit</p>

Lampiran 11. Hasil perhitungan dosis

1. Larutan CMC-Na

- Pembuatan larutan CMC-Na konsentrasi 0,5% sebanyak 500ml.

$$\begin{aligned} \text{Stok CMC 0,5\%} &= \frac{500 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 2500 \text{ mg} \\ &= 2,5 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi CMC 0,5\%} &= 0,5 \text{ g} / 100 \text{ ml aquadest} \\ &= 500 \text{ mg} / 100 \text{ ml aquadest} \\ &= 5 \text{ mg} / 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

volume pemberian suspensi CMC 0,5% untuk tikus 200 g adalah 1 ml.

2. Methicol[®]

- Pembuatan suspensi methicol konsentrasi 1 % sebanyak 100 ml :

$$\begin{aligned} \text{methicol 1 \%} &= \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ gram} \end{aligned}$$

- penimbangan serbuk methicol dari bentuk sediaan tablet (250 mg/ tablet)

$$\text{Serbuk yang ditimbang} = \frac{\text{berat zat aktif yang diperlukan}}{\text{berat zat aktif/tablet}} \times \text{berat rata - rata tablet}$$

$$\text{Berat 1 tablet Methicol}^{\text{®}} = 0,690 \text{ gram}$$

$$\text{Berat 4 tablet Methicol}^{\text{®}} = 2,648 \text{ gram}$$

$$\text{Rata-rata 4 tablet Methicol}^{\text{®}} = 0,662 \text{ gram} = 662 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{serbuk yang ditimbang} &= \frac{1000 \text{ mg}}{250 \text{ mg}} \times 662 \text{ mg} \\ &= 2.648 \text{ mg} \\ &= 2,648 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\text{dosis yang digunakan } 22,5 \text{ mg/kg BB tikus} = \frac{22,5 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 200 \text{ g}$$

$$= 4,5 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$\begin{aligned}
 \text{suspensi methicol}^{\text{®}} 1\% &= 1 \text{ g}/100\text{ml} \\
 &= 10\text{mg}/ 1 \text{ ml} \\
 \text{Volume pemberian} &= \frac{4,5 \text{ mg}}{10\text{mg}} \times 1 \text{ ml} \\
 &= 0,45 \text{ ml} \sim 0,5 \text{ ml}.
 \end{aligned}$$

3. Isoniazid dan rifampisin

- pembuatan isoniazid dan rifampisin konsentrasi 2 % sebanyak 100 ml :

$$\begin{aligned}
 \text{isoniazid dan rifampisin 2 \%} &= \frac{2 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} \\
 &= 2 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

pemberian isoniazid dan rifampisin untuk tikus dengan berat badan 200 gram

adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 \text{isoniazid dan rifampisin} &= 2 \text{ g} / 100 \text{ ml} \\
 &= 2000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\
 &= 20 \text{ mg} / 1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

4. Pembuatan larutan stok sari buah terong belanda

▪ dosis sari buah terong belanda yang digunakan sebagai acuan dalam menentukan variasi dosis diambil dari penelitian yang dilakukan oleh Syariah *et al.* (2011) yaitu dosis yang memberikan efek terbesar dalam menurunkan kolesterol total darah yaitu 3,5 g/100 g BB tikus (35 g/ kg BB tikus). Dosis yang diberikan ke tikus :

$$\text{dosis } \frac{1}{2} \text{ DE} = \frac{35 \text{ g}}{2} = 17,5 \text{ g/ kg BB}$$

$$\text{dosis 1 DE} = 35 \text{ g/kg BB}$$

$$\text{dosis 2 DE} = 2 \times 35 \text{ g} = 70 \text{ g/kg BB}$$

jika volume pemberian sari buah terong belanda untuk masing-masing tikus

adalah 1 ml/200 g BB, maka jumlah terong belanda yang dibutuhkan untuk

membuat 10 ml sari buah terong belanda yaitu sebanyak :

$$\begin{aligned}
 \text{dosis } 17,5 \text{ g/ kg BB} &= \frac{17,5 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} \\
 &= 3,5 \text{ g/200 g BB tikus} \\
 \text{maka, potongan terong belanda} &= \frac{3,5 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\
 &= 35 \text{ gram} \\
 \text{dosis } 35 \text{ g/ kg BB} &= \frac{35 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} \\
 &= 7 \text{ g/200 g BB tikus} \\
 \text{maka, potongan terong belanda} &= \frac{3,5 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\
 &= 70 \text{ gram} \\
 \text{dosis } 70 \text{ g/ kg BB} &= \frac{70 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} \\
 &= 14 \text{ g/200 g BB tikus} \\
 \text{maka, potongan terong belanda} &= \frac{14 \text{ g}}{1 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\
 &= 140 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

5. Konversi sari buah terong belanda untuk manusia

$$\begin{aligned}
 \text{berat buah terong belanda} &= 70 \text{ gram/ } 1000 \text{ gram} \times 200 \text{ gram} \\
 &= 14 \text{ gram/ } 200 \text{ gram tikus} \\
 \text{konversi ke manusia} &= 14 \times 56 \\
 &= 784 \text{ gram/ } 70 \text{ gram BB manusia}
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil penimbangan berat badan tikus

KELOMPOK	TIKUS	BERAT BADAN TIKUS																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
K1	1	120	120	120	120	130	130	130	130	140	140	140	150	150	150	150	160	160	160	160	170	170
	2	150	150	150	150	160	160	160	160	170	170	170	180	180	180	180	180	190	190	190	190	190
	3	170	170	170	170	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	190	190	190	190	190	200	200
	4	140	140	140	140	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	160	160	160	170	170	170	170
	5	150	150	150	150	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	170	170	170	170	180	180	180
K2	1	120	120	120	120	130	130	130	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	130	130	130	130
	2	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	130	130	130	130	130	130	130	120	120	120
	3	150	150	150	150	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	170	160	160	160	160
	4	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	120	120	120	120	120	120	130	130	130	140
	5	140	140	140	140	150	150	150	150	150	150	150	160	160	160	160	160	150	150	150	150	150
K3	1	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	150	160	160	160	170	170
	2	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	150	160	160	160	170
	3	150	150	150	150	160	160	160	160	160	160	160	160	170	170	170	170	170	180	180	180	180
	4	110	110	110	110	120	120	120	120	120	120	120	130	130	130	130	130	140	140	140	150	150
	5	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	160	160	160	170	170
P1	1	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	160	160	160	160	170
	2	140	140	140	140	150	150	150	150	150	150	150	150	160	160	160	160	160	170	170	170	170
	3	140	140	140	140	150	150	150	150	150	150	150	160	160	160	160	160	170	170	170	170	180
	4	150	150	150	150	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	170	170	170	170	180	180	180
	5	150	150	150	150	160	160	160	160	160	160	160	160	170	170	170	170	170	180	180	180	190
P2	1	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	150	160	160	160	170	170
	2	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	150	150	160	160	160	170
	3	120	120	120	120	130	130	130	130	130	130	130	140	140	140	140	140	150	150	150	160	160
	4	150	150	150	150	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	170	170	170	170	180	180	180
	5	100	100	100	100	110	110	110	110	110	110	110	120	120	120	120	130	130	130	140	140	140
P3	1	140	140	140	140	150	150	150	150	150	150	150	150	160	160	160	160	160	170	170	170	170
	2	110	110	110	110	120	120	120	120	120	120	120	130	130	130	130	140	140	140	150	150	150
	3	110	110	110	110	120	120	120	120	120	130	130	130	140	140	140	150	150	150	160	160	160
	4	130	130	130	130	140	140	140	140	140	140	140	140	150	150	150	150	160	160	160	170	170
	5	120	120	120	120	130	130	130	130	130	130	130	130	140	140	140	150	150	150	150	160	160

Lampiran 13. Dosis pemberian larutan uji berdasarkan berat badan

Berat (gram)	Dosis (ml)						
	CMC 0,5%	INH 50mg/kg	Rifampisin 50mg/kg	Methicol 22,5 mg/kg	Sari buah 17,5 g/kg	Sari buah 35 g/kg	Sari buah 70 g/kg
100	1	0,25	0,25	0,23	1,05	1,05	1,05
110	1,1	0,28	0,28	0,25	1,15	1,15	1,15
120	1,2	0,30	0,30	0,27	1,26	1,26	1,26
130	1,3	0,33	0,33	0,29	1,36	1,36	1,36
140	1,4	0,35	0,35	0,31	1,47	1,47	1,47
150	1,5	0,38	0,38	0,34	1,57	1,57	1,57
160	1,6	0,40	0,40	0,36	1,68	1,68	1,68
170	1,7	0,42	0,42	0,38	1,78	1,78	1,78
180	1,8	0,45	0,45	0,40	1,89	1,89	1,89
190	1,9	0,47	0,47	0,43	1,99	1,99	1,99
200	2	0,5	0,5	0,45	2,1	2,1	2,1

Lampiran 14. Data pengukuran ALP dan Bilirubin

Kelompok uji	Kadar ALP				Kadar Bilirubin			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
K1	635	640	659	634	0,5	0,6	0,5	0,8
	541	549	598	627	0,7	0,7	0,8	1,2
	563	568	517	607	0,3	0,3	0,5	0,7
	574	591	637	679	0,2	0,3	0,7	0,6
	639	674	681	686	0,3	0,5	0,4	0,7
RATA-RATA	589,8	604,4	618,4	646,6	0,4	0,48	0,58	0,8
SD	43,38	51,68	64,44	34,33	0,2	0,18	0,16	0,23
K2	620	679	785	932	0,4	0,5	1,2	1,4
	598	664	727	930	0,2	0,4	0,9	1,3
	647	728	743	934	0,3	0,4	0,9	1,2
	513	657	694	946	0,5	0,7	1,1	1,6
	657	746	762	957	0,4	0,8	1	1,7
RATA-RATA	607,0	694,8	742,2	939,8	0,36	0,56	1,02	1,44
SD	57,42	39,85	34,56	11,45	0,11	0,18	0,13	0,20
K3	671	680	673	689	0,5	0,6	0,5	0,9
	659	634	664	763	0,3	0,3	0,3	0,5
	712	679	659	737	0,6	0,6	0,6	0,7
	649	584	668	720	0,4	0,5	0,7	0,9
	720	698	679	756	0,5	0,7	0,7	1,3
RATA-RATA	590,2	655,0	668,6	733,0	0,46	0,54	0,56	0,86
SD	30,21	46,18	7,76	29,79	0,11	0,15	0,17	0,29
P1	613	645	712	875	0,2	0,3	0,9	0,9
	591	639	694	813	0,2	0,4	0,7	0,9
	612	631	719	906	0,5	0,6	1	1,9
	539	639	672	841	0,4	0,7	0,9	1,3
	596	648	728	837	0,3	0,5	1,1	1,4
RATA-RATA	590,2	640,4	705,0	854,4	0,32	0,5	0,92	1,28
SD	30,21	6,54	22,27	36,34	0,13	0,16	0,15	0,41
P2	631	651	729	793	0,7	0,8	1	0,8
	619	617	664	764	0,6	0,7	0,9	1,2
	628	651	724	773	0,3	0,6	0,7	1,3
	619	630	668	782	0,5	0,7	0,8	0,9
	641	721	679	741	0,2	0,5	0,6	1,1
RATA-RATA	627,6	654,2	692,8	770,6	0,46	0,66	0,8	1,06
SD	9,21	40,01	31,30	19,73	0,21	0,11	0,16	0,20
P3	615	628	689	759	0,5	0,5	0,6	0,8
	698	714	645	785	0,3	0,4	0,5	0,6
	512	645	687	796	0,4	0,5	0,7	0,9
	615	648	679	720	0,4	0,7	0,8	1,2
	634	654	739	736	0,3	0,7	0,8	1
RATA-RATA	614,8	657,8	687,8	759,2	0,38	0,56	0,68	0,9
SD	66,82	32,87	33,66	31,99	0,008	0,13	0,13	0,22

Lampiran 15. Uji Statistik

Uji distribusi normalitas dan homogenitas data

Uji distribusi normal (Uji Shapiro Wilk)

Kriteria : Ho, ditolak jika signifikansi < 0,05

Ho, diterima jika signifikansi > 0,05

Tests of Normality

Kelompok Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-0	Kontrol Normal	.291	5	.191	.905	5	.440
	Kontrol Negatif	.237	5	.200*	.961	5	.814
	Kontrol Positif	.237	5	.200*	.961	5	.814
	Dosis I	.221	5	.200*	.902	5	.421
	Dosis II	.180	5	.200*	.952	5	.754
	Dosis III	.231	5	.200*	.881	5	.314
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-1	Kontrol Normal	.243	5	.200*	.894	5	.377
	Kontrol Negatif	.229	5	.200*	.867	5	.254
	Kontrol Positif	.254	5	.200*	.914	5	.492
	Dosis I	.136	5	.200*	.987	5	.967
	Dosis II	.237	5	.200*	.961	5	.814
	Dosis III	.273	5	.200*	.852	5	.201
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-2	Kontrol Normal	.287	5	.200*	.914	5	.490
	Kontrol Negatif	.221	5	.200*	.902	5	.421
	Kontrol Positif	.201	5	.200*	.881	5	.314
	Dosis I	.246	5	.200*	.956	5	.777
	Dosis II	.136	5	.200*	.987	5	.967
	Dosis III	.221	5	.200*	.902	5	.421
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-3	Kontrol Normal	.300	5	.161	.813	5	.103
	Kontrol Negatif	.180	5	.200*	.952	5	.754
	Kontrol Positif	.246	5	.200*	.956	5	.777
	Dosis I	.220	5	.200*	.896	5	.390
	Dosis II	.180	5	.200*	.952	5	.754
	Dosis III	.127	5	.200*	.999	5	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Uji homogenitas (uji Levene)

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-0	1.939	5	24	.125
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-1	.545	5	24	.740
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-2	.176	5	24	.969
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-3	.652	5	24	.663

ONE WAY ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-0	Between Groups	.078	5	.016	.701	.628
	Within Groups	.532	24	.022		
	Total	.610	29			
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-1	Between Groups	.099	5	.020	.825	.544
	Within Groups	.576	24	.024		
	Total	.675	29			
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-2	Between Groups	.868	5	.174	7.659	.000
	Within Groups	.544	24	.023		
	Total	1.412	29			
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-3	Between Groups	1.630	5	.326	4.336	.006
	Within Groups	1.804	24	.075		
	Total	3.434	29			

POST HOC

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-0	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	.0400	.0942	.675	-.154	.234
		Kontrol Positif	-.0600	.0942	.530	-.254	.134
		Dosis I	.0800	.0942	.404	-.114	.274
		Dosis II	-.0600	.0942	.530	-.254	.134
		Dosis III	.0200	.0942	.834	-.174	.214
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	-.0400	.0942	.675	-.234	.154
		Kontrol Positif	-.1000	.0942	.299	-.294	.094
		Dosis I	.0400	.0942	.675	-.154	.234
		Dosis II	-.1000	.0942	.299	-.294	.094
		Dosis III	-.0200	.0942	.834	-.214	.174
	Kontrol Positif	Kontrol Normal	.0600	.0942	.530	-.134	.254
		Kontrol Negatif	.1000	.0942	.299	-.094	.294
		Dosis I	.1400	.0942	.150	-.054	.334
		Dosis II	.0000	.0942	1.000	-.194	.194
		Dosis III	.0800	.0942	.404	-.114	.274
	Dosis I	Kontrol Normal	-.0800	.0942	.404	-.274	.114
		Kontrol Negatif	-.0400	.0942	.675	-.234	.154
		Kontrol Positif	-.1400	.0942	.150	-.334	.054
		Dosis II	-.1400	.0942	.150	-.334	.054
		Dosis III	-.0600	.0942	.530	-.254	.134
	Dosis II	Kontrol Normal	.0600	.0942	.530	-.134	.254
		Kontrol Negatif	.1000	.0942	.299	-.094	.294
		Kontrol Positif	.0000	.0942	1.000	-.194	.194
		Dosis I	.1400	.0942	.150	-.054	.334
Dosis III		.0800	.0942	.404	-.114	.274	
Dosis III	Kontrol Normal	-.0200	.0942	.834	-.214	.174	
	Kontrol Negatif	.0200	.0942	.834	-.174	.214	
	Kontrol Positif	-.0800	.0942	.404	-.274	.114	
	Dosis I	.0600	.0942	.530	-.134	.254	
	Dosis II	-.0800	.0942	.404	-.274	.114	
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-1	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-.0800	.0980	.422	-.282	.122
		Kontrol Positif	-.0600	.0980	.546	-.262	.142
		Dosis I	-.0200	.0980	.840	-.222	.182
		Dosis II	-.1800	.0980	.079	-.382	.022

		Dosis III			-.0800	.0980	.422	-.282	.122	
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	Kontrol Positif			.0800	.0980	.422	-.122	.282	
		Dosis I			.0200	.0980	.840	-.182	.222	
		Dosis II			.0600	.0980	.546	-.142	.262	
		Dosis III			-.1000	.0980	.318	-.302	.102	
		Dosis III			.0000	.0980	1.000	-.202	.202	
Kontrol Positif	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			.0600	.0980	.546	-.142	.262	
		Dosis I			-.0200	.0980	.840	-.222	.182	
		Dosis II			.0400	.0980	.687	-.162	.242	
		Dosis III			-.1200	.0980	.233	-.322	.082	
		Dosis III			-.0200	.0980	.840	-.222	.182	
Dosis I	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			.0200	.0980	.840	-.182	.222	
		Kontrol Positif			-.0600	.0980	.546	-.262	.142	
		Dosis II			-.0400	.0980	.687	-.242	.162	
		Dosis III			-.1600	.0980	.116	-.362	.042	
		Dosis III			-.0600	.0980	.546	-.262	.142	
Dosis II	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			.1800	.0980	.079	-.022	.382	
		Kontrol Positif			.1000	.0980	.318	-.102	.302	
		Dosis I			.1200	.0980	.233	-.082	.322	
		Dosis II			.1600	.0980	.116	-.042	.362	
		Dosis III			.1000	.0980	.318	-.102	.302	
Dosis III	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			.0800	.0980	.422	-.122	.282	
		Kontrol Positif			.0000	.0980	1.000	-.202	.202	
		Dosis I			.0200	.0980	.840	-.182	.222	
		Dosis II			.0600	.0980	.546	-.142	.262	
		Dosis II			-.1000	.0980	.318	-.302	.102	
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-2	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			-.4400*	.0952	.000	-.637	-.243	
		Kontrol Positif			.0200	.0952	.835	-.177	.217	
		Dosis I			-.3400*	.0952	.002	-.537	-.143	
		Dosis II			-.2200*	.0952	.030	-.417	-.023	
		Dosis III			-.1000	.0952	.304	-.297	.097	
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	Kontrol Positif			.4400*	.0952	.000	.243	.637
			Dosis I			.4600*	.0952	.000	.263	.657
			Dosis II			.1000	.0952	.304	-.097	.297
			Dosis III			.2200*	.0952	.030	.023	.417
			Dosis III			.3400*	.0952	.002	.143	.537
	Kontrol Positif	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			-.0200	.0952	.835	-.217	.177
			Dosis I			-.4600*	.0952	.000	-.657	-.263
			Dosis II			-.3600*	.0952	.001	-.557	-.163
			Dosis III			-.2400*	.0952	.019	-.437	-.043
			Dosis III			-.1200	.0952	.220	-.317	.077
	Dosis I	Kontrol Normal	Kontrol Negatif			.3400*	.0952	.002	.143	.537
			Kontrol Positif			-.1000	.0952	.304	-.297	.097
			Kontrol Positif			.3600*	.0952	.001	.163	.557

		Dosis II	.1200	.0952	.220	-.077	.317
		Dosis III	.2400*	.0952	.019	.043	.437
	Dosis II	Kontrol Normal	.2200*	.0952	.030	.023	.417
		Kontrol Negatif	-.2200*	.0952	.030	-.417	-.023
		Kontrol Positif	.2400*	.0952	.019	.043	.437
		Dosis I	-.1200	.0952	.220	-.317	.077
		Dosis III	.1200	.0952	.220	-.077	.317
	Dosis III	Kontrol Normal	.1000	.0952	.304	-.097	.297
		Kontrol Negatif	-.3400*	.0952	.002	-.537	-.143
		Kontrol Positif	.1200	.0952	.220	-.077	.317
		Dosis I	-.2400*	.0952	.019	-.437	-.043
		Dosis II	-.1200	.0952	.220	-.317	.077
KADAR BILIRUBIN TOTAL T-3	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-.6400*	.1734	.001	-.998	-.282
		Kontrol Positif	-.0600	.1734	.732	-.418	.298
		Dosis I	-.4800*	.1734	.011	-.838	-.122
		Dosis II	-.2600	.1734	.147	-.618	.098
		Dosis III	-.1000	.1734	.570	-.458	.258
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	.6400*	.1734	.001	.282	.998
		Kontrol Positif	.5800*	.1734	.003	.222	.938
		Dosis I	.1600	.1734	.365	-.198	.518
		Dosis II	.3800*	.1734	.038	.022	.738
		Dosis III	.5400*	.1734	.005	.182	.898
	Kontrol Positif	Kontrol Normal	.0600	.1734	.732	-.298	.418
		Kontrol Negatif	-.5800*	.1734	.003	-.938	-.222
		Dosis I	-.4200*	.1734	.023	-.778	-.062
		Dosis II	-.2000	.1734	.260	-.558	.158
		Dosis III	-.0400	.1734	.820	-.398	.318
	Dosis I	Kontrol Normal	.4800*	.1734	.011	.122	.838
		Kontrol Negatif	-.1600	.1734	.365	-.518	.198
		Kontrol Positif	.4200*	.1734	.023	.062	.778
		Dosis II	.2200	.1734	.217	-.138	.578
		Dosis III	.3800*	.1734	.038	.022	.738
	Dosis II	Kontrol Normal	.2600	.1734	.147	-.098	.618
		Kontrol Negatif	-.3800*	.1734	.038	-.738	-.022
		Kontrol Positif	.2000	.1734	.260	-.158	.558
		Dosis I	-.2200	.1734	.217	-.578	.138
	Dosis III	.1600	.1734	.365	-.198	.518	
Dosis III	Kontrol Normal	.1000	.1734	.570	-.258	.458	
	Kontrol Negatif	-.5400*	.1734	.005	-.898	-.182	
	Kontrol Positif	.0400	.1734	.820	-.318	.398	
	Dosis I	-.3800*	.1734	.038	-.738	-.022	
	Dosis II	-.1600	.1734	.365	-.518	.198	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Uji distribusi normalitas dan homogenitas data

Uji distribusi normal (Uji Shapiro Wilk)

Kriteria : Ho, ditolak jika signifikansi < 0,05

Ho, diterima jika signifikansi > 0,05

Tests of Normality

Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Aktivitas Enzim ALP pada T-0	Kontrol Normal	.245	5	.200*	.872	5	.273
	Kontrol Negatif	.238	5	.200*	.877	5	.296
	Kontrol Positif	.237	5	.200*	.881	5	.315
	Dosis I	.311	5	.130	.806	5	.091
	Dosis II	.225	5	.200*	.905	5	.437
	Dosis III	.301	5	.156	.920	5	.533
Aktivitas Enzim ALP pada T-1	Kontrol Normal	.202	5	.200*	.944	5	.698
	Kontrol Negatif	.254	5	.200*	.876	5	.293
	Kontrol Positif	.298	5	.167	.885	5	.330
	Dosis I	.215	5	.200*	.949	5	.731
	Dosis II	.330	5	.080	.853	5	.205
	Dosis III	.346	5	.050	.815	5	.106
Aktivitas Enzim ALP pada T-2	Kontrol Normal	.214	5	.200*	.922	5	.540
	Kontrol Negatif	.130	5	.200*	.994	5	.992
	Kontrol Positif	.131	5	.200*	.992	5	.985
	Dosis I	.223	5	.200*	.943	5	.687
	Dosis II	.270	5	.200*	.821	5	.119
	Dosis III	.286	5	.200*	.929	5	.589
Aktivitas Enzim ALP pada T-3	Kontrol Normal	.243	5	.200*	.898	5	.399
	Kontrol Negatif	.294	5	.183	.866	5	.252
	Kontrol Positif	.180	5	.200*	.943	5	.690
	Dosis I	.244	5	.200*	.954	5	.764
	Dosis II	.169	5	.200*	.972	5	.888
	Dosis III	.190	5	.200*	.949	5	.730

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Uji homogenitas (uji Levene)

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Aktivitas Enzim ALP pada T-0	1.309	5	24	.293
Aktivitas Enzim ALP pada T-1	2.346	5	24	.072
Aktivitas Enzim ALP pada T-2	2.541	5	24	.056
Aktivitas Enzim ALP pada T-3	1.811	5	24	.149

ONE WAY ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Aktivitas Enzim ALP pada T-0					
Between Groups	29383.500	5	5876.700	3.005	.030
Within Groups	46928.800	24	1955.367		
Total	76312.300	29			
Aktivitas Enzim ALP pada T-1					
Between Groups	21367.867	5	4273.573	2.809	.039
Within Groups	36512.000	24	1521.333		
Total	57879.867	29			
Aktivitas Enzim ALP pada T-2					
Between Groups	42206.000	5	8441.200	6.318	.001
Within Groups	32066.800	24	1336.117		
Total	74272.800	29			
Aktivitas Enzim ALP pada T-3					
Between Groups	257520.667	5	51504.133	62.672	.000
Within Groups	19723.200	24	821.800		
Total	277243.867	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Aktivitas Enzim ALP pada T-0	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-24.600	17.758	.179	-61.25	12.05
		Kontrol Positif	-29.400	17.758	.111	-66.05	7.25
		Dosis I	-46.800	17.758	.064	-83.45	-10.15
		Dosis II	-34.400	17.758	.065	-71.05	2.25
		Dosis III	-35.800	17.758	.055	-72.45	.85
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	24.600	17.758	.179	-12.05	61.25
		Kontrol Positif	-4.800	17.758	.789	-41.45	31.85
		Dosis I	-22.200	17.758	.223	-58.85	14.45
		Dosis II	-9.800	17.758	.586	-46.45	26.85
		Dosis III	-11.200	17.758	.534	-47.85	25.45
	Kontrol Positif	Kontrol Normal	29.400	17.758	.111	-7.25	66.05
		Kontrol Negatif	4.800	17.758	.789	-31.85	41.45
		Dosis I	-17.400	17.758	.337	-54.05	19.25
		Dosis II	-5.000	17.758	.781	-41.65	31.65
		Dosis III	-6.400	17.758	.722	-43.05	30.25
	Dosis I	Kontrol Normal	46.800	17.758	.064	10.15	83.45
		Kontrol Negatif	22.200	17.758	.223	-14.45	58.85
		Kontrol Positif	17.400	17.758	.337	-19.25	54.05
		Dosis II	12.400	17.758	.492	-24.25	49.05
		Dosis III	11.000	17.758	.541	-25.65	47.65
Dosis II	Kontrol Normal	34.400	17.758	.065	-2.25	71.05	
	Kontrol Negatif	9.800	17.758	.586	-26.85	46.45	
	Kontrol Positif	5.000	17.758	.781	-31.65	41.65	
	Dosis I	-12.400	17.758	.492	-49.05	24.25	
	Dosis III	-1.400	17.758	.938	-38.05	35.25	
Dosis III	Kontrol Normal	35.800	17.758	.055	-.85	72.45	
	Kontrol Negatif	11.200	17.758	.534	-25.45	47.85	
	Kontrol Positif	6.400	17.758	.722	-30.25	43.05	
	Dosis I	-11.000	17.758	.541	-47.65	25.65	
	Dosis II	1.400	17.758	.938	-35.25	38.05	
Aktivitas Enzim ALP pada T-1	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-103.400*	25.128	.000	-155.26	-51.54
		Kontrol Positif	-63.600*	25.128	.018	-115.46	-11.74
		Dosis I	-47.000	25.128	.074	-98.86	4.86
		Dosis II	-62.600*	25.128	.020	-114.46	-10.74
		Dosis III	-66.400*	25.128	.014	-118.26	-14.54
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	103.400*	25.128	.000	51.54	155.26

	Kontrol Positif	39.800	25.128	.126	-12.06	91.66	
	Dosis I	56.400*	25.128	.034	4.54	108.26	
	Dosis II	40.800	25.128	.118	-11.06	92.66	
	Dosis III	37.000	25.128	.154	-14.86	88.86	
Kontrol Positif	Kontrol Normal	63.600*	25.128	.018	11.74	115.46	
	Kontrol Negatif	-39.800	25.128	.126	-91.66	12.06	
	Dosis I	16.600	25.128	.515	-35.26	68.46	
	Dosis II	1.000	25.128	.969	-50.86	52.86	
	Dosis III	-2.800	25.128	.912	-54.66	49.06	
Dosis I	Kontrol Normal	47.000	25.128	.074	-4.86	98.86	
	Kontrol Negatif	-56.400*	25.128	.034	-108.26	-4.54	
	Kontrol Positif	-16.600	25.128	.515	-68.46	35.26	
	Dosis II	-15.600	25.128	.541	-67.46	36.26	
	Dosis III	-19.400	25.128	.448	-71.26	32.46	
Dosis II	Kontrol Normal	62.600*	25.128	.020	10.74	114.46	
	Kontrol Negatif	-40.800	25.128	.118	-92.66	11.06	
	Kontrol Positif	-1.000	25.128	.969	-52.86	50.86	
	Dosis I	15.600	25.128	.541	-36.26	67.46	
	Dosis III	-3.800	25.128	.881	-55.66	48.06	
Dosis III	Kontrol Normal	66.400*	25.128	.014	14.54	118.26	
	Kontrol Negatif	-37.000	25.128	.154	-88.86	14.86	
	Kontrol Positif	2.800	25.128	.912	-49.06	54.66	
	Dosis I	19.400	25.128	.448	-32.46	71.26	
	Dosis II	3.800	25.128	.881	-48.06	55.66	
Aktivitas Enzim ALP pada T-2	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-118.800*	18.738	.000	-157.47	-80.13
		Kontrol Positif	-45.200*	18.738	.024	-83.87	-6.53
		Dosis I	-81.600*	18.738	.000	-120.27	-42.93
		Dosis II	-69.400*	18.738	.001	-108.07	-30.73
		Dosis III	-64.400*	18.738	.002	-103.07	-25.73
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	118.800*	18.738	.000	80.13	157.47
		Kontrol Positif	73.600*	18.738	.001	34.93	112.27
		Dosis I	37.200	18.738	.059	-1.47	75.87
		Dosis II	49.400*	18.738	.014	10.73	88.07
		Dosis III	54.400*	18.738	.008	15.73	93.07
	Kontrol Positif	Kontrol Normal	45.200*	18.738	.024	6.53	83.87
		Kontrol Negatif	-73.600*	18.738	.001	-112.27	-34.93
		Dosis I	-36.400	18.738	.064	-75.07	2.27
		Dosis II	-24.200	18.738	.209	-62.87	14.47
		Dosis III	-19.200	18.738	.316	-57.87	19.47
Dosis I	Kontrol Normal	81.600*	18.738	.000	42.93	120.27	
	Kontrol Negatif	-37.200	18.738	.059	-75.87	1.47	
	Kontrol Positif	36.400	18.738	.064	-2.27	75.07	
	Dosis II	12.200	18.738	.521	-26.47	50.87	
	Dosis III	17.200	18.738	.368	-21.47	55.87	

Dosis II	Kontrol Normal	69.400*	18.738	.001	30.73	108.07	
	Kontrol Negatif	-49.400*	18.738	.014	-88.07	-10.73	
	Kontrol Positif	24.200	18.738	.209	-14.47	62.87	
	Dosis I	-12.200	18.738	.521	-50.87	26.47	
	Dosis III	5.000	18.738	.792	-33.67	43.67	
Dosis III	Kontrol Normal	64.400*	18.738	.002	25.73	103.07	
	Kontrol Negatif	-54.400*	18.738	.008	-93.07	-15.73	
	Kontrol Positif	19.200	18.738	.316	-19.47	57.87	
	Dosis I	-17.200	18.738	.368	-55.87	21.47	
	Dosis II	-5.000	18.738	.792	-43.67	33.67	
Aktivitas Enzim ALP pada T-3	Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-274.600*	20.332	.000	-316.56	-232.64
		Kontrol Positif	-83.000*	20.332	.000	-124.96	-41.04
		Dosis I	-172.600*	20.332	.000	-214.56	-130.64
		Dosis II	-120.600*	20.332	.000	-162.56	-78.64
		Dosis III	-107.200*	20.332	.000	-149.16	-65.24
	Kontrol Negatif	Kontrol Normal	274.600*	20.332	.000	232.64	316.56
		Kontrol Positif	191.600*	20.332	.000	149.64	233.56
		Dosis I	102.000*	20.332	.000	60.04	143.96
		Dosis II	154.000*	20.332	.000	112.04	195.96
		Dosis III	167.400*	20.332	.000	125.44	209.36
	Kontrol Positif	Kontrol Normal	83.000*	20.332	.000	41.04	124.96
		Kontrol Negatif	-191.600*	20.332	.000	-233.56	-149.64
		Dosis I	-89.600*	20.332	.000	-131.56	-47.64
		Dosis II	-37.600	20.332	.077	-79.56	4.36
		Dosis III	-24.200	20.332	.246	-66.16	17.76
Dosis I	Kontrol Normal	172.600*	20.332	.000	130.64	214.56	
	Kontrol Negatif	-102.000*	20.332	.000	-143.96	-60.04	
	Kontrol Positif	89.600*	20.332	.000	47.64	131.56	
	Dosis II	52.000*	20.332	.017	10.04	93.96	
	Dosis III	65.400*	20.332	.004	23.44	107.36	
Dosis II	Kontrol Normal	120.600*	20.332	.000	78.64	162.56	
	Kontrol Negatif	-154.000*	20.332	.000	-195.96	-112.04	
	Kontrol Positif	37.600	20.332	.077	-4.36	79.56	
	Dosis I	-52.000*	20.332	.017	-93.96	-10.04	
	Dosis III	13.400	20.332	.516	-28.56	55.36	
Dosis III	Kontrol Normal	107.200*	20.332	.000	65.24	149.16	
	Kontrol Negatif	-167.400*	20.332	.000	-209.36	-125.44	
	Kontrol Positif	24.200	20.332	.246	-17.76	66.16	
	Dosis I	-65.400*	20.332	.004	-107.36	-23.44	
	Dosis II	-13.400	20.332	.516	-55.36	28.56	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.