



**UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK
ETANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus tricolor* L.)
TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT MENCIT
YANG DIINDUKSI ISONIAZID**

SKRIPSI

Oleh

**Latifatu Choirunisa
NIM 132010101013**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK
ETANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus tricolor* L.)
TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT MENCIT
YANG DIINDUKSI ISONIAZID**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran (S-1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Latifatu Choirunisa
NIM 132010101013

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya kepada saya serta Nabi Muhammad SAW yang menjadi panutan saya dalam setiap tindakan;
2. Ibu Siti Endah Purnami sebagai orang tua saya, Edwin Fajerial Suko Purnomo Adi dan Dewita Rahmatisa Putri sebagai kakak saya, serta keluarga besar tercinta yang selalu memberikan dukungan, motivasi, nasihat, dan kasih sayang serta tak lupa selalu mendoakan saya dalam setiap hal;
3. Guru-guru saya yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran mulai dari Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Allah tidak membebani seseorang melainkan apa yang terdaya olehnya, ia mendapat pahala kebajikan yang diusahakannya dan ia juga menanggung dosa kejahatan yang dilakukannya.
(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 286)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia*. Bogor: Sygma.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Latifatu Choirunisa

NIM : 132010101013

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Efektivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Mencit yang Diinduksi Isoniazid” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

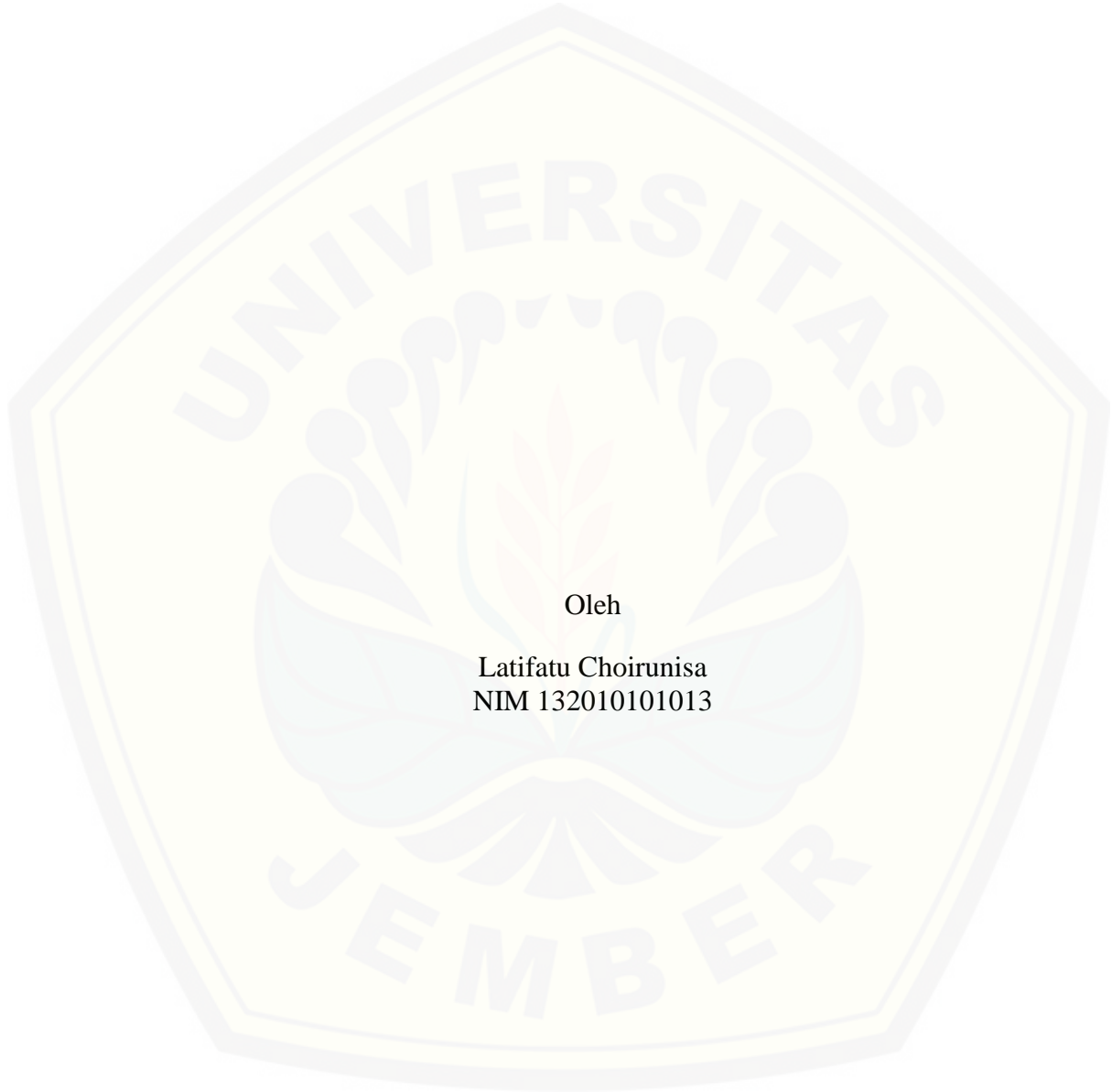
Jember, 5 Desember 2016

Yang menyatakan,

Latifatu Choirunisa
NIM 132010101013

SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK ETANOL
DAUN BAYAM (*Amaranthus tricolor* L.) TERHADAP KADAR
SGOT DAN SGPT MENCIT YANG DIINDUKSI ISONIAZID**



Oleh

Latifatu Choirunisa
NIM 132010101013

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yuli Hermansyah, Sp.PD

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Efektivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Mencit yang Diinduksi Isoniazid” karya Latifatu Choirunisa telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 5 Desember 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed
NIP. 19821211 200812 2 002

Anggota II,

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si
NIP. 19840916 200801 2 003

Anggota I,

dr. Ali Santosa, Sp.PD
NIP. 19590904 198701 1 001

Anggota III,

dr. Yuli Hermansyah, Sp.PD
NIP. 19660711 199601 1 001

Mengesahkan,

Dekan

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP. 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Uji Efektivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Mencit yang Diinduksi Isoniazid; Latifatu Choirunisa, 132010101013; 2016: 64 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Hepatotoksisitas imbas obat (*Drug Induced Liver Injury*, DILI) merupakan komplikasi penggunaan obat yang paling sering dijumpai karena hati merupakan pusat metabolik dari semua obat. Kasus DILI idiosinkransi (13%) di US sering dijumpai setelah kasus DILI langsung akibat asetaminofen (37%) karena sulit dideteksi atau didiagnosis akibat reaksi obat setiap individu berbeda. Sebagian besar obat-obatan yang menyebabkan DILI idiosinkransi adalah golongan antibiotik terutama obat anti tuberkulosis (20%). Isoniazid (INH), rifampisin (RMP), dan pirazinamid (PYR) merupakan obat anti tuberkulosis yang menyebabkan DILI. Penggunaan INH tunggal sebagai profilaksis sering dilaporkan menyebabkan DILI (0,1-0,56%) dengan 23,2 per 100.000 penduduk meninggal.

INH menyebabkan DILI akibat metabolit reaktif yang dihasilkan yaitu asetilhidrazin dan hidrazin. Kedua metabolit dioksidasi oleh sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) menghasilkan molekul beracun asetil radikal dan radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat berikatan dengan makromolekul selular sehingga menyebabkan kerusakan hati. Hidrazin dapat menurunkan bahkan menghilangkan aktivitas glutation (GSH) yang merupakan antioksidan endogen sehingga radikal bebas semakin menumpuk dan terjadi stres oksidatif. Kerusakan hati akibat INH umumnya asimtomatis, maka dari itu perlu pemeriksaan fungsi hati berupa SGOT dan SGPT. Jika terjadi kerusakan hati, maka kadar SGOT dan SGPT serum akan meningkat.

Penggunaan INH memerlukan antioksidan untuk perlindungan terhadap metabolit reaktifnya. Antioksidan eksogen dapat didapatkan secara sintetik maupun alamiah. Antioksidan sintetik digunakan secara terbatas karena penggunaan jangka panjang menyebabkan keracunan dan karsinogenesis. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan alami yang lebih aman dan efektif. Antioksidan alami umumnya berasal dari tanaman. Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan seperti flavonoid, vitamin C, beta karoten, dan klorofil. Antioksidan ini

mampu mendonorkan elektronnya untuk radikal bebas sehingga menjadi stabil. Kandungan antioksidan pada daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) telah terbukti sebagai neuroprotektif terhadap AGE dan hepatoprotektif terhadap CCl₄. Namun, belum ada penelitian ilmiah yang membuktikan daun bayam sebagai hepatoprotektor terhadap INH.

Tujuan penelitian ini untuk menganalisis efektivitas pemberian ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit yang diinduksi INH. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran, dan Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi dengan sampel penelitiannya 28 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan, sehat (bergerak aktif), usia 2-3 bulan, dan berat badan 20-30 gram. Jumlah kelompok penelitian ada 7 yaitu kelompok normal dengan pemberian normal saline dan 1% Tween 80, kelompok kontrol negatif dengan pemberian INH 100 mg/kgBB/hari per oral dan 1% Tween 80, serta 5 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun bayam 1,05 mg/20 gBB, 2,1 mg/20 gBB, 4,2 mg/20 gBB, 8,4 mg/20 gBB, dan 16,8 mg/20 gBB per oral setelah 2 jam pemberian INH 100 mg/kgBB/hari. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun bayam dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT mencit. Analisis data yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam dengan dosis 4,2 mg/20 gBB, 8,4 mg/20 gBB, dan 16,8 mg/20 gBB mampu mengurangi peningkatan kadar SGOT dan SGPT secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif sehingga dosis tersebut mampu berperan sebagai hepatoprotektor dari INH. Hal tersebut juga diperkuat dengan hasil yang tidak signifikan antara dosis tersebut dengan kelompok normal.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Mencit yang Diinduksi Isoniazid”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si, selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Yuli Hermansyah, Sp.PD selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak membantu dan meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini;
3. dr. Ancah Caesarina M, Ph.D dan dr. Cicih Komariah, Sp.M, selaku tim KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
4. dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed, selaku tim penguji I dan dr. Ali Santosa, Sp.PD, selaku tim penguji II yang telah meluangkan waktu untuk menguji skripsi ini;
5. Ibu Siti Endah Purnami yang saya cintai, sayangi, dan saya banggakan yang selalu mendoakan, melimpahkan kasih sayang, kepercayaan, harapan, mendengarkan keluh kesah, memberikan nasihat, menguatkan saya dalam setiap keadaan, dan selalu membimbing penulis ke arah yang lebih baik;
6. Edwin Fajerial Suko Purnomo Adi dan Dewita Rahmatisa Putri yang selalu memberikan doa dan semangat;
7. Seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberikan semangat;

8. Shinta Madyaning Wuri, Emma Enggar Safitri, dan M. Buyung Muslimin selaku rekan sekelompok penelitian yang saling mendukung dan memberi semangat sehingga penelitian ini selesai dengan lancar;
9. Revin Fiona Cinintya, Asis Fitriana, Cahya Kusumawardani S., Cicik Tri Juliani, Andyn Robioleny Saporin, Krisnayu Indraswari, Haqiqi Amira Syathir, dan Intan Wahyu P. sebagai sahabat yang saling memberi semangat dan doa;
10. Teman-teman angkatan 2013 yang sudah berjuang bersama selama ini;
11. Seluruh civitas Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang membantu dalam urusan skripsi ini;
12. Mbak Lilik sebagai analis Laboratorium Farmakologi dan Mbak Nuris sebagai analis Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember, serta Ibu Widi sebagai analis Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi;
13. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

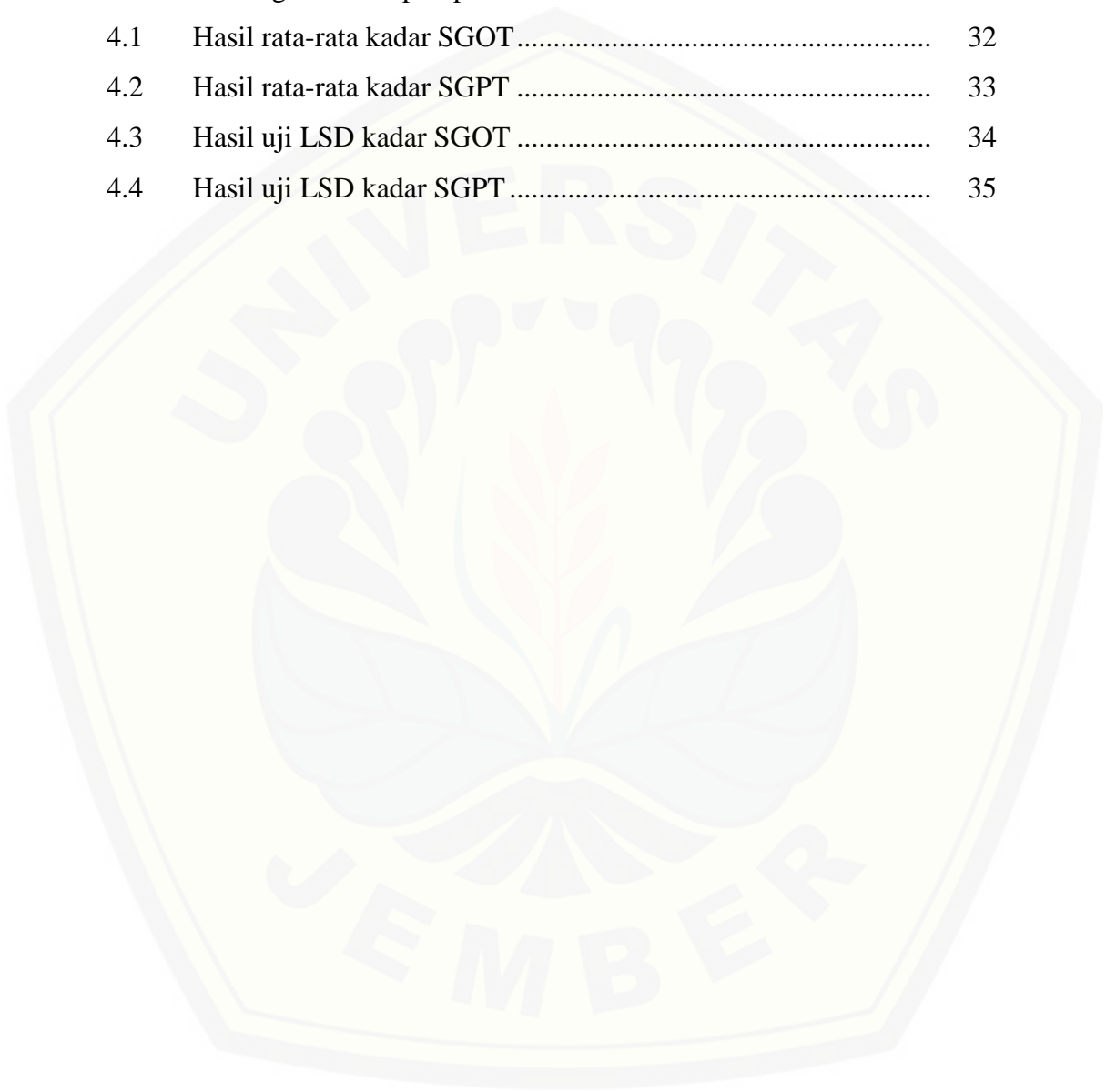
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Ilmiah	3
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Hepatotoksisitas Imbas Obat	5
2.2 Isoniazid	6
2.2.1 Struktur dan Sifat Kimia.....	7
2.2.2 Farmakologi.....	7
2.2.3 Efek Samping	8
2.2.3 Mekanisme INH Menyebabkan DILI.....	8
2.3 Hati	10
2.3.1 Anatomi Hati	10

2.3.2	Fisiologi Hati	11
2.3.3	Enzim Transaminase	12
2.4	Bayam (<i>Amaranthus tricolor L.</i>)	13
2.4.1	Karakteristik Bayam	13
2.4.2	Morfologi Bayam.....	14
2.4.3	Antioksidan Bayam.....	15
2.5	Kerangka Konseptual Penelitian	18
2.6	Hipotesis	19
BAB 3.	METODE PENELITIAN	20
3.1	Jenis Penelitian	20
3.2	Rancangan Penelitian	20
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.4	Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.5	Variabel Penelitian	22
3.5.1	Variabel Bebas.....	22
3.5.2	Variabel Terikat.....	22
3.5.3	Variabel Terkendali	22
3.6	Definisi Operasional	23
3.6.1	Ekstrak Etanol Daun Bayam (<i>Amaranthus tricolor L.</i>)	23
3.6.2	Kadar SGOT dan SGPT	23
3.6.3	Usia Mencit.....	23
3.6.4	Jenis Kelamin Mencit	24
3.6.5	Berat Badan Mencit	24
3.6.6	Pemeliharaan dan Perlakuan Mencit	24
3.6.7	Waktu dan Lama Perlakuan Mencit	24
3.6.8	Dosis dan Frekuensi Pemberian INH	24
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	25
3.7.1	Alat Penelitian	25
3.7.2	Bahan Penelitian	25
3.8	Prosedur Penelitian	26

3.8.1	Pemilihan Hewan Coba	26
3.8.2	Adaptasi Hewan Coba	26
3.8.3	Pembagian Kelompok Perlakuan.....	26
3.8.4	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam (<i>Amaranthus tricolor</i> L.)	26
3.8.5	Penginduksian Isoniazid (INH)	27
3.8.6	Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bayam (<i>Amaranthus tricolor</i> L.)	27
3.8.7	Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT	28
3.9	Analisis Data	28
3.10	Uji Kelayakan Etik	29
3.11	Alur Penelitian	30
3.11.1	Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam (<i>Amaranthus tricolor</i> L.).....	30
3.11.2	Skema Perlakuan terhadap Hewan Coba.....	31
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1	Hasil Penelitian	32
4.1.1	Hasil Kadar SGOT.....	32
4.1.2	Hasil Kadar SGPT	32
4.2	Analisis Data	33
4.2.1	Analisis Data Kadar SGOT	33
4.2.2	Analisis Data Kadar SGPT	35
4.3	Pembahasan	36
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran	41
	DAFTAR PUSTAKA	42
	LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kadar kandungan antioksidan daun bayam.....	16
3.1 Pembagian kelompok perlakuan	26
4.1 Hasil rata-rata kadar SGOT	32
4.2 Hasil rata-rata kadar SGPT	33
4.3 Hasil uji LSD kadar SGOT	34
4.4 Hasil uji LSD kadar SGPT	35



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur molekul INH.....	7
2.2 Mekanisme INH menyebabkan DILI.....	9
2.3 Makroskopis hati.....	11
2.4 Reaksi transaminasi SGOT.....	13
2.5 Reaksi transaminasi SGPT.....	13
2.6 Morfologi bayam.....	15
2.7 Kerangka konseptual penelitian.....	18
3.1 Skema rancangan penelitian.....	21
3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun bayam.....	30
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba.....	31
4.1 Grafik hasil uji LSD dan rata-rata \pm standar deviasi kadar SGOT.....	34
4.2 Grafik hasil uji LSD dan rata-rata \pm standar deviasi kadar SGPT.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Perhitungan Dosis	46
3.2 Volume Penyondean Berdasarkan Berat Badan Hewan Coba....	49
3.3 Tabel Daftar Volume Maksimal Pemberian Larutan yang Diberikan pada Hewan Coba.....	50
3.4 Identifikasi Tanaman.....	51
3.5 Dokumentasi Perlakuan Hewan Coba.....	52
3.6 Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam	53
3.7 Tabel Konversi Perhitungan Dosis.....	54
3.8 Dokumentasi Pemeriksaan SGOT dan SGPT	55
3.9 Persetujuan Etik Penelitian.....	56
4.1 Pemeriksaan dan Penelitian SGOT dan SGPT.....	58
4.2 Analisis Data	60

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hepatotoksisitas imbas obat (*Drug Induced Liver Injury*, DILI) merupakan komplikasi penggunaan obat yang paling sering dijumpai karena hati merupakan pusat metabolik dari semua obat (Bayupurnama, 2006). DILI merupakan penyebab tersering 1000–3000 obat ditarik dari pasaran (FDA, 2009). Menurut Ostapowicz *et al.* (2002), dari 2000 kasus gagal hati di US menunjukkan 50% kasus disebabkan oleh DILI dengan 37% akibat penggunaan asetaminofen dan 13% akibat DILI idiosinkransi. Sekitar 75% DILI idiosinkransi terjadi karena kesulitan mendeteksi atau mendiagnosis reaksi obat yang berbeda-beda pada setiap individu. Sebagian besar obat-obatan yang menyebabkan DILI idiosinkransi adalah antibiotik termasuk anti tuberkulosis (20%), senyawa sulfa (12%), fenitoin (10%), dan antibiotik lainnya (10%) (Fontana, 2008).

Isoniazid (INH), rifampisin (RMP), dan pirazinamid (PYR) merupakan obat anti tuberkulosis (OAT) yang menyebabkan DILI. INH dalam pengobatan tuberkulosis digunakan sebagai terapi kombinasi dengan OAT lainnya maupun terapi tunggal sebagai profilaksis tuberkulosis. Empat studi menunjukkan bahwa kejadian DILI akibat penggunaan INH tunggal sebagai profilaksis berkisar 0.1% - 0.56% (Ramappa dan Aithal, 2012). Menurut *Food and Drug Administration* (2009), 23.2 per 100.000 penduduk meninggal akibat hepatotoksisitas imbas INH tunggal sebagai profilaksis.

INH menyebabkan DILI akibat metabolit reaktif yang dihasilkan berupa asetilhidrazin dan hidrazin. Asetilhidrazin dioksidasi oleh sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) menghasilkan molekul beracun seperti asetil radikal ($\text{CH}_3\text{CO}\cdot$) yang dapat mengganggu sintesis protein intraselular sehingga menyebabkan kerusakan hati (Donald dan Helden, 2011). Hidrazin juga dioksidasi oleh CYP2E1 menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*, ROS) seperti radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) dan anion superoksida ($\text{O}_2\cdot^-$) yang termasuk dalam radikal bebas karena terdiri dari elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini berbahaya bagi tubuh karena dapat mengganggu sintesis lipid membran,

DNA, dan protein hepatosit (Teixeira *et al.*, 2013). Hidrazin juga dapat menurunkan bahkan menghilangkan aktivitas antioksidan endogen yaitu glutathion (GSH) sehingga radikal bebas menumpuk dan terjadi stres oksidatif (Heidari *et al.*, 2013).

Kerusakan hati akibat INH umumnya asimtomatis, maka dari itu perlu pemeriksaan fungsi hati seperti enzim transaminase serum untuk mengetahui adanya kerusakan hati. Pemeriksaan enzim transaminase serum terdiri dari *Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamate Pyruvate Transaminase* (SGPT). Enzim transaminase dapat ditemukan pada mitokondria dan sitoplasma hepatosit dengan konsentrasi normal dalam serum yaitu kurang dari 35-40 U/L. Jika terjadi kerusakan dan lisis hepatosit, maka enzim transaminase keluar menuju sirkulasi sehingga terjadi peningkatan enzim transaminase serum (Huang *et al.*, 2006).

Pengguna INH memerlukan antioksidan eksogen untuk mengurangi dampak negatif hasil metabolitnya. Antioksidan mampu menangkap radikal bebas (*radical scavenger*) sehingga kerusakan hati akibat INH dapat diredam. Antioksidan eksogen dapat diperoleh dalam bentuk sintetik maupun alami. Antioksidan sintetik seperti butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, dan tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) yang secara efektif digunakan untuk meredam radikal bebas. Penggunaan antioksidan sintetik sangat terbatas karena dapat menimbulkan keracunan dan karsinogenesis jika digunakan dalam jangka lama (Kikuzaki *et al.*, 2002). Oleh karena itu, diperlukan antioksidan alami dengan tingkat keamanan dan efektivitas yang tinggi.

Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan salah satu tanaman yang sering dikonsumsi dan mudah didapatkan karena tersebar di daerah subtropis maupun tropis seperti Indonesia. Bayam bagian daun sering dikonsumsi karena banyak manfaat dan kandungannya bagi kesehatan tubuh. Daun bayam telah terbukti mengandung antioksidan yang berfungsi sebagai neuroprotektif dalam menurunkan stres oksidatif dan inflamasi yang disebabkan oleh *Advanced glycation end-products* (AGE) sehingga risiko terjadinya neurodegeneratif menurun. Hal ini ditandai dengan penurunan kadar MDA, TN- α , IL-6, dan IL-1

(Amornrit dan Santiyanont, 2015). Al-Dosari (2010) juga meneliti bahwa adanya sifat hepatoprotektif berupa antioksidan pada ekstrak etanol daun bayam terhadap tikus yang diinduksi CCl₄. Hal ini ditandai dengan perbaikan histologi hati dengan berkurangnya nekrosis dan inflamasi, penurunan enzim transaminase, bilirubin, dan kadar lipid serum pada tikus. Antioksidan pada daun bayam terdiri dari flavonoid, vitamin C, beta karoten, dan klorofil yang berperan sebagai *radical scavenger* (Rajalakshmi *et al.*, 2011).

Berdasarkan penelitian sebelumnya belum ada yang melakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor akibat INH. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin melakukan penelitian mengenai efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit yang diinduksi INH.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian ini adalah bagaimanakah efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit yang diinduksi INH.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit yang diinduksi INH.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit yang diinduksi INH.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk meminimalisir terjadinya hepatotoksisitas imbas INH dengan menggunakan daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.).



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepatotoksisitas Imbas Obat

Hepatotoksisitas imbas obat (*Drug Induced Liver Injury*, DILI) diklasifikasikan menjadi dua kategori berdasar penyebabnya yaitu DILI langsung dan DILI idiosinkransi (Seeff dan Fontana, 2011). DILI langsung biasanya bergantung pada jumlah dosis yang diberikan. Pemberian asetaminofen merupakan salah satu contoh DILI langsung yang menyebabkan nekrosis sentrilobular akibat pemberian dosis toksik sehingga terjadi akumulasi metabolit reaktif, N-asetil p benzoquinon imina (NAPQI). Penumpukan NAPQI juga dapat ditingkatkan bila disertai konsumsi alkohol (Lee, 2003). DILI idiosinkransi bergantung pada respons masing-masing individu terhadap obat yang dikonsumsi, umumnya disebabkan karena polimorfisme genetik. Hal ini dapat ditinjau dari proses metabolisme obat yang dibantu oleh enzim yang merupakan senyawa protein yang dihasilkan melalui ekspresi genetik. Jumlah enzim yang dihasilkan tiap individu berbeda-beda sehingga mempengaruhi aktivitas enzim (Dienstag dan Isselbacher, 2005).

Proses metabolisme obat dapat menghasilkan metabolit reaktif yang merusak hepatosit dan menyebabkan DILI idiosinkransi dengan berbagai mekanisme, namun mekanisme yang umum terjadi adalah sebagai berikut (1) adanya gangguan pompa ionik dan penyimpanan kalsium intraselular yang dapat menyebabkan gangguan mitokondria dan produksi energi (2) adanya interaksi antara metabolit reaktif dengan makromolekul selular berupa lemak, asam nukleat, dan protein yang dapat menyebabkan gangguan sintesis lipid membran, *deoxyribonucleic acid* (DNA), dan protein (Lee, 2003). Kerusakan hati pada DILI dapat menyebabkan kematian hepatosit melalui nekrosis atau apoptosis. Nekrosis diawali dengan kerusakan mitokondria dan hilangnya fungsi produksi energi adenosin trifosfat (ATP) menyebabkan pembengkakan dan lisis sel yang merangsang terjadinya inflamasi. Apoptosis hanya menyebabkan pengerutan dan fragmentasi sel menjadi partikel-partikel kecil dengan membran sel tetap utuh, yang selanjutnya difagositosis (Navarro dan Senior, 2006).

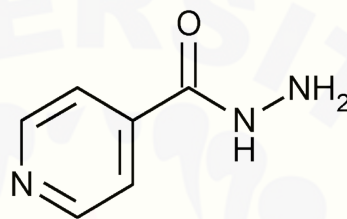
Gejala yang muncul pada pasien DILI sama halnya dengan hepatitis lainnya, berupa malaise, kehilangan berat badan, mual, muntah, nyeri hipokondrium kanan, ikterus, dan gejala ekstrahepatik seperti ruam kulit, artralgia, dan demam yang kemungkinan berhubungan dengan reaksi hipersensitivitas (Chughlay *et al.*, 2015). Untuk mendiagnosis DILI butuh kecermatan seorang klinisi dalam anamnesis karena tidak ada alat diagnostik yang spesifik. Untuk menentukan penyebab DILI dapat digunakan metode *Roussel-Uclaf Causality Assessment Method* (RUCAM). Metode ini menggunakan sistem penilaian yang terdiri dari beberapa parameter, yaitu jangka waktu antara konsumsi obat-obatan dan pertama kali munculnya gejala DILI, perjalanan penyakit yang timbul, faktor risiko, eksklusi penyebab hepatitis lainnya, informasi mengenai DILI, dan respons terhadap pemberian ulang obat-obatan yang dikonsumsi (Danan dan Benichou, 1993). Tatalaksana penting DILI adalah penghentian pengobatan atau melanjutkan pengobatan disertai dengan pemberian obat simtomatis dan suportif. Pengobatan simtomatis seperti pemberian kortikosteroid dapat diberikan jika terjadi reaksi hipersensitivitas ekstrahepatik. Pengobatan suportif seperti pemberian hepatoprotektor berperan untuk melindungi hati dan/atau memulihkan hati yang telah rusak akibat metabolit reaktif obat. Hepatoprotektif yang umum digunakan adalah pemberian kurkumin, *silymarin* ataupun ekstrak tumbuhan yang mengandung antioksidan (Lee, 2003).

2.2 Isoniazid

Isoniazid (INH) adalah turunan hidrazida dan obat oral pertama anti tuberkulosis yang ditemukan pada tahun 1952. INH bersifat bakterisid yang berarti efektif membunuh bakteri *Mycobacterium*. INH menghambat pembentukan asam mikolat yang dibutuhkan mikobakterium untuk membentuk dinding sel. INH digunakan sebagai terapi tuberkulosis dalam bentuk kombinasi dengan OAT lainnya dan sebagai profilaksis tuberkulosis yang disertai maupun tidak disertai dengan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) dalam bentuk tunggal (Spratto dan Woods, 2012).

2.2.1 Struktur dan Sifat Kimia

Isoniazid atau dikenal sebagai isoniazidum, isonikotinoil hidrazin, isonikotinil hidrazida, isonikotinil hidrazin, tubazid memiliki rumus molekul $C_6H_7N_3O$ dengan berat molekul 137,14 g/mol, titik leleh 171-173°C, kelarutan dalam air 14 g/100 mL pada suhu 25°C. Penampilannya berupa kristal berwarna putih atau tidak berwarna dan tidak berbau (Istiantoro dan Setiabudy, 2007). Struktur molekul INH ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur molekul INH (Sumber: Istiantoro dan Setiabudy, 2007)

2.2.2 Farmakologi

Sediaan INH terdapat dalam bentuk tablet 50, 100, 300, dan 400 mg serta sirup 10 mg/mL. Umumnya dosis yang diberikan adalah 5 mg/kgBB/hari, maksimum 300 mg/hari per oral. INH diabsorpsi dengan baik melalui saluran pencernaan pada pemberian oral maupun parenteral. Absorpsi INH menjadi terganggu jika dikonsumsi bersamaan dengan makanan, maka lebih baik diberikan saat lambung kosong. Kadar puncak plasma INH adalah 1-2 jam setelah pemberian oral. INH di dalam darah diikat oleh protein sekitar 10-15% dengan didistribusikan ke semua jaringan maupun cairan tubuh termasuk cairan serebrospinalis, plasenta, dan air susu ibu. INH dimetabolisme di hati melalui proses asetilasi yang dipengaruhi oleh faktor genetik. Waktu paruh obat ini sekitar 30-100 menit pada individu yang memiliki asetilator cepat dan 2-5 jam pada individu yang memiliki asetilator lambat. Waktu paruh juga menjadi lebih panjang jika seseorang memiliki gangguan pada hati maupun ginjal. INH diekskresi melalui urin sekitar 75-95% dengan hampir seluruhnya dalam bentuk metabolit (Istiantoro dan Setiabudy, 2007).

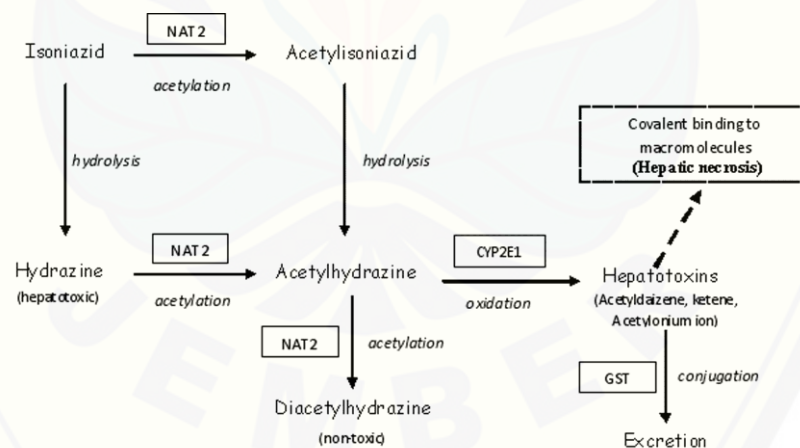
2.2.3 Efek Samping

Efek samping penggunaan INH dibagi menjadi dua yaitu efek samping ringan dan berat. Neuropati perifer berupa kesemutan, rasa terbakar pada kaki, dan nyeri otot merupakan efek samping ringan yang sering terjadi. Efek samping ini dapat diobati dengan pemberian piridoksin (vitamin B₆) 10 mg/hari (Kee dan Hayes, 1996). DILI merupakan efek samping berat akibat metabolit reaktif INH. Hanya sebagian kecil pasien yang mengalami gejala, maka perlu evaluasi enzim transaminase berupa SGOT dan SGPT yang merupakan penanda untuk mendeteksi adanya kerusakan hati. Pemeriksaan enzim transaminase pada penggunaan INH sebaiknya dilakukan sebelum pemberian obat dan dipantau setiap 2 minggu sekali. Apabila kenaikan enzim melebihi 5 kali dari normal dan timbul ikterus, maka penggunaan obat harus dihentikan (Istiantoro dan Setiabudy, 2007). Penggunaan INH dikontraindikasikan pada pasien yang telah memiliki gangguan hati sebelumnya dan hipersensitivitas terhadap obat ini (Spratto dan Woods, 2012). Faktor-faktor yang meningkatkan risiko terjadinya kerusakan hati akibat INH diantaranya usia, konsumsi alkohol, dan status asetilator individu. Kerusakan hati sangat jarang ditemukan pada usia di bawah 35 tahun (Istiantoro dan Setiabudy, 2007). Individu yang memiliki fenotip asetilator lambat akan memperpanjang waktu paruh sehingga terjadi akumulasi metabolit reaktif INH di dalam tubuh (Saukkonen *et al.*, 2006).

2.2.4 Mekanisme INH Menyebabkan DILI

INH menyebabkan DILI akibat hasil metabolit reaktif yang dihasilkan yaitu asetilhidrazin dan hidrazin. INH mengalami asetilasi oleh N-asetiltransferase 2 (NAT2) menjadi asetilisoniazid. Asetilisoniazid dihidrolisis oleh amidase menjadi asetilhidrazin (toksik) dan asam nikotinat (non toksik). Asetilhidrazin akan mengalami hidrolisis menjadi hidrazin (toksik) oleh amidase atau mengalami asetilasi oleh NAT2 menjadi diasetilhidrazin (non toksik). Asetilhidrazin dapat juga dioksidasi oleh CYP2E1 menghasilkan molekul beracun seperti asetil radikal (CH₃CO·) yang dapat mengganggu sintesis protein intraselular dan menyebabkan

kerusakan hati (Donald dan Helden, 2011). INH juga mengalami hidrolisis oleh amidase menjadi hidrazin (toksik) dan asam nikotinat (non toksik). Hidrazin akan mengalami asetilasi menjadi asetilhidrazin (toksik) oleh NAT2. Hidrazin dapat juga dioksidasi oleh CYP2E1 menjadi hidroksil hidrazin. Asam nikotinat hasil metabolisme INH akan mengalami konjugasi dengan glisin menjadi isonikotinil glisin dan diekskresi melalui urin. Detoksifikasi metabolit reaktif INH dapat terjadi dengan konjugasi GSH yang melibatkan enzim glutation S-transferase (GST) agar mudah diekskresi. Proses oksidasi oleh CYP2E1 menghasilkan ROS sebagai akibat keterlibatan oksigen dalam metabolisme obat. ROS seperti $\text{OH}\cdot$ dan $\text{O}_2\cdot^-$, termasuk dalam radikal bebas karena terdiri dari elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini berbahaya bagi tubuh karena dapat berikatan dengan makromolekul selular seperti lemak, asam nukleat, dan protein sehingga mengganggu sintesis lipid membran, DNA, dan protein hepatosit (Teixeira *et al.*, 2013). Mekanisme INH menyebabkan DILI secara singkat ditampilkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Mekanisme INH menyebabkan DILI (Sumber: Teixeira *et al.*, 2013)

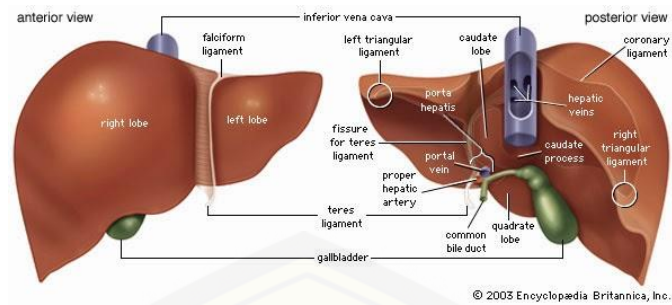
Hidrazin juga dapat menurunkan bahkan menghilangkan aktivitas GSH karena kapasitas pengikatan GSH dengan hidrazin yang berlebihan. GSH memiliki gugus sulfhidril sistein yaitu bagian molekul yang aktif berperan dalam

mengkonjugasi metabolit reaktif. Jika aktivitas GSH hati menurun, maka hati lebih rentan terhadap stres oksidatif (Heidari *et al.*, 2013).

2.3 Hati

2.3.1 Anatomi Hati

Hati adalah kelenjar terbesar dalam tubuh manusia dengan berat 1500 gram atau 2% dari berat badan orang dewasa normal yang secara luas dilindungi oleh tulang-tulang iga. Sebagian besar hati terletak pada rongga perut daerah hipokondrium kanan dan meluas ke daerah epigastrium. Hati dikelilingi oleh kapsul fibrosa yang dinamakan kapsul glisson dan diliputi oleh peritoneum viseralis kecuali daerah kecil pada permukaan posterior yang melekat langsung pada diafragma. Beberapa ligamentum juga membantu menyokong hati. Bagian superior hati berbentuk cembung dan terletak di bawah diafragma. Bagian inferior hati berbentuk cekung dan di bawahnya terdapat ginjal kanan, lambung, pankreas, dan usus. Hati terbagi menjadi 4 lobus yaitu lobus kanan, lobus kiri, lobus kaudatus, dan lobus quadratus. Hati bagian anterior terdapat ligamentum falsiparum yang memisahkan lobus kanan dan lobus kiri. Pada tepi inferior ligamentum falsiparum terdapat ligamentum teres hepatic yang pada masa embrio merupakan vena umbilikalisis dan mengalami atrofi setelah lahir. Ligamentum teres hepatic berjalan hingga fissura umbilikalisis yang terdapat pada bagian posterior hati. Fissura umbilikalisis mengandung triad portal yang terdiri dari arteri hepatica, vena porta hepatica, dan duktus biliaris. Lobus kaudatus dan lobus kuadratus juga ditemukan di bagian posterior hati (Lindseth, 2005). Makroskopis hati ditampilkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Makroskopis hati (Sumber: Lindseth, 2005)

Setiap lobus terdiri atas lobulus-lobulus yang berbentuk heksagonal. Setiap lobulus terdiri atas sel-sel hati, yang disebut sebagai hepatosit. Di antara hepatosit berjalan cabang-cabang pembuluh darah. Hati disuplai oleh dua pembuluh darah yaitu arteri hepatica dan vena porta hepatica. Arteri hepatica merupakan cabang dari aorta abdominalis. Vena porta hepatica terbentuk dari vena lienalis dan vena mesenterika superior. Darah dari dua cabang pembuluh darah ini berjalan dari tepi lobulus ke sinusoid yang terletak di antara hepatosit ke vena sentral. Sinusoid dibatasi oleh sel kupffer yang merupakan sistem fagositik dan berfungsi untuk menelan bakteri maupun benda asing yang ada dalam darah. Kumpulan dari beberapa vena sentral menyatu menjadi vena hepatica yang mengembalikan darah dari hati ke vena kava inferior. Saluran empedu tipis yang berjalan di antara hepatosit disebut sebagai kanalikulus biliaris. Kanalikulus biliaris dari berbagai lobulus menyatu menjadi duktus biliaris yang akhirnya membentuk duktus biliaris komunis. Duktus sistikus yang berasal dari kantong empedu menyatu dengan duktus biliaris komunis membentuk duktus koledokus yang bermuara pada duodenum (Sherwood, 2011).

2.3.2 Fisiologi Hati

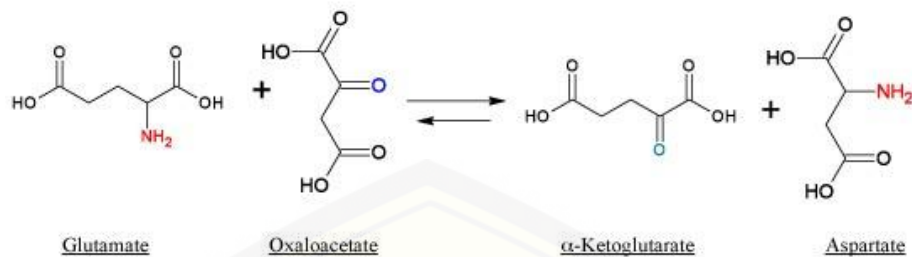
Hati merupakan organ yang berperan penting dalam metabolisme tubuh. Hati juga mempunyai banyak fungsi dan bertanggung jawab atas 500 aktivitas yang berbeda (Lindseth, 2005).

Fungsi metabolisme xenobiotik merupakan fungsi utama hati untuk menghindari terjadinya kerusakan hati akibat bahan kimia asing seperti obat, zat

aditif makanan, polutan, dan karsinogen kimia lainnya. Xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh bersifat lipofilik sehingga memiliki afinitas yang tinggi terhadap membran sel dan dapat disimpan di dalam sel. Penimbunan xenobiotik yang berlebih dan dalam jangka waktu lama akan merusak sel tubuh. Metabolisme xenobiotik terdiri dari dua fase sebagai berikut (1) bahan-bahan lipofilik mengalami oksidasi, reduksi, dan hidrolisis oleh enzim. Sistem enzim oksidatif yang terpenting di dalam hati adalah CYP. CYP2E1 merupakan salah satu jenis sitokrom P450 yang tergolong dalam famili 2, subfamili E, dan isoenzim 1. (2) Konjugasi metabolit hasil fase 1 dengan asam glukoronat, sulfat, GSH, asetat, asam amino, atau oleh metilasi sehingga toksik bersifat hidrofilik dan diekskresi melalui urin maupun feses. GSH merupakan mekanisme pertahanan penting yang berperan sebagai antioksidan endogen. Xenobiotik yang berpotensi toksik dikonjugasikan dengan GSH agar tidak bebas berikatan kovalen dengan DNA, RNA, atau protein sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan metabolisme xenobiotik diantaranya konsentrasi, fungsi hati, usia, genetik, dan penggunaan bersama bahan lain (Murray, 2009).

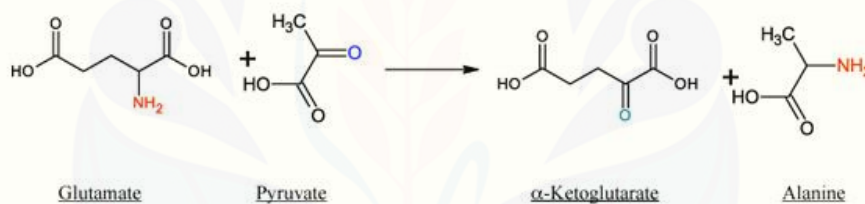
2.3.3 Enzim Transaminase

Salah satu enzim yang terdapat pada hati adalah enzim transaminase yang jumlahnya akan meningkat pada darah jika terjadi kerusakan hati. Enzim transaminase atau disebut juga enzim aminotransaminase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi transaminasi yang terjadi di dalam mitokondria maupun sitoplasma. Proses transaminasi terjadi pada katabolisme beberapa asam amino seperti alanin, asam aspartat, dan sistein, dengan pemindahan gugus amino dari satu asam amino ke asam amino lain. Enzim yang penting dalam reaksi ini adalah SGOT dan SGPT (Sumardjo, 2008). Enzim SGOT dapat ditemukan di hati, otot rangka, sel darah merah, jantung, ginjal, dan otak (Bastiansyah, 2008). Enzim ini mengkatalisis pemindahan bolak-balik gugus amino dari asam glutamat ke oksaloasetat membentuk α -ketoglutarat dan asam aspartat. Reaksi transaminasi SGOT ditampilkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi transaminasi SGOT (Sumber: Sumardjo, 2008)

Enzim SGPT dapat ditemukan di hati dan jantung (Bastiansyah, 2008). Enzim ini mengkatalisis pemindahan bolak-balik gugus amino dari glutamat ke piruvat membentuk α -ketoglutarat dan alanin. Reaksi transaminasi SGPT ditampilkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Reaksi transaminasi SGPT (Sumber: Sumardjo, 2008)

Kedua enzim ini merupakan indikator diagnosis adanya kerusakan hati, dengan pemeriksaan SGPT yang lebih spesifik. Kadar normal SGOT dan SGPT dalam darah adalah 5-40 U/L dan 5-35 U/L. Jika terjadi kerusakan hati, maka hepatosit lisis dan enzim transaminase yang terdapat pada mitokondria keluar menuju sirkulasi sehingga kerusakan hati menyebabkan peningkatan nilai SGOT dan SGPT. (Huang *et al.*, 2006).

2.4 Bayam (*Amaranthus tricolor* L.)

2.4.1 Karakteristik Bayam

Bayam merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Asia, khususnya Asia Selatan dan Asia Tenggara (Grubben dan Denton, 2006). Bayam tersebar

luas di pulau Jawa dan pulau Maluku. Bayam *Amaranthus tricolor* L. dikenal dengan nama yang berbeda-beda di setiap daerah seperti bayam glatik, bayam putih, bayam merah (Jakarta), bayam abrit, bayam sekul, bayam siti (Jawa), jawa lufife, tona ma gaahu, baya roriha, loda kohori (Maluku). Nama lain dari tanaman ini adalah *Amaranthus gagenticus* dan *Amaranthus tristis*. Terdapat tiga varietas bayam yang termasuk *Amaranthus tricolor* L. yaitu bayam hijau biasa, bayam merah (*Blitum rubrum*) yang memiliki batang dan daun berwarna merah, serta bayam putih (*Blitum album*) yang berwarna hijau keputih-putihan. Bayam ini dijual di pasaran dikenal sebagai bayam cabutan atau bayam sekul (Dalimartha, 2005).

Dalam taksonomi, bayam ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Amaranthaceae
Genus	: <i>Amaranthus</i>
Subgenus	: <i>Albersia</i>
Spesies	: <i>Amaranthus tricolor</i> L. (Saparinto, 2013)

2.4.2 Morfologi Bayam

Amaranthus tricolor L. disebut bayam cabut karena umurnya hanya 30 hari, langsung dicabut seluruh bagian tanamannya termasuk akar. Bayam ini termasuk tanaman yang tumbuh menahun berbentuk terna dengan tinggi mencapai 1.5 meter. Tanaman bayam terdiri dari akar, batang, daun, bunga, dan biji. Sistem pengakarannya menyebar dangkal dengan kedalaman 20 – 40 cm dan memiliki akar tunggang. Bayam termasuk kelas *Dicotyledone* (tanaman berbiji keping dua).

Batangnya banyak mengandung air (*herbaceous*), tumbuh di atas permukaan tanah, dan memiliki batang bercabang banyak. Daun bayam berbentuk bulat telur dengan ujungnya agak meruncing dan urat-urat daun terlihat jelas. Warna daun bervariasi, ada yang hijau biasa, hijau keputih-putihan sampai warna merah. Bunga tersusun dalam malai (untaian bunga) yang tumbuh tegak keluar dari ujung tanaman ataupun dari ketiak-ketiak daun. Bentuk malai memanjang mirip ekor kucing. Perbanyakkan tanaman umumnya melalui biji. Dari setiap malai dapat menghasilkan ratusan hingga ribuan biji. Ukuran biji sangat kecil, bentuknya bulat, dan berwarna coklat tua mengkilap sampai hitam kelam (Rukmana, 1994). Morfologi bayam ditampilkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Morfologi bayam (Sumber: Rukmana, 1994)

2.4.3 Antioksidan Daun Bayam

Bayam merupakan sayuran hijau yang sering dikonsumsi masyarakat karena manfaat dan kandungannya yang baik bagi kesehatan tubuh. Bayam juga mudah didapat di pasaran. Bayam umumnya digunakan sebagai alternatif pengobatan internal diare, disentri, perdarahan usus, maupun perdarahan menstruasi yang banyak. Bayam juga dimanfaatkan untuk mengobati ulserasi mulut. Rebusan daun bayam dapat diberikan untuk memudahkan konstipasi, flatus, dan ikterus (Al-Dosari, 2010). Bayam sangat baik dikonsumsi oleh ibu hamil karena mengandung asam folat yang digunakan untuk pembentukan sel, sistem saraf, dan sel darah

merah. Manfaat-manfaat ini juga muncul karena bayam mengandung vitamin, mineral, dan serat yang dibutuhkan oleh tubuh (Kemenkes, 2014).

Antioksidan merupakan lini pertama sistem pertahanan tubuh terhadap bahaya radikal bebas dengan menyumbangkan elektron atau reduktan. Bayam merupakan sayuran berwarna yang tinggi antioksidan sehingga sangat berpotensi dalam melawan oksidan terutama radikal bebas yang dapat menurunkan kondisi kesehatan tubuh (Kemenkes, 2014). Senyawa fitokimia pada daun bayam yang berfungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid, vitamin c, beta karoten, dan klorofil. Kadar kandungan antioksidan daun bayam dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kadar kandungan antioksidan daun bayam

Antioksidan	Kandungan per 100g
flavonoid	485 mg
vitamin C	80 mg
beta karoten	11.9 μ g
klorofil	8.8 μ g

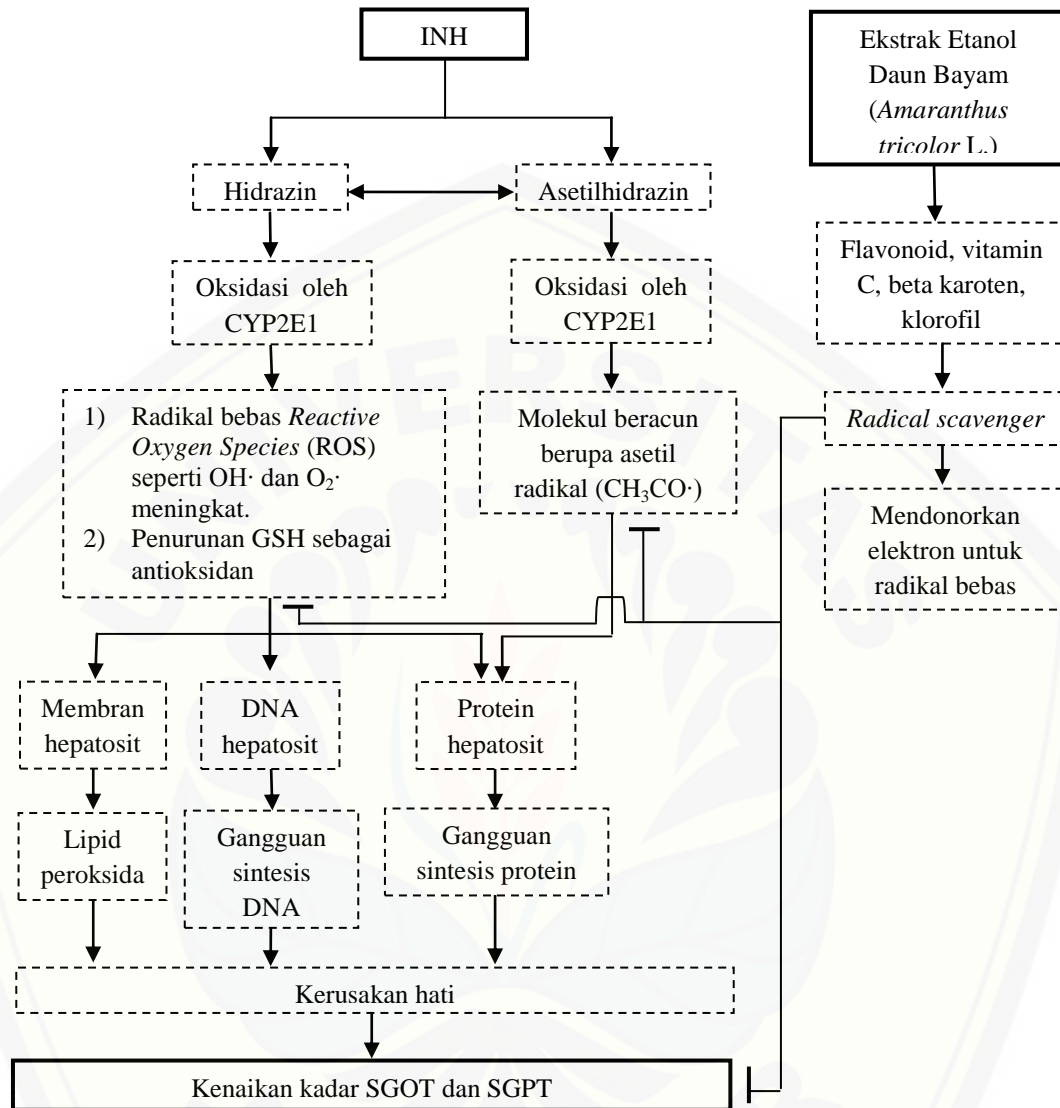
Sumber: Rajalakshmi *et al.* (2011)

Antioksidan daun bayam berperan sebagai penangkap radikal bebas (*radical scavenger*) dengan mendonorkan elektronnya. Flavonoid sebagai antioksidan tidak hanya berperan sebagai *radical scavenger*, namun juga berperan sebagai *chelating* ion logam sehingga kerusakan sel akibat radikal hidroksil yang dihasilkan dari reaksi hidropersida (H_2O_2) dengan ion logam dapat diredam. Logam transisi seperti Fe dan Cu memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga sangat reaktif dalam mengkatalisis reaksi redoks tubuh. Flavonoid juga mampu menghambat kerja enzim CYP dalam menghasilkan radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013). Vitamin C sebagai *radical scavenger* mampu menyumbangkan dua elektronnya sehingga terbentuk radikal askorbil yang akan teroksidasi dan menghasilkan asam dehidroaskorbat (McDowell *et al.*, 2007). Vitamin C dan flavonoid dapat meningkatkan kadar antioksidan endogen seperti katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), dan glutation (GSH) (Katose *et al.*, 2015). Beta karoten dan klorofil berperan sebagai pemberi pigmen yang kaya akan antioksidan sebagai *radical scavenger*. Betakaroten termasuk dalam vitamin antioksidan yang larut dalam lemak sehingga mampu melindungi membran sel

(Mueller dan Boehm, 2011). Klorofil sebagai antioksidan sama halnya dengan flavonoid, tidak hanya berperan sebagai *radical scavenger*, namun juga berperan sebagai *chelating* ion logam (Hsu *et al.*, 2013).

Jenis flavonoid yang terdapat pada daun bayam *Amaranthus tricolor* L. adalah kuersetin dan rutin (Noori *et al.*, 2015). Kuersetin khususnya dikenal sebagai *chelating* ion Fe dengan menstabilkan Fe agar tidak berikatan dengan H_2O_2 membentuk $OH\cdot$ yang termasuk dalam radikal bebas yang sangat reaktif. Jenis flavonoid lain yang ditemukan pada daun bayam *Amaranthus tricolor* L. adalah katekin (Ghasemzadeh *et al.*, 2012). Katekin dan rutin memiliki sifat *radical scavenger* yang sangat kuat karena cincin B flavonoid mempunyai gugus katekol dengan radikal ortho semiquinon yang stabil untuk mengikat radikal bebas (Kumar dan Pandey, 2013).

2.5 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan:

- : Memacu
- | : Menghambat
- ▭ : Diteliti
- ▭ (dashed) : Tidak Diteliti

Gambar 2.7 Kerangka konseptual penelitian

INH diberikan per oral, diabsorpsi oleh saluran pencernaan, dan dimetabolisme di hati. INH mengalami asetilasi oleh NAT2 menjadi asetilisoniazid dan dihidrolisis menjadi asetilhidrazin. Asetilhidrazin dihidrolisis menjadi hidrazin oleh amidase atau mengalami oksidasi oleh CYP2E1

menghasilkan molekul beracun seperti $\text{CH}_3\text{CO}\cdot$ yang dapat mengganggu sintesis protein intraselular dan menyebabkan kerusakan hati. INH juga mengalami hidrolisis menjadi hidrazin. Hidrazin mengalami asetilasi menjadi asetilhidrazin oleh NAT2 atau mengalami oksidasi oleh CYP2E1. Proses oksidasi oleh CYP2E1 menghasilkan ROS seperti $\text{OH}\cdot$ dan $\text{O}_2\cdot$ yang termasuk dalam radikal bebas karena terdiri dari elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini berbahaya bagi tubuh karena dapat mengganggu sintesis lipid membran, DNA, dan protein hepatosit. Hidrazin juga dapat menurunkan bahkan menghilangkan aktivitas GSH sehingga radikal bebas menumpuk dan terjadi stres oksidatif. Salah satu indikator adanya kerusakan hati adalah meningkatnya enzim SGOT dan SGPT serum. Kerusakan hati dapat dicegah dengan pemberian antioksidan alami berupa daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.). Antioksidan pada daun bayam terdiri dari flavonoid, vitamin C, beta karoten, dan klorofil yang berperan sebagai *radical scavenger* dengan mendonorkan elektron untuk berikatan dengan radikal bebas sehingga menjadi stabil.

2.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat efek hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT mencit yang diinduksi INH.

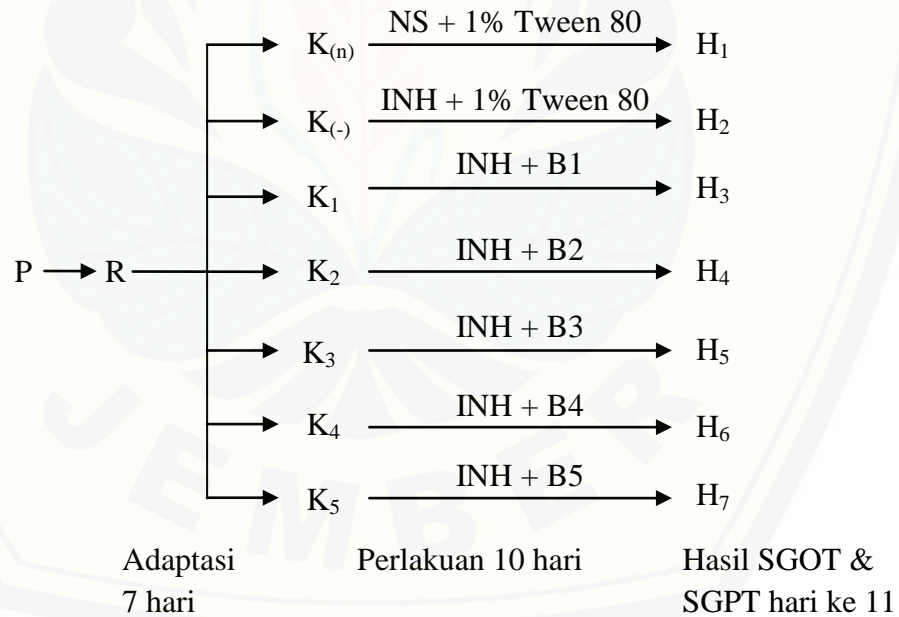
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental sebenarnya (*true experimental laboratories*) dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *posttest only control group design*. Penilaian hanya dilakukan pada *posttest* yaitu setelah mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol daun bayam. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Keterangan :

P : Populasi

R : Randomisasi

K_(n) : Kelompok normal

K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif

K₁ : Kelompok perlakuan 1

K₂ : Kelompok perlakuan 2

K₃ : Kelompok perlakuan 3

- K₄ : Kelompok perlakuan 4
 K₅ : Kelompok perlakuan 5
 NS : Pemberian normal salin per oral
 INH : Pemberian INH 100 mg/kgBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari
 B1 : Pemberian ekstrak etanol daun bayam 1,05 mg/20 gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
 B2 : Pemberian ekstrak etanol daun bayam 2,1 mg/20 gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
 B3 : Pemberian ekstrak etanol daun bayam 4,2 mg/20 gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
 B4 : Pemberian ekstrak etanol daun bayam 8,4 mg/20 gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
 B5 : Pemberian ekstrak etanol daun bayam 16,8 mg/20 gBB per oral pada hari ke-8 selama 10 hari dan diberikan 2 jam setelah INH
 H₁ : Kadar SGPT dan SGOT K_(n)
 H₂ : Kadar SGPT dan SGOT K₍₋₎
 H₃ : Kadar SGPT dan SGOT K₁
 H₄ : Kadar SGPT dan SGOT K₂
 H₅ : Kadar SGPT dan SGOT K₃
 H₆ : Kadar SGPT dan SGOT K₄
 H₇ : Kadar SGPT dan SGOT K₅

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari peternak mencit yang ada di Malang. Terdapat kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk menentukan dapat tidaknya sampel tersebut digunakan. Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi: *Mus musculus* jantan, mencit sehat (bergerak aktif), usia 2-3 bulan, dan berat badan 20-30 gram. Sedangkan kriteria eksklusi meliputi mencit yang sakit dan mati sebelum proses randomisasi. Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik random sederhana (*simple random sampling*) dari populasi mencit yang kemudian akan dibagi menjadi 7 kelompok. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:

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

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

$$(7-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$r \geq 4$$

Pada rumus tersebut, t adalah jumlah perlakuan dan r adalah banyaknya replikasi setiap kelompok perlakuan. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 ekor mencit untuk 7 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 28 ekor mencit.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan mencit, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak etanol daun bayam dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan SGOT dan SGPT mencit. Waktu pelaksanaan adalah bulan Oktober 2016.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) pada mencit.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT pada mencit.

3.5.3 Variabel Terkendali:

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Usia mencit
- b. Jenis kelamin mencit
- c. Berat badan mencit
- d. Pemeliharaan dan perlakuan mencit
- e. Waktu dan lama perlakuan mencit
- f. Dosis dan frekuensi pemberian INH

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.)

Ekstrak etanol daun bayam adalah hasil ekstraksi daun bayam dengan pelarut etanol 96%. Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak etanol daun bayam adalah melalui metode maserasi. Ekstrak etanol daun bayam dilarutkan 0,2 mL/20 gBB 1% Tween 80 dan diberikan kepada mencit dengan dosis 1,05 mg/20 gBB, 2,1 mg/20 gBB, 4,2 mg/20 gBB, 8,4 mg/20 gBB, dan 16,8 mg/20 gBB per oral dengan alat sonde setiap hari selama 10 hari setelah 2 jam pemberian INH. Perhitungan dosis dan volume pemberian ekstrak etanol daun bayam disesuaikan dengan berat badan mencit seperti pada Lampiran 3.1 dan Lampiran 3.2 dengan volume maksimal pemberian per oral pada mencit menurut Suhardjono (1994) yang dapat dilihat pada Lampiran 3.3. Sebelum dilakukan ekstraksi, tanaman bayam dilakukan identifikasi tanaman yang dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

3.6.2 Kadar SGOT dan SGPT

Kadar SGOT dan SGPT adalah kadar yang digunakan peneliti untuk menunjukkan efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam. Pengukuran kedua enzim ini melalui serum darah mencit yang diambil dari darahnya melalui jantung. Kadar enzim tersebut menunjukkan seberapa besar sel hepatosit rusak, semakin tinggi kadar enzim menunjukkan semakin besar sel hepatosit yang rusak. Pengukuran kadar SGOT dan SGPT dengan metode kinetik IFCC reagen DIALAB menggunakan spektrofotometer. Kadar SGOT dan SGPT didapatkan dari rata-rata beda absorbansi per menit ($\Delta A/\text{min}$) dikalikan dengan faktor sesuai panjang gelombang. Hasil yang didapatkan dinyatakan dalam satuan U/L (Wagner, 2006).

3.6.3 Usia Mencit

Ditentukan usia 2-3 bulan karena pada usia tersebut hewan coba telah matur (Gentil, 2015).

3.6.4 Jenis Kelamin Mencit

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan karena relatif lebih kuat dan tidak terganggu oleh kehamilan (Gentil, 2015).

3.6.5 Berat Badan Mencit

Berat badan hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20-30 gram karena merupakan berat badan ideal dengan ukuran yang kecil tetapi luas permukaan besar memudahkan mencit untuk beradaptasi (Gentil, 2015).

3.6.6 Pemeliharaan dan Perlakuan Mencit

Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba di sebuah kandang berukuran 45 x 30 x 20 cm dan beralaskan sekam kering. Pada kandang 7 kelompok hewan coba masing-masing berisi 4 ekor hewan coba dengan pemberian makanan turbo 12 bentuk pelet dan minuman berupa air secara *ad libitum* pada semua kandang.

3.6.7 Waktu dan Lama Perlakuan Mencit

Perlakuan hewan coba dilakukan selama 10 hari setelah 7 hari diadaptasi.

3.6.8 Dosis dan Frekuensi Pemberian INH

Dosis INH yang digunakan pada penelitian ini adalah 100 mg/kgBB yang dilarutkan dengan NS dan diberikan pada mencit per oral dengan alat sonde satu kali sehari selama 10 hari. Perhitungan dosis dan volume pemberian INH disesuaikan dengan berat badan mencit seperti pada Lampiran 3.1 dan Lampiran 3.2 dengan volume maksimal pemberian per oral pada mencit menurut Suhardjono (1994) seperti pada Lampiran 3.3. INH yang digunakan dalam bentuk tablet generik yang diproduksi kimia farma dengan sediaan 100 mg, yang didapatkan di apotek terdekat.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Alat untuk pemeliharaan mencit adalah bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label.
- b. Alat untuk pembuatan ekstrak etanol daun bayam adalah oven, *slep*, kertas saring, timbangan digital, *rotary evaporator*, dan pengaduk.
- c. Alat untuk pemberian ekstrak etanol daun bayam adalah *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*.
- d. Alat untuk pemberian INH adalah mortar dan stemper, *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*.
- e. Alat untuk mengambil darah mencit adalah papan fiksasi, *scalpel*, pinset, jarum, spuit, dan *handscoon*.
- f. Alat untuk mengukur kadar SGOT dan SGPT adalah *cuvet*, spektrofotometer, tabung reaksi, tabung eppendorf, *sentrifuge*, vorteks, rak, mikropipet, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah makanan turbo 12 bentuk pelet, air, dan sekam.
- b. Bahan untuk ekstrak etanol daun bayam adalah daun bayam dan etanol 96%.
- c. Bahan untuk menyonde adalah INH, ekstrak etanol daun bayam, 1% Tween 80, dan NS.
- d. Bahan untuk mengukur kadar SGOT dan SGPT adalah reagen dan serum darah mencit.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 28 ekor mencit (*Mus musculus*) dibagi menjadi 7 kelompok secara randomisasi dengan kriteria *Mus musculus* jantan, mencit sehat (bergerak aktif), usia 2-3 bulan, dan berat badan 20-30 gram.

3.8.2 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan baru. Makanan turbo 12 bentuk pelet dan minuman air yang diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang. Dokumentasi perlakuan hewan coba dapat dilihat pada Lampiran 3.5.

3.8.2 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah kelompok pada penelitian ini adalah 7 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit. Pembagian kelompok mencit dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
k _(n)	pemberian NS
k ₍₋₎	pemberian INH 100 mg/kgBB
k ₍₁₎	pemberian INH 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun bayam 1,05 mg/20 gBB
k ₍₂₎	pemberian INH 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun bayam 2,1 mg/20 gBB
k ₍₃₎	pemberian INH 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun bayam 4,2 mg/20 gBB
k ₍₄₎	pemberian INH 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun bayam 8,4 mg/20 gBB
k ₍₅₎	pemberian INH 100 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun bayam 16,8 mg/20 gBB

3.8.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor* L.)

Daun bayam yang dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan oven. Kemudian dihaluskan menggunakan *slep* hingga menjadi serbuk halus.

Selanjutnya serbuk daun bayam sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam maserator, setelah itu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 750 mL (dengan perbandingan 1:7,5 untuk mendapatkan hasil yang optimal), didiamkan 72 jam. Setelah itu dilakukan penampungan filtrat dengan menyaring ampasnya. Ampas dapat disimpan dan dimaserasi ulang (diulangi maksimal 3 kali). Cara maserasi dengan merendamnya menggunakan etanol 96% dan diaduk selama 2-3 menit. Setelah filtrat didapatkan maka dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga pelarut etanol 96% menguap dan didapatkan hasil ekstrak semi kental etanol daun bayam (Al-Dosari, 2010). Dokumentasi pembuatan ekstrak etanol daun bayam dapat dilihat pada Lampiran 3.6.

3.8.5 Penginduksian INH

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dong *et al.* (2014), dosis INH yang digunakan pada mencit untuk menyebabkan hepatotoksik adalah 100 mg/KgBB/hari yang dilarutkan dengan NS dan diberikan per oral satu kali sehari selama 10 hari.

3.8.6 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bayam (*Amaranthus tricolor L.*)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Al-Dosari (2010), pemberian ekstrak etanol daun bayam sebanyak 250 mg/KgBB/hari dan 500 mg/KgBB/hari mempunyai efek hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi CCl₄. Pada penelitian ini menggunakan rentang dosis di antara 250 mg/KgBB/hari dan 500 mg/KgBB/hari, yaitu 37,5 mg/KgBB/hari, 75 mg/KgBB/hari, 150 mg/KgBB/hari, 300 mg/KgBB/hari, dan 600 mg/KgBB/hari. Jika berat badan tikus 200 gram diberikan dosis 37,5 mg/KgBB/hari, maka ekstrak etanol daun bayam yang diberikan adalah 7,5 mg. Faktor konversi tikus dengan berat badan 200 gram ke mencit dengan berat badan 20 gram menurut Ngatidjan (1991) adalah 0,14 yang dapat dilihat pada Lampiran 3.7.

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk mencit} &= 7.5 \times 0,14 / 20 \text{ gBB mencit} \\ &= 1,05 \text{ mg}/20 \text{ gBB mencit}\end{aligned}$$

Jadi, penelitian ini diberikan dosis ekstrak etanol daun bayam sebanyak 1,05 mg/20 gBB, 2,1 mg/20 gBB, 4,2 mg/20 gBB, 8,4 mg/20 gBB, dan 16,8 mg/20 gBB per oral setelah adaptasi selama 10 hari pada masing-masing kelompok. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dong *et al.* (2014) pemberian ekstrak diberikan 2 jam setelah pemberian INH, maka dari itu pemberian ekstrak etanol daun bayam pada penelitian ini diberikan 2 jam setelah pemberian INH.

3.8.7 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT

Pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT dilakukan setelah proses terminasi pada semua sampel. Selanjutnya dilakukan pengambilan darah mencit melalui jantung sebanyak ± 1 mL dan ditempatkan pada tabung eppendorf. Tabung eppendorf dibiarkan dalam suhu ruangan, kemudian dimasukkan ke dalam *sentrifuge* selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm untuk mendapatkan serum. Kadar SGOT dan SGPT dihitung dengan menggunakan reagen DIALAB. Metode yang digunakan adalah metode IFCC menggunakan spektrofotometer (Wagner, 2006).

Reagen DIALAB dipanaskan pada suhu 37°C terlebih dahulu sebelum digunakan. Serum sebanyak 100 μ L ditambahkan reagen DIALAB sebanyak 1000 μ L ditempatkan pada tabung reaksi kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks dan dipindahkan pada *cuvet* untuk dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 365 nm. Pembacaan absorbansi dilakukan 3 kali dengan jarak 1 menit. Waktu berjalan dihitung saat serum dan reagen dicampur karena telah terjadi reaksi enzimatik. Dari ketiga absorbansinya didapatkan rata-rata beda absorbansi per menit ($\Delta A/\text{min}$) dan dikalikan dengan faktor sesuai dengan panjang gelombang yang digunakan yaitu 3235 (Wagner, 2006). Dokumentasi pemeriksaan SGOT dan SGPT dapat dilihat pada Lampiran 3.8.

3.9 Analisis Data

Seluruh data dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji *One*

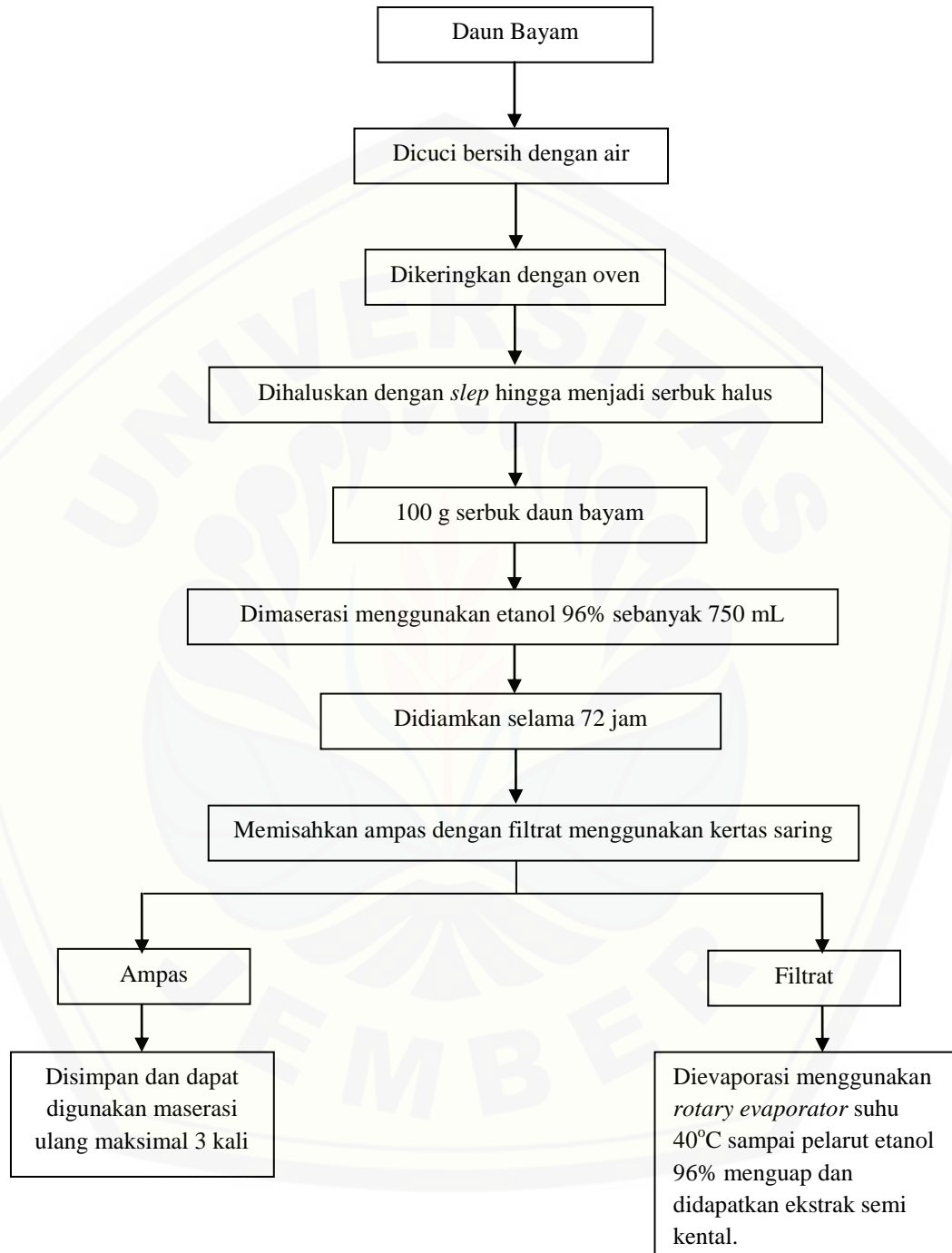
Way Annova karena jumlah perlakuan lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji tersebut, harus memenuhi syarat normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50 dan homogenitas dengan uji *Levene*. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji *One Way Annova*. Apabila tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya distribusi normal dan homogen. Apabila data hasil transformasi tidak terdistribusi normal dan homogen, maka alternatifnya dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Apabila uji *One way Annova* dan uji *Kruskal-Wallis* menghasilkan $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc* (Dahlan, 2014).

3.10 Uji Kelayakan Etik

Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada tanggal 12 Oktober 2016. Gambar persetujuan etik penelitian dapat dilihat pada Lampiran 3.9.

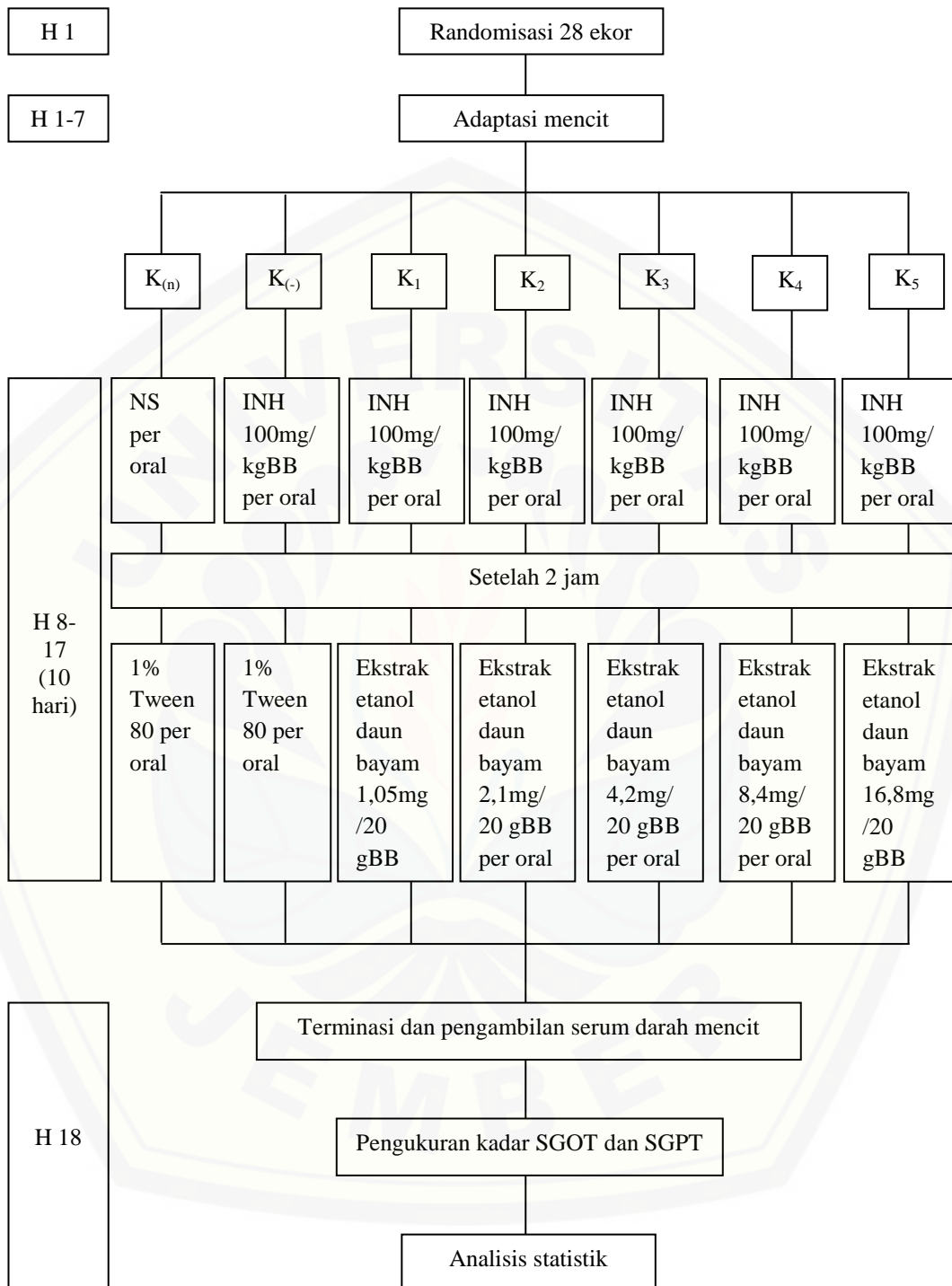
3.11 Alur Penelitian

3.11.1 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun bayam

3.11.2 Skema Perlakuan terhadap Hewan Coba



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa terdapat efek hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada mencit yang diinduksi isoniazid.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, peneliti memberikan saran sebagai berikut.

- a. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan mengambil flavonoid sebagai isolat zat aktif daun bayam sebagai hepatoprotektor, terutama rutin dan katekin.
- b. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam pada mencit yang diinduksi isoniazid dengan menilai kadar antioksidan endogen seperti katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), dan glutation (GSH).
- c. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam pada mencit yang diinduksi kombinasi obat anti tuberkulosis seperti isoniazid-rifampisin dan isoniazid-rifampisin-pirazinamid.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dosari, M. S. 2010. The effectiveness of ethanolic extract of *Amaranthus tricolor* L.: A natural hepatoprotective agent. *The American Journal of Chinese Medicine*. 38(6): 1052–1062.
- Amornrit, W. dan R. Santiyant. 2015. Effect of *Amaranthus* on advanced glycation end-products induced cytotoxicity and proinflammatory cytokine gene expression in SH-SY5Y cells. *Molecules*. 20: 17295-17305.
- Bastiansyah, E. 2008. *Panduan Lengkap: Membaca Hasil Tes Kesehatan*. Jakarta: Penebar Plus.
- Bayupurnama, P. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam: Hepatotoksisitas Imbas Obat*. Jilid 1. Edisi 4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Chughlay, M. F., M. Blockman, dan K. Cohen. 2015. A clinical approach to drug induced liver injury. *Current Allergy and Clinical Immunology Review Article*. 28(4): 253.
- Dahlan, M. S. 2014. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 6. Jakarta: Salemba Medika.
- Dalimartha, S. 2005. *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Jakarta: Puspa Sehat.
- Danan, G. dan C. Benichou. 1993. Causality assessment of adverse reactions to drugs: A novel method based on the conclusion of international consensus meetings: Application to Drug Induced Liver Injuries. *Journal of Clinical Epidemiology*. 46: 1323-1330.
- Dienstag, L. J. dan K. J. Isselbacher. 2005. *Harrison Principle of Internal Medicine: Toxic and Drug Induced Hepatitis*. Edisi 16. Singapura: McGraw Hill.
- Donald, P. R. dan P. D. Helden. 2011. *Antituberculosis Chemotherapy*. Switzerland: Karger.
- Dong, Y., J. Huang, X. Lin, S. Zhang, Y. Jiao, T. Liang, Z. Chen, dan R. Huang. 2014. Hepatoprotective Effects of yulangan polysaccharide against isoniazid and rifampicin-induced liver injury in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 152: 202.
- Elrouf, M. B. A., M. Amanullah, dan G. S. Zaman. 2014. Interference of hemolysis in the estimation of plasma aspartate aminotransferase,

- potassium, and phosphate. *Journal of Investigational Biochemistry*. 1(1): 12-16.
- Fontana, R. J. 2008. Acute liver failure due to drugs. *Seminars in Liver Disease*. 28(2): 175-187.
- Food and Drug Administration. 2009. Guidance for industry drug-induced liver injury: Premarketing Clinical Evaluation. *U.S. Department Human and Health Service*.
- Gentil M. I. P. 2015. Mouse Biometodology. <http://research.utsa.edu/wp-content/uploads/2015/02/Mousebiomethodologyhandouts.pdf>. [Diakses pada 9 Mei 2016].
- Ghasemzadeh, A., M. Azarifar, O. Soroodi, dan H. Z. E. Jaafar. 2012. Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(13): 2639-2643.
- Grubben, G. J. H. dan O. A. Denton. 2006. *Vegetables*. Netherland: Prota.
- Harvey, R. A. dan D. R. Ferrier. 2011. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. Edisi 5. Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Heidari, R., H. Babaei, dan M. A. Eghbal. 2013. Cytoprotective effects of taurine against toxicity induced by isoniazid and hydrazine in isolated rat hepatocytes. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 64: 207.
- Hsu, C. Y., P. Y. Chao, S. P. Hu, dan C. M. Yang. 2013. The antioxidant and free radical scavenging activities of chlorophylls and pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*. 4: 5.
- Huang, X. J., Y. K. Choi, H. S. Im, O. Yarimaga, E. Yoon, dan H. S. Kim. 2006. Aspartate aminotransferase (AST/ GOT) and alanine aminotransferase (ALT/ GPT) detection techniques. *Sensors*. 6: 756-757.
- Istiantoro, Y. H. dan R. Setiabudy. 2007. *Farmakologi dan Terapi: Tuberkulostatik dan Leprostatik*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kanda, K., K. Sugama, J. Sakuma, Y. Kawakami, dan K. Suzuki. 2014. Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. *Executive Intelligence Review*. 20: 39-54.

- Katose D. M., S. S. Katyare, M. V. Hegde, dan H. Bae. 2015. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*. 11(8): 982-991.
- Kee, J. L. dan E. R. Hayes. 1996. *Pharmacology: A Nursing Process Approach*. US: Saunders. Terjemahan oleh P. Anugerah. 1996. *Farmakologi: Pendekatan Proses Keperawatan*. Jakarta: EGC.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Pedoman Gizi Seimbang*. Jakarta: Peraturan Menkes RI.
- Kikuzaki, H., M. Hisamoto, K. Hirose, K. Akiyama, dan H. Taniguchi. 2002. Antioxidants properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. 50: 2161-2168.
- Kumar, S. dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and biological of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*. 162750: 5-6.
- Lee, W. M. 2003. Drug induced hepatotoxicity. *The New England Journal of Medicine*. 349: 474-485.
- Lindseth, G. N. 2005. *Patofisiologi Konsep Klinis Prose-proses Penyakit: Gangguan Hati, Kandung Empedu, dan Pankreas*. Jilid 1. Edisi 6. Jakarta: EGC.
- McDowell, L. R., N. Wilkinson, R. Madison, dan T. Felix. 2007. Vitamins and minerals functioning as antioxidants with supplementation considerations. *Florida Ruminant Nutrition Symposium*. 3-5.
- Mueller, L. dan V. Boehm. 2011. Antioxidant activity of β -carotene compounds in different *in vitro* assays. *Molecules*. 16: 1055-1069.
- Murray, R. K. 2009. *Biokimia Harper: Metabolisme Xenobiotik*. Edisi 27. Jakarta: EGC.
- Navarro V. J. dan J. R. Senior. 2006. Drug related hepatotoxicity. *The New England Journal of Medicine*. 354: 731-739.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk Laboratorium: Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Yogyakarta: FK UGM.
- Noori, M., M. Talebi, dan Z. Nasiri. 2015. Seven *Amaranthus L.* (*Amaranthaceae*) taxa flavonoid compounds from Tehran Province, Iran. *International Journal of Modern Botany*. 5(1): 9-17.

- Ostapowicz, G., R. J. Fontana, dan F. V. Schiodt. 2002. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of Internal Medicine*. 137: 947-954.
- Rajalakhsmi, K., T. E. Haribabu, dan P. N. Sudha. 2011. Toxicokinetic studies of antioxidants of *Amaranthus tricolor* L. and marigold (*Calendula officinalis* L.) plants exposed to heavy metal lead. *International Journal of Plant, Animal, and Environmental Science*. 2: 107.
- Ramappa, V. dan G. P. Aithal. 2012. Hepatotoxicity related to anti-tuberculosis drugs: Mechanisms and management. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 3: 37-49.
- Rukmana, R. 1994. *Bayam Bertanam & Pengolahan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saparinto, C. 2013. *Grown Your Own Vegetables – Panduan Praktis Menanam Sayuran Konsumsi Populer di Pekarangan*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Saukkonen, J. J., D. L. Cohn, R. M. Jasmer, S. Schenker, J. A. Jereb, C. M. Nolan, C. A. Peloquin, F. M. Gordin, D. Nunes, D. B. Strader, J. Bernardo, R. Venkataramanan, dan T. R. Sterling. 2006. An official ATS statement: Hepatotoxicity of antituberculosis therapy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 174: 935-952.
- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia*. Jakarta: EGC.
- Spratto, G. R. dan A. L. Woods. 2012. *Drug Handbook*. USA: Delmar Cengage Learning.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sumardjo, D. 2008. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.
- Teixeira, R. L. F., M. Q. P. Lopes, P. N. Suffys, dan A. R. Santos. 2013. Tuberculosis Pharmacogenetics: State of The Art. <http://www.intechopen.com/books/tuberculosis-current-issues-in-diagnosis-and-management/tuberculosis-pharmacogenetics-state-of-the-art>. [Diakses pada 28 April 2016].
- Wagner, M. 2006. GOT (AST) Glutamate Oxaloacetate Transaminase and GPT (ALT) Glutamate Pyruvate Transaminase Modified IFCC. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 4: 1-4.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Perhitungan Dosis

a. Dosis Isoniazid 100 mg/kgBB/hari

Berat badan hewan coba pada penelitian ini adalah 20-30 gram. Jika berat badan 30 gram, maka pemberian isoniazid adalah

$$100 \text{ mg} \times 0,03 \text{ kg} = 3 \text{ mg}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$3 \text{ gram} \times 4 \text{ mencit} = 12 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam normal salin. Jika berat badan 30 gram, maka volume penyondean adalah 0,3 mL. Jadi, 3 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan pemberian isoniazid masing-masing mencit sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

b. Dosis Ekstrak Etanol Daun Bayam 1,05 mg/20 gBB/hari

Berat badan hewan coba pada penelitian ini adalah 20-30 gram. Jika berat badan 30 gram, maka pemberian ekstrak adalah

$$\frac{1,05 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} = \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ gram}}$$

$$x = 1,575 \text{ mg}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$1,575 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 6,3 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam 1% Tween 80. Jika berat badan 30 gram, maka volume penyondean adalah 0,3 mL. Jadi, 6,3 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan pemberian ekstrak pada masing-masing mencit sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

c. Dosis Ekstrak Etanol Daun Bayam 2,1 mg/20 gBB/hari

Berat badan hewan coba pada penelitian ini adalah 20-30 gram. Jika berat badan 30 gram, maka pemberian ekstrak adalah

$$\frac{2,1 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} = \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ gram}}$$

$$x = 3,15 \text{ mg}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$3,15 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 12,60 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam 1% Tween 80. Jika berat badan 30 gram, maka volume penyondean adalah 0,3 mL. Jadi, 12,60 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan pemberian ekstrak pada masing-masing mencit sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

d. Dosis Ekstrak Etanol Daun Bayam 4,2 mg/20 gBB/hari

Berat badan hewan coba pada penelitian ini adalah 20-30 gram. Jika berat badan 30 gram, maka pemberian ekstrak adalah

$$\frac{4,2 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} = \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ gram}}$$

$$x = 6,30 \text{ mg}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$6,30 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 25,20 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam 1% Tween 80. Jika berat badan 30 gram, maka volume penyondean adalah 0,3 mL. Jadi, 25,20 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan ekstrak pada masing-masing mencit sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

e. Dosis Ekstrak Etanol Daun Bayam 8,4 mg/20 gBB/hari

Berat badan hewan coba pada penelitian ini adalah 20-30 gram. Jika berat badan 30 gram, maka pemberian ekstrak adalah

$$\frac{8,4 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} = \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ gram}}$$

$$x = 12,60 \text{ mg}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$12,60 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 50,40 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam 1% Tween 80. Jika berat badan 30 gram, maka volume penyondean adalah 0,3 mL. Jadi, 50,40 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan pemberian ekstrak pada masing-masing mencit sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

f. Dosis Ekstrak Etanol Daun Bayam 16,8 mg/20 gBB/hari

Berat badan hewan coba pada penelitian ini adalah 20-30 gram. Jika berat badan 30 gram, maka pemberian ekstrak adalah

$$\frac{16,8 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} = \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ gram}}$$

$$x = 25,20 \text{ mg}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$25,20 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 100,8 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam 1% Tween 80. Jika berat badan 30 gram, maka volume penyondean adalah 0,3 mL. Jadi, 100,8 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan pemberian ekstrak pada masing-masing mencit sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

Lampiran 3.2 Volume Penyondean Berdasarkan Berat Badan Hewan Coba

Kelompok	Sampel	Berat badan (gram)	Volume penyondean (mL)
K _(n)	1	20	0,20
	2	22	0,22
	3	23,05	0,23
	4	20,11	0,20
K ₍₋₎	1	23,5	0,24
	2	22,2	0,22
	3	20,36	0,21
	4	22,56	0,23
K ₍₁₎	1	25,24	0,25
	2	29,97	0,30
	3	26,92	0,27
	4	24,78	0,25
K ₍₂₎	1	20,64	0,21
	2	23,61	0,24
	3	25,52	0,26
	4	24,56	0,25
K ₍₃₎	1	24,27	0,24
	2	25,50	0,26
	3	22,98	0,23
	4	25,22	0,25
K ₍₄₎	1	24,19	0,24
	2	25,69	0,26
	3	23,39	0,23
	4	27,04	0,27
K ₍₅₎	1	23,42	0,23
	2	29,97	0,30
	3	24,24	0,24
	4	24,85	0,25

Lampiran 3.3 Tabel Daftar Volume Maksimal Pemberian Larutan yang Dapat Diberikan pada Hewan Coba

Jenis Hewan	Volume Maksimal (mL) sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
mencit (20-30 gr)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
tikus (100 gr)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
marmut (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

i.v : intravena

i.m : intramuscular

i.p : intraperitoneal

s.c : subcutan

p.o : per oral

Sumber: Suhardjono (1994)

Lampiran 3.4 Identifikasi Tanaman

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
No. 2609./UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama/NIM : Latifatu C/ 1320101013
Shinta Madyaning W/ 1320101013
Jur./Fak./PT : F. Kedokteran / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :
Amaranthus tricolor L. {Syn.-; Family – Amaranthaceae; Vernacular name – Bayam glatik, Bayam merah (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 4 Oktober 2016

Mengetahui,
Pembantu Dekan I,

Ketua Laboratorium


Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
NIP 195910091986021001


Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

Determined by Fuad Bahrul Ulum, S.Si, M.Sc.

Lampiran 3.5 Dokumentasi Perlakuan Hewan Coba



Adaptasi hewan coba



Pemberian makan pelet, minum air, dan penggantian sekam *ad libitum*



Penyondean isoniazid



Penyondean ekstrak



Terminasi hewan coba



Pengambilan darah dari jantung

Lampiran 3.6 Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam



Daun bayam dikeringkan dengan oven



Daun bayam dihaluskan dengan *slep* untuk mendapatkan serbuk halus



Serbuk halus daun bayam



Serbuk halus daun bayam dimaserasi dengan etanol 96% selama 72 jam



Penyaringan ampas dengan filtrat menggunakan kertas saring



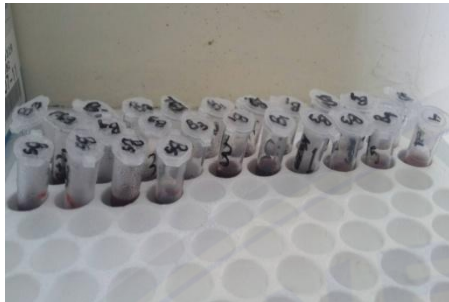
Filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*

Lampiran 3.7 Tabel Konversi Perhitungan Dosis

Dicari Diketahui	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1.5 kg	Kucing 1.5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
marmut 400 g	0,08	0,57	1,00	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
kelinci 1.5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
kucing 1.5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Sumber: Ngatidjan (1991)

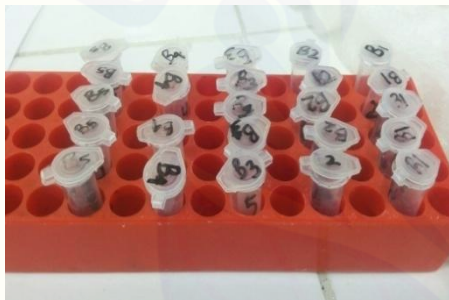
Lampiran 3.8 Dokumentasi Pemeriksaan SGOT dan SGPT



Sampel darah hewan coba



Sentrifuge darah untuk mendapatkan serum



Serum hewan coba



Persiapan reagen SGOT dan SGPT



Reagen dipersiapkan pada suhu 37°C



Spektrofotometer reagen dan serum untuk mendapatkan absorbansi dan kadar

Lampiran 3.9 Persetujuan Etik Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 965 /H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus tricolor L.*) TERHADAP KADAR SGOT DAN SGPT MENCIT YANG DIINDUKSI ISONIAZID

Nama Peneliti Utama : Latifatu Choirunisa (NIM. 132010101013)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 12 Okt 2016

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

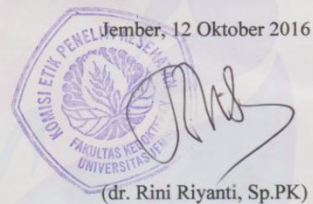

Tanggapan Anggota Komisi Etik

Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lain.

Saran Komisi Etik :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada Pedoman Etik Penelitian Kesehatan.
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan ekstrak etanol daun bayam agar didapatkan kadar yang diinginkan.
- Perlakuan penyodean dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba)
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan SGOT dan SGPT.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Jember, 12 Oktober 2016



(dr. Rini Riyanti, Sp.PK)

Lampiran 4.1 Hasil Pemeriksaan dan Penelitian SGOT dan SGPT

K	S	Abs1	Abs2	Abs3	$\Delta A/\text{min}$	Pengenceran	x faktor (3235) = Kadar SGOT (U/L)	Rata-rata (U/L)
K (n)	1	0,503	0,497	0,493	0,005	5	80,875	99,071875
	2	0,561	0,551	0,546	0,0075	5	121,3125	
	3	0,431	0,424	0,421	0,005	5	80,875	
	4	0,429	0,422	0,415	0,007	5	113,225	
K (-)	1	0,552	0,541	0,533	0,0095	5	153,6625	157,70625
	2	0,466	0,452	0,440	0,013	5	210,275	
	3	0,458	0,449	0,442	0,008	5	129,4	
	4	0,434	0,423	0,417	0,0085	5	137,4875	
K 1	1	0,567	0,539	0,519	0,024	2	155,28	135,87
	2	0,396	0,373	0,355	0,0205	2	132,635	
	3	0,561	0,537	0,520	0,0205	2	132,635	
	4	0,498	0,475	0,460	0,019	2	122,93	
K 2	1	0,577	0,549	0,532	0,0225	2	145,575	131,82625
	2	0,353	0,331	0,316	0,0185	2	119,695	
	3	0,607	0,583	0,565	0,021	2	135,87	
	4	0,707	0,583	0,668	0,0195	2	126,165	
K 3	1	0,449	0,427	0,411	0,019	2	122,93	124,5475
	2	0,378	0,364	0,354	0,012	3	116,46	
	3	0,508	0,485	0,467	0,0205	2	132,635	
	4	0,498	0,483	0,472	0,013	3	126,165	
K 4	1	0,475	0,445	0,425	0,025	2	161,75	117,26875
	2	0,609	0,593	0,582	0,0135	2	87,345	
	3	0,624	0,605	0,590	0,017	2	109,99	
	4	0,595	0,574	0,561	0,017	2	109,99	
K 5	1	0,637	0,614	0,597	0,02	2	129,4	122,93
	2	0,620	0,600	0,586	0,017	2	109,99	
	3	0,676	0,654	0,639	0,0185	2	119,695	
	4	0,695	0,672	0,654	0,0205	2	132,635	

K	S	Abs1	Abs2	Abs3	$\Delta A/\text{min}$	Pengenceran	x faktor (3235) = Kadar SGPT (U/L)	Rata-rata (U/L)
K (n)	1	0,602	0,598	0,596	0,003	5	48,525	56,6125
	2	0,480	0,475	0,473	0,0035	5	56,6125	
	3	0,431	0,427	0,425	0,003	5	48,525	
	4	0,429	0,423	0,420	0,0045	5	72,7875	
K (-)	1	0,372	0,362	0,354	0,009	5	145,575	93,00625
	2	0,609	0,604	0,600	0,0045	5	72,7875	
	3	0,632	0,625	0,621	0,0055	5	88,9625	
	4	0,619	0,614	0,611	0,004	5	64,7	
K 1	1	0,467	0,454	0,438	0,0145	2	93,815	88,9725
	2	0,478	0,463	0,454	0,012	2	77,64	
	3	0,538	0,520	0,511	0,0135	2	87,345	
	4	0,422	0,404	0,392	0,015	2	97,05	
K 2	1	0,553	0,538	0,529	0,012	2	77,64	82,4925
	2	0,495	0,481	0,473	0,011	2	71,17	
	3	0,569	0,551	0,540	0,0145	2	93,815	
	4	0,458	0,442	0,431	0,0135	2	87,345	
K 3	1	0,449	0,434	0,425	0,012	2	77,64	66,3175
	2	0,510	0,499	0,494	0,008	2	51,76	
	3	0,584	0,572	0,568	0,008	3	77,64	
	4	0,429	0,417	0,411	0,009	2	58,23	
K 4	1	0,535	0,527	0,518	0,0085	2	54,995	64,7
	2	0,45	0,437	0,427	0,0115	2	74,405	
	3	0,600	0,596	0,594	0,003	6	58,23	
	4	0,465	0,450	0,443	0,011	2	71,17	
K 5	1	0,598	0,586	0,678	0,01	2	64,7	58,23
	2	1,085	1,078	1,072	0,0065	2	42,055	
	3	0,701	0,691	0,685	0,008	2	51,76	
	4	0,445	0,431	0,422	0,0115	2	74,405	

Keterangan:

$$\Delta A/\text{min} = \frac{(Abs\ 1 - Abs\ 2) + (Abs\ 2 - Abs\ 3)}{2}$$

Lampiran 4.2 Analisis Data

Uji Normalitas SGOT

Tests of Normality							
	Kelompok_OT	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SGOT	Normal	.304	4	.	.811	4	.123
	INH	.294	4	.	.851	4	.230
	Bayam 1	.343	4	.	.875	4	.316
	Bayam 2	.191	4	.	.979	4	.894
	Bayam 3	.155	4	.	.998	4	.995
	Bayam 4	.341	4	.	.877	4	.328
	Bayam 5	.236	4	.	.940	4	.653

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas SGOT

Test of Homogeneity of Variances

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.142	6	21	.091

Uji One Way Annova SGOT

ANOVA

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7768.349	6	1294.725	2.795	.037
Within Groups	9726.789	21	463.180		
Total	17495.138	27			

Analisis *Post Hoc* Uji LSD SGOT

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SGOT

LSD

(I) Kelompok_OT	(J) Kelompok_OT	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	INH	-58.63438*	15.21809	.001	-90.2821	-26.9866
	Bayam 1	-36.79813*	15.21809	.025	-68.4459	-5.1504
	Bayam 2	-32.75438*	15.21809	.043	-64.4021	-1.1066
	Bayam 3	-25.47688	15.21809	.109	-57.1246	6.1709
	Bayam 4	-18.19688	15.21809	.245	-49.8446	13.4509
	Bayam 5	-23.85813	15.21809	.132	-55.5059	7.7896
INH	Normal	58.63438*	15.21809	.001	26.9866	90.2821
	Bayam 1	21.83625	15.21809	.166	-9.8115	53.4840
	Bayam 2	25.88000	15.21809	.104	-5.7677	57.5277
	Bayam 3	33.15750*	15.21809	.041	1.5098	64.8052
	Bayam 4	40.43750*	15.21809	.015	8.7898	72.0852
	Bayam 5	34.77625*	15.21809	.033	3.1285	66.4240
Bayam 1	Normal	36.79813*	15.21809	.025	5.1504	68.4459
	INH	-21.83625	15.21809	.166	-53.4840	9.8115
	Bayam 2	4.04375	15.21809	.793	-27.6040	35.6915
	Bayam 3	11.32125	15.21809	.465	-20.3265	42.9690
	Bayam 4	18.60125	15.21809	.235	-13.0465	50.2490
	Bayam 5	12.94000	15.21809	.405	-18.7077	44.5877
Bayam 2	Normal	32.75438*	15.21809	.043	1.1066	64.4021
	INH	-25.88000	15.21809	.104	-57.5277	5.7677
	Bayam 1	-4.04375	15.21809	.793	-35.6915	27.6040
	Bayam 3	7.27750	15.21809	.637	-24.3702	38.9252
	Bayam 4	14.55750	15.21809	.350	-17.0902	46.2052
	Bayam 5	8.89625	15.21809	.565	-22.7515	40.5440
Bayam 3	Normal	25.47688	15.21809	.109	-6.1709	57.1246
	INH	-33.15750*	15.21809	.041	-64.8052	-1.5098
	Bayam 1	-11.32125	15.21809	.465	-42.9690	20.3265
	Bayam 2	-7.27750	15.21809	.637	-38.9252	24.3702
	Bayam 4	7.28000	15.21809	.637	-24.3677	38.9277
	Bayam 5	1.61875	15.21809	.916	-30.0290	33.2665
Bayam 4	Normal	18.19688	15.21809	.245	-13.4509	49.8446

	INH	-40.4375 [*]	15.21809	.015	-72.0852	-8.7898
	Bayam 1	-18.60125	15.21809	.235	-50.2490	13.0465
	Bayam 2	-14.55750	15.21809	.350	-46.2052	17.0902
	Bayam 3	-7.28000	15.21809	.637	-38.9277	24.3677
	Bayam 5	-5.66125	15.21809	.714	-37.3090	25.9865
	Normal	23.85813	15.21809	.132	-7.7896	55.5059
Bayam 5	INH	-34.77625 [*]	15.21809	.033	-66.4240	-3.1285
	Bayam 1	-12.94000	15.21809	.405	-44.5877	18.7077
	Bayam 2	-8.89625	15.21809	.565	-40.5440	22.7515
	Bayam 3	-1.61875	15.21809	.916	-33.2665	30.0290
	Bayam 4	5.66125	15.21809	.714	-25.9865	37.3090

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Uji Normalitas SGPT

Tests of Normality

	Kelompok_PT	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	normal	.260	4	.	.827	4	.161
	INH	.294	4	.	.851	4	.230
SGPT	Bayam 1	.215	4	.	.945	4	.688
	Bayam 2	.185	4	.	.972	4	.855
	Bayam 3	.302	4	.	.827	4	.161
	Bayam 4	.252	4	.	.882	4	.348
	Bayam 5	.175	4	.	.980	4	.900

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas SGPT

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.475	6	21	.057

Uji One Way Anova SGPT

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5381.366	6	896.894	2.981	.029
Within Groups	6318.905	21	300.900		
Total	11700.272	27			

Analisis Post Hoc Uji LSD SGPT

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SGPT

LSD

(I) Kelompok_PT	(J) Kelompok_PT	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	INH	-36.39313*	12.26581	.007	-61.9013	-10.8850
	Bayam 1	-32.35063*	12.26581	.015	-57.8588	-6.8425
	Bayam 2	-25.87938*	12.26581	.047	-51.3875	-.3712
	Bayam 3	-9.70313	12.26581	.438	-35.2113	15.8050
	Bayam 4	-8.08688	12.26581	.517	-33.5950	17.4213
	Bayam 5	-1.61813	12.26581	.896	-27.1263	23.8900
INH	normal	36.39313*	12.26581	.007	10.8850	61.9013
	Bayam 1	4.04250	12.26581	.745	-21.4657	29.5507
	Bayam 2	10.51375	12.26581	.401	-14.9944	36.0219
	Bayam 3	26.69000*	12.26581	.041	1.1818	52.1982
	Bayam 4	28.30625*	12.26581	.031	2.7981	53.8144
	Bayam 5	34.77500*	12.26581	.010	9.2668	60.2832
Bayam 1	normal	32.35063*	12.26581	.015	6.8425	57.8588
	INH	-4.04250	12.26581	.745	-29.5507	21.4657
	Bayam 2	6.47125	12.26581	.603	-19.0369	31.9794
	Bayam 3	22.64750	12.26581	.079	-2.8607	48.1557
	Bayam 4	24.26375	12.26581	.061	-1.2444	49.7719
	Bayam 5	30.73250*	12.26581	.021	5.2243	56.2407
Bayam 2	normal	25.87938*	12.26581	.047	.3712	51.3875
	INH	-10.51375	12.26581	.401	-36.0219	14.9944
	Bayam 1	-6.47125	12.26581	.603	-31.9794	19.0369

Bayam 3	Bayam 3	16.17625	12.26581	.201	-9.3319	41.6844
	Bayam 4	17.79250	12.26581	.162	-7.7157	43.3007
	Bayam 5	24.26125	12.26581	.061	-1.2469	49.7694
	normal	9.70313	12.26581	.438	-15.8050	35.2113
	INH	-26.69000*	12.26581	.041	-52.1982	-1.1818
	Bayam 1	-22.64750	12.26581	.079	-48.1557	2.8607
	Bayam 2	-16.17625	12.26581	.201	-41.6844	9.3319
	Bayam 4	1.61625	12.26581	.896	-23.8919	27.1244
	Bayam 5	8.08500	12.26581	.517	-17.4232	33.5932
	normal	8.08688	12.26581	.517	-17.4213	33.5950
Bayam 4	INH	-28.30625*	12.26581	.031	-53.8144	-2.7981
	Bayam 1	-24.26375	12.26581	.061	-49.7719	1.2444
	Bayam 2	-17.79250	12.26581	.162	-43.3007	7.7157
	Bayam 3	-1.61625	12.26581	.896	-27.1244	23.8919
	Bayam 5	6.46875	12.26581	.603	-19.0394	31.9769
	normal	1.61813	12.26581	.896	-23.8900	27.1263
	INH	-34.77500*	12.26581	.010	-60.2832	-9.2668
	Bayam 1	-30.73250*	12.26581	.021	-56.2407	-5.2243
	Bayam 2	-24.26125	12.26581	.061	-49.7694	1.2469
	Bayam 3	-8.08500	12.26581	.517	-33.5932	17.4232
Bayam 5	Bayam 4	-6.46875	12.26581	.603	-31.9769	19.0394

*. The mean difference is significant at the 0,05 level.