



**PENGARUH PEMBERIAN NIASIN DAN KAFEIN DALAM  
MODEL MINUMAN BERENERGI TERHADAP  
FISIOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra  
NIM 132010101031**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**PENGARUH PEMBERIAN NIASIN DAN KAFEIN DALAM  
MODEL MINUMAN BERENERGI TERHADAP  
FISIOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

**Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra  
NIM 132010101031**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa / Tuhan Yang Maha Esa;
2. Ayahanda Nyoman Suardana, S.H. dan Ibunda Ir. Nyoman Meidinawati atas kesabaran, doa, semangat, pengorbanan, dan kasih sayang yang selalu diberikan selama ini;
3. Adik-adikku Ngurah Nandha Rama Putra dan Ayu Cantika Amanda yang selalu menjadi saudara dan sahabat terbaik;
4. Guru-guru saya sejak TK sampai PT, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.

**MOTTO**

Hanya bekerja untuk kewajibanmu  
Bukan hasil pekerjaan itu yang kuharapkan  
Bukan hasil perbuatan itu yang menjadi motif dalam bekerja  
Dan jangan pula hanya berdiam diri  
(terjemahan Bhagavad-Gita bab 2 sloka 47)<sup>\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Bhaktivedanta Swami Prabhupada, S. S. A. C. 2014. *Bhagawad-Gita Menurut Aslinya: Jawaban Segala Pertanyaan*. Banten: CV.Hanuman Sakti.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra

NIM :132010101031

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Niasin dan Kafein dalam Model Minuman Berenergi Terhadap Fisiologi Hati Tikus Wistar Jantan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 28 November 2016

Yang menyatakan,

Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra

NIM.132010101031

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMERIAN NIASIN DAN KAFEIN DALAM  
MODEL MINUMAN BERENERGI TERHADAP  
FISIOLOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN**

Oleh

Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra

NIM 132010101031

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Jauhar Firdaus

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Niasin dan Kafein Dalam Model Minuman Berenergi Terhadap Fisiologi Hati Tikus Wistar Jantan” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Jumat, 2 Desember 2016

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

**Tim Penguji**

Ketua,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes  
NIP 19690203 199903 1 001

Anggota II,

Dr.rer.biol.hum dr. Erma Sulistyaningsih, M.Si  
NIP 19770222 200212 2 001

Anggota I,

Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes  
NIP 19740604 200112 2 002

Anggota III,

dr. Jauhar Firdaus  
NIP 19830125 200812 1 001

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

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

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Niasin dan Kafein dalam Model Minuman Berenergi terhadap Fisiologi Hati Tikus Wistar Jantan;** Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra, 132010101031; 2016; 83 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Minuman berenergi adalah minuman non-alkohol berkarbonasi yang dirancang untuk menstimulasi sistem metabolik dan saraf pusat. Salah satu komponen aktif dalam minuman berenergi yaitu niasin dan kafein. Pada penelitian terdahulu, niasin digunakan sebagai obat anti dislipidemia. Seiring penggunaannya yang berlebih, timbul beberapa efek samping salah satunya adalah toksisitas hati. Dalam minuman berenergi juga terdapat kandungan kafein yang dilaporkan memiliki efek hepatoprotektif untuk mencegah kerusakan hati kronis. Kafein dalam minuman berenergi sebenarnya memiliki efek hepatoprotektif, tetapi pada kasus terdahulu dilaporkan terjadi kasus hepatitis akibat sering mengkonsumsi minuman berenergi yang mana juga mengandung niasin. Berdasarkan kasus tersebut, maka peneliti tertarik melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian niasin dan kafein terhadap fisiologi hati tikus wistar jantan.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan pada tikus wistar albino jantan sebanyak 28 tikus yang dibagi menjadi tujuh kelompok secara acak. Pada kelompok A, dosis niasin sebesar 0,36 mg/200 grBB dan dosis kafein sebesar 0,9 mg/200 grBB, setara dengan satu kemasan per hari. Pada kelompok B, dosis niasin sebesar 1,08 mg/ 200 grBB/ hari dan kafein sebesar 2,7 mg/ 200 grBB/hari, setara dengan 3 kemasan/ hari. Pada kelompok C, yaitu dosis niasin sebesar 1,44 mg/ 200 grBB/ hari dan kafein sebesar 3,6 mg/200 grBB/, setara dengan 4 kemasan/ hari. Pada kelompok D, yaitu dosis niasin sebesar 3,6 mg/ 200grBB/ hari dan kafein sebesar



9 mg/ 200grBB/ hari, setara dengan 10 kemasan/hari. Kelompok E diberi niasin dosis toksik sebesar 5,4 mg/ 200 grBB/ hari. Kelompok F diberi kafein dosis maksimum sebesar 9 mg/ 200 grBB/ hari.

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok kontrol didapatkan rata-rata jumlah kadar AST sebesar  $51.23 \pm 8.53$  U/L. Pada kelompok perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berturut-turut memiliki rata-rata kadar AST sebesar  $55.66 \pm 7.84$  U/L,  $61.72 \pm 14.23$  U/L,  $63.97 \pm 20.09$  U/L,  $69.23 \pm 16.40$  U/L,  $57.58 \pm 6.56$  U/L, serta  $41.62 \pm 7.58$  U/L. Rata-rata kadar ALT pada kelompok kontrol memiliki nilai sebesar  $22.70 \pm 5.78$  U/L. Pada kelompok perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berturut-turut memiliki rata-rata kadar ALT sebesar  $24.98 \pm 7.77$  U/L,  $25.70 \pm 6.53$  U/L,  $32.43 \pm 15.53$  U/L,  $36.53 \pm 11.36$  U/L,  $26.98 \pm 15.44$  U/L, serta  $23.09 \pm 9.31$  U/L. Kemudian, rata-rata kadar GGT pada kelompok kontrol memiliki nilai sebesar  $1.31 \pm 0.38$  U/L. Pada kelompok perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berturut-turut memiliki rata-rata kadar GGT sebesar  $1.64 \pm 0.654$  U/L,  $1.64 \pm 0.654$  U/L,  $1.96 \pm 0.756$  U/L,  $2.62 \pm 0.654$  U/L,  $3.60 \pm 0.654$  U/L, serta  $1.64 \pm 0.654$  U/L. Data kadar AST dan ALT dianalisis dengan uji korelasi *Pearson* menghasilkan korelasi yang tidak bermakna yaitu kadar AST ( $p = 0,345$ ) dan kadar ALT ( $p = 0,335$ ). Kadar GGT dianalisis dengan uji korelasi *Spearman* menghasilkan korelasi yang bermakna yaitu kadar GGT ( $p = 0,000$ ) dengan kekuatan korelasi kuat ( $r = 0,765$ ). Uji regresi dilakukan pada kadar GGT dikarenakan memenuhi syarat. Hasil yang didapatkan yaitu dosis niasin dan kafein yang dapat meningkatkan kadar GGT yaitu niasin lebih dari sama dengan  $0,491$  mg/200grBB/hari dan kafein lebih dari sama dengan  $1,2275$  mg/200grBB/ hari.

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian niasin dan kafein dengan peningkatan kadar GGT, tetapi tidak terdapat pengaruh yang signifikan terhadap kadar AST dan ALT. Kemudian, dosis yang dapat menimbulkan gangguan fisiologi hati berupa peningkatan kadar GGT yaitu pemberian niasin 60 mg/hari dan kafein 150 mg/hari yang setara dengan tiga kemasan per hari.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Ida Sang Hyang Widhi Wasa/Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Niasin dan Kafein Dalam Model Minuman Berenergi Terhadap Fisiologi Hati Tikus Wistar Jantan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Muh. Ihwan Narwanto, M.Sc dan dr. Cicih Komariah, Sp.M selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing saya selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Dr. rer. biol. hum. dr. Erma Sulistyarningsih, M,Si selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Jauhar Firdaus selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
4. Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes selaku Dosen Penguji I dan Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya untuk menguji skripsi ini;
5. dr. Ancah Caesarina N. M, Ph.D, selaku koordinator KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
6. Ayahanda Nyoman Suardana, S.H. dan Ibunda Ir. Nyoman Meidinawati atas kesabaran, doa, semangat, pengorbanan, dan kasih sayang yang selalu diberikan selama ini;
7. Adik-adikku Ngurah Nandha Rama Putra dan Ayu Cantika Amanda yang selalu menjadi saudara dan sahabat terbaik;

8. Guru-guru saya sejak TK sampai PT, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
9. Teman-teman angkatan 2013 “Vesalius” yang sudah menjadi teman seperjuangan selama pendidikan;
10. Teman-teman pejuang Program Kreativitas Mahasiswa 2015-2016 yaitu Fuad Adi Prasetyo, Anindita Dyah Sekartaji, Asis Fitriana, dan Hazmi Dwinanda;
11. Mentor sekaligus kakak kos selama pendidikan yaitu Aditya Artha Febiyanto, Bagus Putra D. K, I Gede Mahendra, Yasin Abdullah, dan Dedi Candra;
12. Rekan-rekan kos 007 yaitu Rakhmat Ramadhani, Diko Valentino, Galih Muchlis, Bobby Gunawan, Pudyono Kriswardani;
13. Rekan-rekan ngopi bareng tombo luwe yaitu Ilham Ardli, Fakhri Ali, Roni Handoyo, Buyung Muslimin;
14. Kakak sepupu saya yang sudah setia membimbing saya selama pendidikan di Jember Ayu Waica Pratiwi;
15. Teman teman dari Bali selama menempuh pendidikan, Ni Nyoman Yuniasih, Nyoman Defriyana Suwandi, I Nyoman Kurniawan Agratama, T. Ariani Widiastini, dan Ni Made Trismarani Sultradewi Kesuma;
16. Teman-teman kelompok KKN 011;
17. Orang-orang terkasih dan anak-anakku kelak di kemudian hari.
18. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

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

Jember, November 2016

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Minuman Berenergi</b> .....	4
2.1.1 Niasin .....	5
2.1.2 Kafein .....	7
<b>2.2 Hati</b> .....	9
2.2.1 Anatomi Hati .....	9
2.2.2 Histologi Hati.....	10

2.2.3 Fisiologi Hati .....	12
2.2.4 Kerusakan Sel Hati .....	15
<b>2.3 Uji Fisiologi Hati pada Gangguan Hati .....</b>	<b>16</b>
2.3.1 Pemeriksaan Fungsi Ekskresi dan Detoksifikasi .....	17
2.3.2 Pemeriksaan Fungsi Biosintesis Hati.....	19
2.3.3 Pemeriksaan Faktor Koagulasi Hati .....	20
<b>2.4 Kerangka Konseptual Penelitian.....</b>	<b>21</b>
<b>2.5 Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3 Populasi dan Sampel Penelitian .....</b>	<b>23</b>
3.3.1 Populasi Penelitian.....	23
3.3.2 Besar Sampel .....	23
<b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.4.1 Variabel Bebas.....	24
3.4.2 Variabel Terikat .....	24
3.4.3 Variabel Terkendali .....	24
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>25</b>
3.5.1 Larutan Niasin dan Kafein.....	25
3.5.2 Alanin Aminotransferase (ALT).....	25
3.5.3 Aspartat Aminotransferase (AST).....	25
3.5.4 Gamma-Glutamil Transferase (GGT).....	26
<b>3.6 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan .....</b>	<b>27</b>
<b>3.8 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>28</b>
3.8.1 Pemilihan Sampel Hewan Coba .....	28
3.8.2 Persiapan dan Preparasi Hewan Coba .....	28
3.8.3 Pembuatan Model Minuman Berenergi .....	28

3.8.4 Penentuan Dosis .....	29
3.8.5 Pemberian Model Minuman Berenergi pada Hewan Coba .....	30
3.8.6 Pemeriksaan AST .....	30
3.8.7 Pemeriksaan ALT .....	31
3.8.8 Pemeriksaan GGT .....	31
<b>3.9 Uji Kelayakan Etik .....</b>	<b>32</b>
<b>3.10 Analisis Data.....</b>	<b>32</b>
<b>3.11 Alur Kerja Penelitian .....</b>	<b>33</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>34</b>
4.1.1 Hasil Kadar AST .....	34
4.1.2 Hasil Kadar ALT .....	35
4.1.3 Hasil Kadar GGT.....	36
<b>4.2 Analisis Hasil Penelitian .....</b>	<b>37</b>
4.2.1 Analisis Data Kadar AST .....	37
4.2.2 Analisis Data Kadar ALT .....	38
4.2.3 Analisis Data Kadar GGT .....	39
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	<b>41</b>
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>47</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>54</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Hasil uji normalitas kadar AST .....	37
4.2 Hasil analisis korelasi <i>pearson</i> kadar AST .....	38
4.3 Hasil uji normalitas kadar ALT.....	38
4.4 Hasil analisis korelasi <i>pearson</i> kadar ALT .....	39
4.5 Hasil uji normalitas kadar GGT .....	39
4.6 Hasil analisis korelasi <i>sperman</i> kadar GGT.....	40
4.7 Hasil analisis uji <i>mann whitney</i> kadar GGT antara kelompok kontrol dan kelompok F.....	41

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Mekanisme niasin menyebabkan hepatotoksik .....	7
2.2 Sistem asinus hati dan lobulus hati .....	12
2.3 Macam-macam uji fisiologi hati .....	14
4.1 Grafik rata-rata kadar AST.....	34
4.2 Grafik rata-rata kadar ALT .....	35
4.3 Grafik rata-rata kadar GGT .....	36



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Perijinan Komisi Etik.....	57
3.2 Tabel Daftar Volume Maksimal Larutan yang Dapat Diberikan pada Hewan Coba.....	59
3.3 Tabel Konversi Dosis.....	60
4.1 Cara Pembuatan dan Penghitungan Dosis Model Minuman Berenergi.....	61
4.2 Hasil dan Penghitungan Penelitian.....	64
4.3 Analisis Statistik Bivariat.....	68
4.4 Analisis Statistik Multivariat.....	81
4.5 Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	84

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Minuman berenergi adalah minuman non-alkohol berkarbonasi yang dirancang untuk menstimulasi sistem metabolik dan saraf pusat sehingga, dapat memengaruhi performa fisik dan mental saat melakukan aktivitas. Salah satu komponen aktif dalam minuman berenergi yaitu niasin dan kafein (Heckman *et al.*, 2010). Saat ini penjualan minuman berenergi telah semakin marak, luas, dan beraneka ragam di pasaran terutama di wilayah perkotaan. Sebagian besar minuman berenergi terutama dikonsumsi sebagai *energy booster* oleh para pekerja yang melakukan aktivitas berat, lama, dan butuh konsentrasi tinggi seperti pegawai kantor, buruh pabrik, maupun mahasiswa.

Minuman yang dapat menstimulasi sistem saraf dan metabolik ini ternyata mempunyai sifat hepatotoksik pada sel hati. Menurut laporan *Daily Mail*, salah satu harian di Inggris, pada tahun 2011 terdapat seorang wanita mengalami hepatitis akut akibat mengonsumsi minuman berenergi setiap hari selama dua minggu. Pada tahun yang sama terdapat laporan seorang laki-laki berusia 16 tahun yang mengalami hepatitis untuk pertama kalinya setelah mengonsumsi 15 botol minuman berenergi selama tiga hari (Apestegui *et al.*, 2011). Laporan kasus lainnya adalah seorang wanita usia 22 tahun yang datang dengan keluhan hepatotoksik meliputi *jaundice*, sakit perut, serta peningkatan serum transaminase hati setelah mengonsumsi minuman berenergi secara berlebihan (Vivekanandarajah *et al.*, 2011). Adapun untuk kasus di Indonesia, laporan tentang efek hepatotoksik minuman berenergi dalam bentuk jurnal maupun *case report* masih sangat sedikit. Hanya terdapat sebuah artikel yang menunjukkan efek samping salah satu komponen dalam minuman berenergi yaitu yang ditulis oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tentang efek samping kafein.

Sampai saat ini, belum ada penelitian lebih lanjut mengenai efek komposisi lain dari minuman berenergi (BPOM, 2006).

Salah satu kandungan penting dalam minuman berenergi adalah niasin. Niasin (vitamin B3) sebagai salah satu vitamin B kompleks yang terdapat dalam minuman berenergi – selain vitamin B6 dan B12 – memiliki kadar paling tinggi (Forbes *et al.*, 2007; Khayyat *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian terdahulu, niasin digunakan sebagai obat anti dislipidemia, sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, *low density lipoprotein* (LDL), dan *very low density lipoprotein* (VLDL) serta meningkatkan kadar *high density lipoprotein* (HDL). Seiring penggunaannya yang berlebihan, timbul beberapa efek samping diantaranya kemerahan, ruam, hipotensi, pusing, serta toksisitas hati maupun gastrointestinal. Adanya efek hepatotoksitas dapat diketahui dengan peningkatan kadar serum enzim hati, tetapi beratnya hepatotoksitas dapat diketahui apabila terjadi gagal hati akut (MacKay *et al.*, 2012).

Kandungan penting lain sebagai bahan aktif dalam minuman berenergi adalah kafein. Kafein bermanfaat menstimulasi sistem saraf pusat dengan cara memblok reseptor adenosin. Kandungan kafein dalam minuman berenergi dilaporkan memiliki efek hepatoprotektif sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat mencegah apoptosis maupun nekrosis hepatosit. Kafein juga memiliki efek antifibrogenik yang dapat menghambat perkembangan fibrosis hati yang ditunjukkan dengan penurunan kadar *alanin aminotransferase* (ALT) (Lv *et al.*, 2010; Furtado *et al.*, 2012; Arauz *et al.*, 2013).

Banyaknya kasus *overdose* minuman berenergi sangat dikaitkan dengan kandungan niasin dalam dosis tinggi yang memiliki efek hepatotoksik dengan manifestasi berupa kenaikan enzim aminotransferase ringan sampai sedang dan perubahan histopatologi sel-sel hati (Summers, 2014; Apestegui *et al.*, 2011; Mackay *et al.*, 2012). Berdasarkan laporan kasus oleh Vivekanandarajah *et al.* (2011), kasus hepatitis yang terjadi dikaitkan dengan intensitas konsumsi minuman berenergi dengan kandungan niasin sebesar 30 mg per kemasannya.

Beberapa kasus tersebut menjadi pertimbangan bagi penulis untuk melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Niasin dan Kafein dalam Model Minuman Berenergi terhadap Fisiologi Hati Tikus Wistar Jantan”.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis merumuskan masalah yang akan dibahas sebagai berikut.

1. Bagaimana pengaruh induksi niasin dan kafein terhadap fisiologi hati?
2. Berapa dosis niasin dan kafein dalam minuman berenergi yang dapat menimbulkan gangguan fisiologi hati?

## **1.3 Tujuan**

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh induksi niasin dan kafein terhadap fisiologi hati. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis niasin dan kafein dalam minuman berenergi yang dapat menimbulkan gangguan fisiologi hati.

## **1.4 Manfaat**

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi berbagai pihak antara lain.

1. Bagi peneliti, karya tulis ini dapat dijadikan landasan teori dan sebagai dasar pengembangan penelitian selanjutnya khususnya dalam bidang kesehatan.
2. Bagi pemerintah, karya tulis ini dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dan rekomendasi dalam konsumsi minuman berenergi demi terciptanya kesehatan bagi masyarakat.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Minuman Berenergi

Minuman berenergi adalah minuman non-alkohol berkarbonasi yang dirancang untuk memberikan energi bagi konsumen. Minuman berenergi mengandung kafein, stimulan berbasis herbal (ekstrak ginseng, ekstrak *Ginkgo biloba*, ekstrak guarana), gula sederhana (glukosa, fruktosa), asam amino (taurin, karnitin, kreatin), maltodekstrin, inositol, glukuronolakton dan vitamin B kompleks (niasin, asam pantotenat, piridoksin, riboflavin, inositol, dan kobalamin) (Khayyat *et al.*, 2012). Minuman ini banyak dan sering dikonsumsi masyarakat untuk berbagai alasan seperti melawan rasa kantuk, meningkatkan memori, serta untuk menstimulasi sistem metabolik dan sistem saraf pusat (Heckman *et al.*, 2010). Para pekerja yang membutuhkan konsentrasi penuh seperti supir truk, supir bus, pekerja buruh paling sering mengonsumsi minuman ini dikarenakan pekerjaan tersebut rentan dengan kelelahan.

Penelitian yang mengkaji manfaat minuman berenergi mengatakan bahwa minuman berenergi dibandingkan plasebo memberikan efek peningkatan energi pada kelompok subjek berumur 18 sampai 55 tahun (Doherty dan Smith, 2004). Penelitian terbaru juga menyebutkan bahwa konsumsi 3 mg/kgBB kafein dalam bentuk minuman berenergi akan meningkatkan performa fisik pemain voli wanita (Perez-Lopez *et al.*, 2014; Alsunni, 2015). Sebuah studi *randomized, double blind, crossover* meneliti fungsi kognitif dan keadaan *mood* setelah mengonsumsi minuman berenergi pada 94 subjek. Hasil menunjukkan bahwa pada sebagian subjek yang mengonsumsi minuman berenergi didapatkan fungsi kognitif dan suasana *mood* yang membaik secara signifikan, sedangkan kelompok plasebo tidak mendapatkan efek yang signifikan (Wesnes *et al.*, 2013; Alsunni, 2015). Efek lain dari minuman berenergi adalah dapat meningkatkan nilai *aspartat aminotransferase* (AST), *alanin aminotransferase* (ALT), *alkali fosfatase* (ALP),

*laktat dehidrogenase* (LDH), serta *gamma-glutamyltransferase* (GGT), yang merupakan enzim fungsional hati dalam serum. Konsumsi jangka panjang dapat mempengaruhi gambaran pada biopsi hati seperti nekrosis sentrolobular, inflamasi portal, dan gejala minor kolangitis (Khayyat *et al.*, 2012; Akande dan Banjoko, 2011; Vivekanandarajah *et al.*, 2011; Apestegui *et al.*, 2011).

### 2.1.1 Niasin

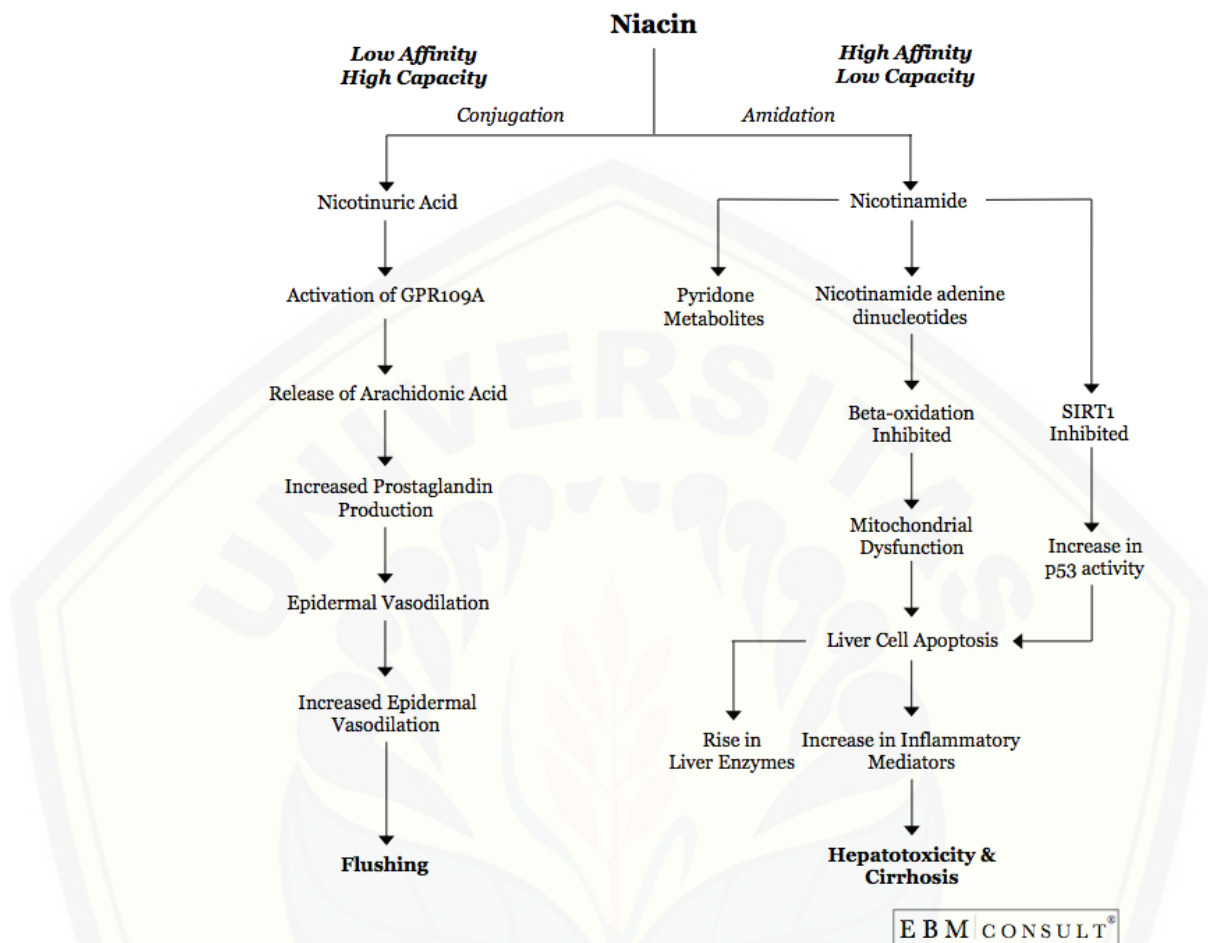
Niasin atau yang lebih umum dikenal sebagai vitamin B3 merupakan bagian dari vitamin B kompleks yang diperlukan oleh tubuh dan merupakan vitamin larut dalam air yang banyak ditemukan di berbagai campuran herbal serta minuman berenergi. Niasin dapat meningkatkan metabolisme lemak dan membantu tubuh mengubah karbohidrat menjadi glukosa, sehingga lebih mudah menjadi energi. Niasin dijadikan sebagai salah satu komponen minuman berenergi dengan harapan dapat meningkatkan metabolisme lemak sehingga dapat meningkatkan jumlah kalori yang tersedia (Khayyat *et al.*, 2012).

Kejadian defisiensi niasin merupakan kasus yang sangat jarang terjadi, tetapi kasus *overdose* niasin sudah banyak dilaporkan. Angka kecukupan gizi (AKG) konsumsi niasin sangat perlu untuk diketahui. AKG yang dianjurkan dari vitamin ini adalah 14 mg/hari pada wanita dewasa, 16 mg/hari pada laki-laki dewasa, 18mg/ hari pada wanita hamil atau menyusui, dan 2 sampai 12 mg/hari untuk anak-anak. Pada dosis lebih dari 35 mg/hari dapat memunculkan efek samping yaitu kulit kemerahan, gatal, kulit kering, dan ruam kulit (Estren, 2013). Konsumsi niasin untuk kebutuhan sehari-hari yang dianjurkan adalah 15-18 mg/hari yang diketahui tidak menimbulkan efek samping (Mackay *et al.*, 2012). Untuk kepentingan pengobatan, dosis yang dianjurkan yaitu 1,5 sampai 3 gr/hari (Estren, 2013). Normalnya niasin sebanyak 16 mg/hari sudah mencukupi kebutuhan seorang laki-laki dewasa tetapi pada minuman berenergi diberi dosis lebih dari 20-30 mg atau 0,45 mg/kgBB untuk meningkatkan metabolisme lemak. Bila dikonsumsi secara terus menerus dengan dosis yang berlebihan, maka akan

menimbulkan masalah bagi kesehatan tubuh. Niasin dengan dosis lebih dari 500 mg mengakibatkan peningkatan asimtomatik kadar enzim aminotransferase serum pada 20% sampel dan menunjukkan efek lebih serius pada konsumsi lebih dari 2-6 gram/hari (Korth dan Backes, 2012; MacKay *et al.*, 2012). Efek simtomatik lain juga didapatkan seperti sakit kepala, *heartburn*, mual, gangguan saluran pencernaan, dan kelelahan (MacKay *et al.*, 2012). Laporan kasus dari Vivekanandarajah *et al.* (2011), menyebutkan bahwa keracunan akibat niasin terjadi pada konsumsi niasin 300 mg/hari (sepuluh botol per hari dengan kandungan niasin 30 mg/botol minuman berenergi). Keracunan tersebut menyebabkan manifestasi hepatotoksik berupa kenaikan ringan enzim fungsional hati, nekrosis sel hati, steatosis hepar, bahkan gagal hati.

Sifat hepatotoksik niasin terjadi ketika niasin sampai di hati melalui dua mekanisme yaitu konjugasi dan non konjugasi (amidasi). Jalur amidasi merupakan jalur yang berperan dalam sifat hepatotoksik niasin (Summers, 2015). Pada jalur amidasi, niasin akan mengalami proses oksidasi dan reduksi. Produk yang dihasilkan salah satunya adalah *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD). Keluarnya NAD mengakibatkan stres oksidatif pada hati dengan menghambat  $\beta$  oksidasi melalui siklus transpor elektron sehingga menyebabkan gangguan pada mitokondria.

Niasin sudah digunakan sejak lama sebagai pengobatan dislipidemia pada pasien aterosklerosis (Lavigne *et al.*, 2013). Beberapa riset juga menyebutkan bahwa niasin berperan penting dalam menurunkan trigliserida, *low density lipoprotein* (LDL), dan meningkatkan *high density lipoprotein* (HDL) yang berhubungan dengan terjadinya plak aterosklerosis (Kammana *et al.*, 2013). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa niasin dapat mencegah penumpukan lemak di hati pada model tikus *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) (Ganji *et al.*, 2014).



Gambar 2.1 Mekanisme niasin menyebabkan hepatotoksik (Sumber: Summers, 2015)

### 2.1.2 Kafein

Kandungan kafein secara alami banyak didapatkan pada beberapa tumbuhan seperti kopi, teh, bji kola, serta coklat. Kafein dalam minuman berenergi berhubungan dengan efek diuresis dan keseimbangan cairan serta elektrolit. Dosis kafein dalam minuman berenergi berkisar antara 50 sampai 141 mg pada tiap botol atau 1-2 mg/kgBB (Forbes *et al.*, 2007). Menurut *International Food Information Council Foundation*, batas aman konsumsi kafein per harinya adalah 100-150 mg untuk membuat tubuh mengalami peningkatan aktivitas dan



terjaga. Konsumsi kafein jangka panjang dan dengan dosis yang besar dapat menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai *caffeinism*. Kondisi *caffeinism* mengacu pada berbagai gejala yaitu kecemasan, insomnia, sakit kepala, alkalosis respiratorik, dan palpitasi. Laporan dari Vivekanandarajah *et al.* (2011) konsumsi kafein 300 mg/hari menyebabkan intoksikasi akut kafein dengan gejala agitasi psikomotor, gelisah, dan aritmia. Sedangkan, konsumsi kafein dengan dosis lebih dari 300 mg/hari dapat menyebabkan psikosis, rabdomiolisis, dan kematian.

Kafein menjadi salah satu bahan aktif minuman berenergi dikarenakan dapat menstimulasi sistem saraf pusat dengan meningkatkan aktivitas neural, mengurangi kelelahan, serta memperlambat waktu tidur dengan memblok reseptor adenosin. Pengikatan adenosin dengan reseptornya menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah sehingga terasa mengantuk. Kafein dan adenosin mempunyai struktur yang mirip. Oleh karena itu, kafein dapat berikatan dengan reseptor adenosin sehingga dapat menghambat kerja adenosin dan tidak terjadi vasodilatasi (Kirchheimer dan Smith, 2004).

Potensi kafein sebagai hepatoprotektor penyakit hati kronik telah banyak diteliti. Kafein terbukti secara signifikan mengurangi tingkat keparahan sel hati yang diinduksi alkohol pada dosis 0,7-2,8 mg/tikus/hari (Lv *et al.*, 2010), asupan harian kafein (minimal 100 mg) dapat melindungi terjadinya fibrosis hati lanjut pada pria dengan infeksi hepatitis C virus kronis (Khalaf *et al.*, 2015), serta pemberian harian kafein dosis rendah (5mg dan 10mg) menunjukkan efek hepatoprotektif yang ditunjukkan dengan menurunnya kadar *alanin aminotransferase* (ALT), *aspartat aminotransferase* (AST), dan *alkali fosfatase* (AP) serta kembalinya kadar serum albumin dan *glutathione* (GSH) hati (Cachon *et al.*, 2016). Kafein secara farmakologis memblokir reseptor adenosin - non selektif, termasuk reseptor A2 dalam mencegah fibrosis hepar pada hewan coba. Kafein bertindak melalui antagonisme reseptor adenosin A1 dan A2. Adenosin yang bekerja pada reseptor A2 akan merangsang *hepatic stellate cell-mediated*

*fibrosis* dengan meningkatkan produksi kolagen I dan III (Machado-Filho *et al.*, 2014).

## 2.2 Hati

Hati adalah organ intestinal terbesar dengan berat antara 1,2-2,8 kg atau lebih kurang 25% berat badan orang dewasa. Organ ini menempati sebagian besar kuadran kanan atas abdomen dan berfungsi sebagai pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks (Setiati *et al.*, 2014).

### 2.2.1 Anatomi Hati

Hati merupakan kelenjar paling besar dan organ metabolik utama pada tubuh. Organ ini mempunyai batas-batas penting untuk kepentingan klinis. Batas atas hati berada sejajar dengan ruang interkostal V kanan dan batas bawah hati menyerong ke atas dari iga IX kanan ke iga VIII kiri. Permukaan posterior berbentuk seperti cekungan dan terdapat celah transversal sepanjang 5 cm dari sistem porta hepatis. Sistem porta terletak di depan vena kava dan dibalik kandung empedu. Hati mempunyai 2 fasies yaitu fasies diafragmatika yang berdekatan dengan diafragma serta fasies viseralis dengan tepi bawah anterior mengarah ke organ-organ dalam abdomen. Hati dibagi menjadi lobus kanan yang berukuran lebih besar dan lobus kiri yang lebih kecil. Lobus-lobus ini dipisahkan oleh ligamentum falsiformis di sebelah ventral. Pada daerah antara ligamentum falsiformis dengan kandung empedu di lobus kanan kadang dapat ditemukan lobus kuadratus dan sebuah daerah yaitu lobus kaudatus yang biasanya tertutup oleh vena kava inferior dan ligamentum venosum pada permukaan posterior (Setiati *et al.*, 2014).

Hati terbagi menjadi delapan segmen dengan fungsi yang berbeda berdasarkan pada suplai darah dan saluran empedu yang dimiliki oleh masing-masing segmen. Segmen-segmen tersebut disuplai oleh satu cabang trias porta yaitu vena porta hepatica, arteri hepatica propria, dan duktus hepaticus komunis.

Tiap dua segmen akan disuplai oleh kombinasi tiga vena hepatica yang tersusun secara vertikal menuju empat segmen hepar yang berdekatan. Terdapat kepentingan fungsional dari pembagian segmen bahwa segmen I sampai IV disuplai oleh cabang-cabang trias porta kiri dan mewakili lobus hepatis sinistra. Sedangkan, segmen V sampai VIII disuplai oleh cabang-cabang trias porta kanan yang mewakili lobus hepatis dekstra. Akibatnya, batas secara fungsional antara lobus hepatis dekstra dan sinistra terletak di bidang sagital antara vena kava inferior dan vesika biliaris, bukan pada ligamentum falsiformis (Paulsen dan Waschke, 2013).

Vaskularisasi hati sangat dipengaruhi oleh sistem arteri dan sistem vena yang kompleks antara hati dengan organ-organ pendukung disekitarnya. Hati divaskularisasi oleh arteri hepatica propria yang berasal dari arteri hepatica komunis, cabang dari trunkus koeliakus. Hati juga memiliki sistem vena masuk dan keluar yang sering disebut sistem porta. Vena porta hepatis mengumpulkan darah kaya nutrisi dari organ-organ abdomen yang tidak berpasangan (gaster, usus, pankreas, limpa), kemudian mengalirkannya bersama dengan darah dari arteri hepatica komunis menuju sinusoid lobulus hepaticus. Vena porta hepatis dibentuk oleh tiga vena utama yaitu vena mesenterika superior, vena splenika, dan vena mesenterika inferior. Adanya variasi vaskularisasi pada hati merupakan gambaran umum yang sering dijumpai. Variasi letak arteri mesenterika superior merupakan yang paling sering terjadi (Paulsen dan Waschke, 2013).

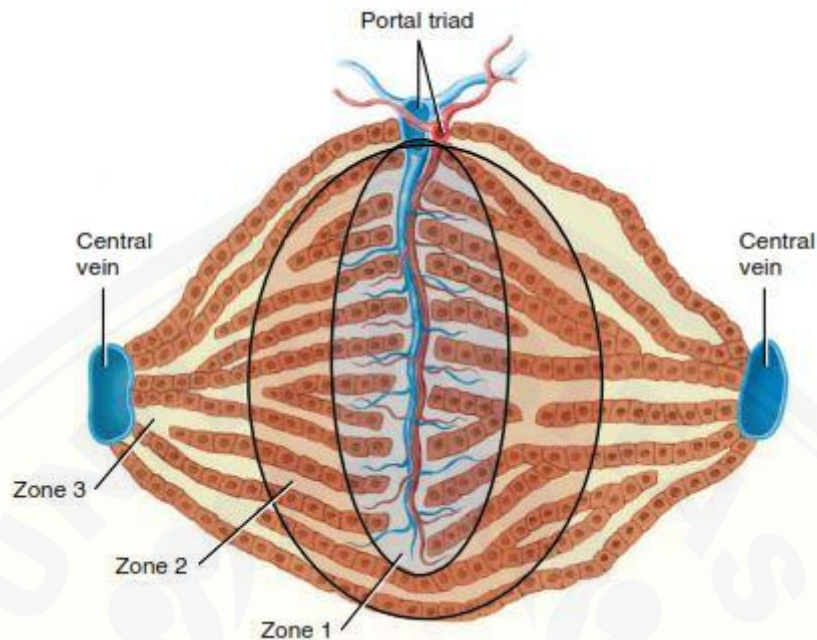
### 2.2.2 Histologi Hati

Hati terdiri atas bermacam-macam sel, salah satunya adalah hepatosit. Hepatosit meliputi lebih kurang 60% sel hati, sedangkan sisanya terdiri atas sel-sel epitelial sistem empedu, sel *kuppfer*, maupun sel *stellata*. Secara mikroskopis pada hati manusia terdapat 50.000-100.000 lobulus. Lobulus hepaticus merupakan unit struktural parenkim hati. Setiap lobulus mempunyai bentuk heksagonal yang terdiri atas sel hepatosit berbentuk kubus (trabekula) yang tersusun radial

mengelilingi vena sentralis. Vena sentralis terletak di pusat lobules hepatikus dan bertugas untuk mengumpulkan darah dari sinusoid hepar yaitu cabang dari vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel *kupffer* (fagositik) yaitu sistem retikuloendotelial yang berfungsi menghancurkan bakteri maupun benda asing di dalam tubuh. (Paulsen dan Waschke, 2013; Setiati *et al.*, 2014).

Sel-sel lain yang terdapat di dinding sinusoid adalah *sel kupffer* dan *sel stellata*. *Sel stellata* yang disebut juga sel perisit atau liposit mempunyai aktivitas miofibroblastik yang dapat membantu pengaturan aliran darah dan sebagai faktor penting dalam perbaikan kerusakan hati. Peningkatann aktivitas sel-sel *stellata* menjadi faktor kunci dalam pementukan fibrosis di hati (Setiati *et al.*, 2014).

Konsep terbaru dari unit fungsional hati terkecil adalah asinus hati yang terdiri atas sel-sel parenkim sekitar arteriol, venul, dan duktus biliaris terminal, serta terletak diantara dua vena sentralis. Asinus terbagi menjadi 3 zona, yaitu zona 1 terletak paling dekat dengan traktus portal sehingga paling banyak menerima darah kaya oksigen, sedangkan zona 3 terletak paling jauh dan hanya menerima sedikit oksigen. Zona 2 atau zona intermediet berada diantara zona 1 dan 3. Zona 3 ini paling mudah terkena jejas iskemik. Ketiga zona dapat dilihat pada Gambar 2.2 di bawah ini.



Gambar 2.2 Sistem asinus hati dan lobulus hati (Sumber: Junqueira *et al.*, 2007)

### 2.2.3 Fisiologi Hati

Hati adalah organ terbesar dan terpenting di tubuh, organ ini dipandang sebagai pabrik biokimia utama tubuh. Hati memiliki kapasitas cadangan yang besar dan hanya membutuhkan 10-20% jaringan yang berfungsi untuk tetap bertahan. Kemampuan regenerasi dari hati dapat dikatakan mengagumkan. Pada kebanyakan kasus, pengangkatan sebagian hati akan merangsang tumbuhnya hepatosit untuk mengganti sel yang sakit. Proses regenerasi akan lengkap dalam waktu 4 sampai 5 minggu. Sedangkan, pada beberapa individu massa hati normal akan kembali pulih dalam waktu 6 bulan (Price dan Wilson, 2005).

Hati memiliki peran penting untuk menjaga homeostasis tubuh. Beberapa fungsinya meliputi sintesis serum protein (albumin, protein karier, faktor koagulasi, serta faktor pertumbuhan), produksi empedu dan kariernya (asam empedu, kolesterol, *lesitin*, *fosfolipid*), pengaturan nutrisi (glukosa, glikogen,

lipid, kolesterol, asam amino), serta metabolisme dan konjugasi senyawa lipofilik (bilirubin, anion, kation, obat) untuk diekskresikan dalam empedu atau urin (Longo dan Fauci, 2013).

Peran hati dalam sistem pencernaan yaitu mensekresikan garam empedu untuk membantu pencernaan dan penyerapan lemak. Hati mensekresikan 500-1000 ml empedu kuning setiap hari. Unsur utama empedu meliputi air (97%), elektrolit, garam empedu, *fosfolipid*, kolesterol, garam organik, dan pigmen empedu (terutama bilirubin terkonjugasi). Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak dalam usus halus. Setelah diolah oleh bakteri dalam usus halus, sebagian besar garam empedu akan direabsorpsi di ileum, kemudian mengalami resirkulasi di hati. Bilirubin adalah hasil akhir metabolisme dan secara fisiologis kurang penting. Adanya bilirubin dalam pemeriksaan urin maupun feses dapat mengindikasikan bahwa terjadi gangguan pada hati dan saluran empedu (Price dan Wilson, 2005). Selain fungsi pencernaan, hati juga melakukan berbagai fungsi lain seperti memproses secara metabolik ketiga kategori utama nutrisi (karbohidrat, protein, dan lemak) setelah zat-zat ini diserap dari saluran cerna, mendetoksifikasi zat sisa tubuh, hormon, maupun senyawa asing lain, membentuk protein plasma yang digunakan untuk pembekuan darah, menyimpan glikogen, lemak, besi, dan tembaga, serta mengekskresikan kolesterol dan bilirubin (Sherwood, 2011).

Penilaian fungsi hati dikatakan sangat rumit diakibatkan banyaknya zat-zat yang berperan dalam fungsi homeostatis hati. Beberapa prosedur sering digunakan untuk manajemen dan evaluasi pasien dengan gangguan hati. Prosedur ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya gangguan hati, membedakan jenis gangguan hati, serta menilai respon terapi. Tes fungsi hati juga memiliki beberapa kekurangan. Tes dapat bernilai normal pada pasien dengan gangguan hati serius dan bernilai abnormal pada pasien dengan penyakit non hati. Tes fungsi hati sangat jarang menunjukkan diagnosis yang spesifik, melainkan tes ini lebih sering menunjukkan gangguan hati umum seperti kolestatis maupun hepatoseluler.

Idealnya marker untuk toksisitas hati harus sesuai dengan beberapa faktor tergantung dari sensitivitas maupun spesifisitasnya. Faktor-faktor tersebut diantaranya ukuran, lokasi, solubilitas, klirens, spesifisitas terhadap kerusakan yang ireversibel, dan dapat terdeteksi (Pratt, 2015; Kasper *et al.*, 2015).

Saat mengevaluasi pasien dengan gangguan hati, beberapa kategori pemeriksaan dapat dilakukan untuk mengetahui gangguan hati secara lebih spesifik. Pertama adalah pemeriksaan fungsi ekskresi dan detoksifikasi meliputi uji bilirubin serum, bilirubin urin, ammonia darah, serta enzim serum. Kedua adalah pemeriksaan fungsi biosintesis hati yaitu uji albumin dan globulin serum. Terakhir yaitu pemeriksaan faktor koagulasi hati seperti uji *prothrombin time*. Berbagai macam uji fisiologi hati dapat dilihat pada gambar 2.3 dibawah ini (Longo dan Fauci, 2013).

LIVER TEST PATTERNS IN HEPATOBILIARY DISORDERS					
TYPE OF DISORDER	BILIRUBIN	AMINOTRANSFERASES	ALKALINE PHOSPHATASE	ALBUMIN	PROTHROMBIN TIME
Hemolysis/Gilbert's syndrome	Normal to 86 $\mu\text{mol/L}$ (5 mg/dL) 85% due to indirect fractions No bilirubinuria	Normal	Normal	Normal	Normal
Acute hepatocellular necrosis (viral and drug hepatitis, hepatotoxins, acute heart failure)	Both fractions may be elevated Peak usually follows aminotransferases Bilirubinuria	Elevated, often >500 IU ALT >AST	Normal to <3 times normal elevation	Normal	Usually normal. If >5X above control and not corrected by parenteral vitamin K, suggests poor prognosis
Chronic hepatocellular disorders	Both fractions may be elevated Bilirubinuria	Elevated, but usually <300 IU	Normal to <3 times normal elevation	Often decreased	Often prolonged Fails to correct with parenteral vitamin K
Alcoholic hepatitis Cirrhosis	Both fractions may be elevated Bilirubinuria	AST:ALT > 2 suggests alcoholic hepatitis or cirrhosis	Normal to <3 times normal elevation	Often decreased	Often prolonged Fails to correct with parenteral vitamin K
Intra- and extra-hepatic cholestasis (Obstructive jaundice)	Both fractions may be elevated Bilirubinuria	Normal to moderate elevation Rarely >500 IU	Elevated, often >4 times normal elevation	Normal, unless chronic	Normal If prolonged, will correct with parenteral vitamin K
Infiltrative diseases (tumor, granulomata); partial bile duct obstruction	Usually normal	Normal to slight elevation	Elevated, often >4 times normal elevation Fractionate, or confirm liver origin with 5' nucleotidase or $\gamma$ glutamyl transpeptidase	Normal	Normal

#### 2.2.4 Kerusakan Sel Hati

Hati merupakan organ yang rentan terhadap gangguan metabolik, toksik, mikroba, dan sirkulasi. Pada sebagian kasus, proses terjadinya penyakit berlangsung secara primer di organ hati. Pada kasus lain, secara sekunder hati dapat terganggu oleh adanya penyakit akibat dekompensasi jantung, alkoholisme, maupun infeksi di luar hati. Pada jejas ringan, sel hati dapat segera beregenerasi ke fungsi semula. Kapasitas regenerasi akan habis apabila parenkim hati terkena rangsangan patologik secara terus menerus sehingga menyebabkan kerusakan hati. Respon kerusakan yang dihasilkan akan berbeda tergantung dari jenis dan lama rangsangan patologik. Terdapat lima respon perubahan morfologik yang dihasilkan hati ketika mengalami jejas (Kumar *et al.*, 2007).

Respon pertama yaitu peradangan. Peradangan mungkin terbatas di saluran porta atau meluas ke dalam parenkim. Jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag dengan cepat akan menelan sel yang mati dan membentuk gumpalan sel radang di parenkim yang normal. Benda asing, organisme, dan obat dapat memicu reaksi granulomatosa (Kumar *et al.*, 2007).

Respon kedua yaitu degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan morfologi dan fungsi yang sifatnya reversibel. Perubahan dapat terjadi akibat adanya gangguan toksik atau imunologis yang dapat menyebabkan hepatosit tampak edematosa (degenerasi balon). Adanya bahan empedu yang tertahan dapat menyebabkan hepatosit tampak membengkak seperti busa (degenerasi busa). Bahan yang tertahan seperti lemak dapat berakumulasi dalam hepatosit sehingga terbentuk steatosis. Steatosis mikrovesikular dapat ditemukan pada pasien dengan penyakit hati alkoholik serta *sindroma reye*. Steatosis makrovesikuler dapat ditemukan pada pasien obesitas atau diabetes mellitus (Kumar *et al.*, 2007).

Respon ketiga yaitu kematian sel atau nekrosis. Hampir semua gangguan yang signifikan terhadap hati dapat menyebabkan destruksi hepatosit yang mengarah pada kematian sel yang bersifat ireversibel. Berdasarkan luasnya, nekrosis hati dapat bersifat fokal, sentral, perifer, dan zonal atau masif. Kematian



sel yang terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma. Umumnya perubahan yang terjadi pada sel nekrotik terjadi pada semua bagian sel. Tetapi perubahan pada inti sel merupakan petunjuk yang paling jelas pada kematian sel. Tanda nekrosis sel hati mempunyai ciri piknosis (inti hiperkromatik dan mengecil), karioreksis (fragemntasi inti yang meninggalkan pecahan sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar di dalam sel), dan kariolisis (inti hilang dan kromatin basofil menjadi pucat). Pada kasus iskemia dan reaksi obat maupun toksin, nekrosis hepatosit tersebar di sekitar vena sentral (nekrosis sentrilobularis). Pada kasus yang disebabkan oleh proses imunologis, kematian sel terbatas pada beberapa sel di parenkim hati atau pertemuan antara periporta dan saluran porta yang meradang (Kumar *et al.*, 2007).

Respon keempat yaitu fibrosis. Jaringan fibrosis terbentuk akibat respon terhadap peradangan atau gangguan yang bersifat toksik langsung ke hati. Pengendapan kolagen menimbulkan dampak permanen pada pola aliran darah dan perfusi hepatosit. Pada tahap awal, fibrosis mungkin terbentuk di dalam atau di sekitar saluran porta atau vena sentralis. Seiring berjalannya waktu, untaian dari fibrosis akan menghubungkan region hati yang disebut *bridging fibrosis*. Fibrosis umumnya dianggap sebagai konsekuensi yang bersifat ireversibel. Saat ini sudah semakin banyak bukti yang menyatakan bahwa berhentinya cedera hati pada keadaan tertentu dapat mengurangi fibrosis (Kumar *et al.*, 2007).

Respon terakhir yaitu sirosis. Hati terbagi menjadi beberapa nodus hepatosit yang mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut. Sirosis merupakan stadium akhir dari perjalanan penyakit hati (Kumar *et al.*, 2007).

### **2.3 Uji Fisiologi Hati pada Gangguan Hati**

Untuk menilai fungsi hati secara detail, pemeriksa harus mengetahui gejala maupun tanda penyakit beserta uji fungsi hati yang sensitif, spesifik, tepat, dan efisien. Menurut Longo dan Fauci (2013), uji fungsi hati telah diklasifikasikan secara sederhana menjadi beberapa kategori yaitu pemeriksaan fungsi ekskresi

dan detoksifikasi, pemeriksaan fungsi biosintesis hati, serta pemeriksaan faktor koagulasi hati.

### 2.3.1 Pemeriksaan Fungsi Ekskresi dan Detoksifikasi

Pemeriksaan ini merupakan salah satu pemeriksaan yang biasa digunakan sebagai pemeriksaan penunjang untuk menetapkan diagnosis penyakit. Beberapa uji yang sering digunakan diantaranya.

#### a. Pemeriksaan bilirubin serum

Bilirubin dan komponennya mempunyai peran penting dalam mengevaluasi fungsi hati maupun hemolisis. Bilirubin yang merupakan produk dari cincin heme terdapat di dalam darah dalam bentuk 2 fraksi yaitu bilirubin terkonjugasi dan bilirubin non konjugasi. Bilirubin unkonjugasi/indirek mempunyai sifat *nonwater soluble*, melainkan bilirubin terkonjugasi bersifat *water soluble* dan diekskresikan menuju usus melalui sistem bilier. Selanjutnya, beberapa bilirubin terkonjugasi direabsorpsi kembali menuju sirkulasi dari ileum (Wang *et al.*, 2006). Penghitungan *Total Bilirubin* (TBL) merupakan gabungan dari bilirubin non konjugasi (ekstrahepatik) dan bilirubin konjugasi (intrahepatik). Adanya peningkatan TBL menunjukkan terjadinya *jaundice* dan terjadi masalah metabolik hati yang berhubungan dengan kurangnya sekresi bilirubin maupun adanya gangguan konjugasi bilirubin. Meskipun derajat peningkatan bilirubin serum bukan merupakan indikator utama penentuan prognosis semua penyakit hati, namun uji ini merupakan indikator penting keparahan penyakit pada beberapa kondisi seperti hepatitis virus, hepatitis akibat alkohol, maupun hepatitis akibat obat. Selain pada serum, bilirubin juga dapat diidentifikasi dalam urin. Ditemukannya bilirubin urin yang merupakan fraksi bilirubin terkonjugasi merupakan petunjuk adanya gangguan hati (Longo dan Fauci, 2013).

b. Pemeriksaan enzim serum

Pemeriksaan enzim serum merupakan uji yang sering dilakukan selain uji bilirubin. Zimmerman *et al* (2014) telah mengklasifikasikan empat kelompok mayor pemeriksaan enzim serum berdasarkan spesifitas dan sensitivitas untuk membedakan tipe kerusakan hati.

- 1) Marker gangguan kolestasis yaitu *alkalin fosfatase* (ALP), *5-nukleotidase* (5'-NT), dan *gamma-glutamiltransferase* (GGT).
- 2) Marker kerusakan hepatoseluler (sitotoksik) meliputi *aspartat aminotransferase* (AST), *laktat dehidrogenase* (LDH), *alanin aminotransferase* (ALT), *ornitin karbamiltransferase* (OCT), serta *sorbitol dehidrogenase* (SDH).
- 3) Marker kerusakan ekstrahepatik atau tidak sensitif pada kerusakan intrahepatik yaitu *kreatinin fosfokinase*.
- 4) Marker yang menunjukkan penurunan aktivitas serum pada gangguan hati yaitu *kolinesterase*.

Salah satu marker gangguan kolestasis yaitu *gamma-glutamiltransferase* (GGT). Enzim ini terletak pada sitoplasma sel, terikat pada membran sel, dan berperan dalam metabolisme glutation. Enzim ini berfungsi untuk mengkatalisasi transfer  $\gamma$ -Glutamil dari peptida menjadi asam amino lainnya. Pada kerusakan hepatobilier, GGT biasanya digunakan sebagai marker kerusakan kronis hati akibat kolestasis dan dikombinasikan dengan pemeriksaan kadar transaminase serum (ALT dan AST) (Arika *et al.*, 2016; Nurbanu *et al.*, 2014).

Enzim *alanin aminotransferase* (ALT) dan *aspartat aminotransferase* (AST) merupakan marker yang sering digunakan untuk menilai adanya kerusakan hepatoseluler. ALT merupakan enzim intraseluler sitoplasma yang paling banyak ditemukan di hati dan bertanggungjawab dalam proses transaminasi atau metabolisme alanin. ALT mengkatalisasi alanin menjadi alfa ketoglutarat dan menghasilkan piruvat serta l-glutamin. Digunakan sebagai

biomarker spesifik kerusakan pada sitoplasma dan mitokondria sel hati (Arika *et al.*, 2016; Shimizu, 2008). AST merupakan enzim yang berada di sitoplasma dan mitokondria yang dominan ditemukan pada hati, jantung, otot rangka, ginjal, pankreas, eritrosit, paru-paru, dan jaringan otak. Setelah adanya kerusakan sel, kadar AST akan meningkat dalam 8 jam, kemudian mencapai puncak pada 24-36jam serta kembali normal dalam 3-7 hari. AST mengkatalisasi l-aspartat menjadi alfa ketoglutarat dan menghasilkan glutamat serta oksaloasetat. AST mempunyai sensitivitas lebih rendah dari ALT, namun masih tetap dijadikan biomarker valid pada penyakit hati. AST biasanya dikombinasikan dengan marker lainnya untuk memperoleh hasil yang lebih signifikan. Diukur dengan satuan  $\mu$ /l (Arika *et al.*, 2016; Pincus *et al.*, 2011).

### 2.3.2 Pemeriksaan Fungsi Biosintesis Hati

Pemeriksaan fungsi ini meliputi dua pemeriksaan yaitu uji albumin dan globulin serum.

#### a. Pemeriksaan Albumin Serum

Albumin serum secara eksklusif disintesis oleh hepatosit. Albumin serum mempunyai waktu paruh 18-20 hari. Lambatnya *turn over* akibat waktu paruh yang lama menyebabkan albumin serum bukan sebagai indikator yang baik pada kerusakan hati akut maupun ringan. Pada hepatitis, kadar albumin  $< 3\text{g/dl}$  meningkatkan kemungkinan adanya gangguan hati kronik. Hipoalbuminemia menunjukkan keadaan gangguan hati berat akibat menurunnya kemampuan hati untuk mensintesis albumin seperti pada penyakit sirosis hati. Akan tetapi, hipoalbuminemia tidak spesifik hanya pada penyakit hati. Keadaan ini juga dapat ditemukan pada kasus seperti malnutrisi, sindrom nefrotik, serta infeksi kronik yang disebabkan hambatan sintesis albumin (Longo dan Fauci, 2013).

#### b. Pemeriksaan Globulin Serum

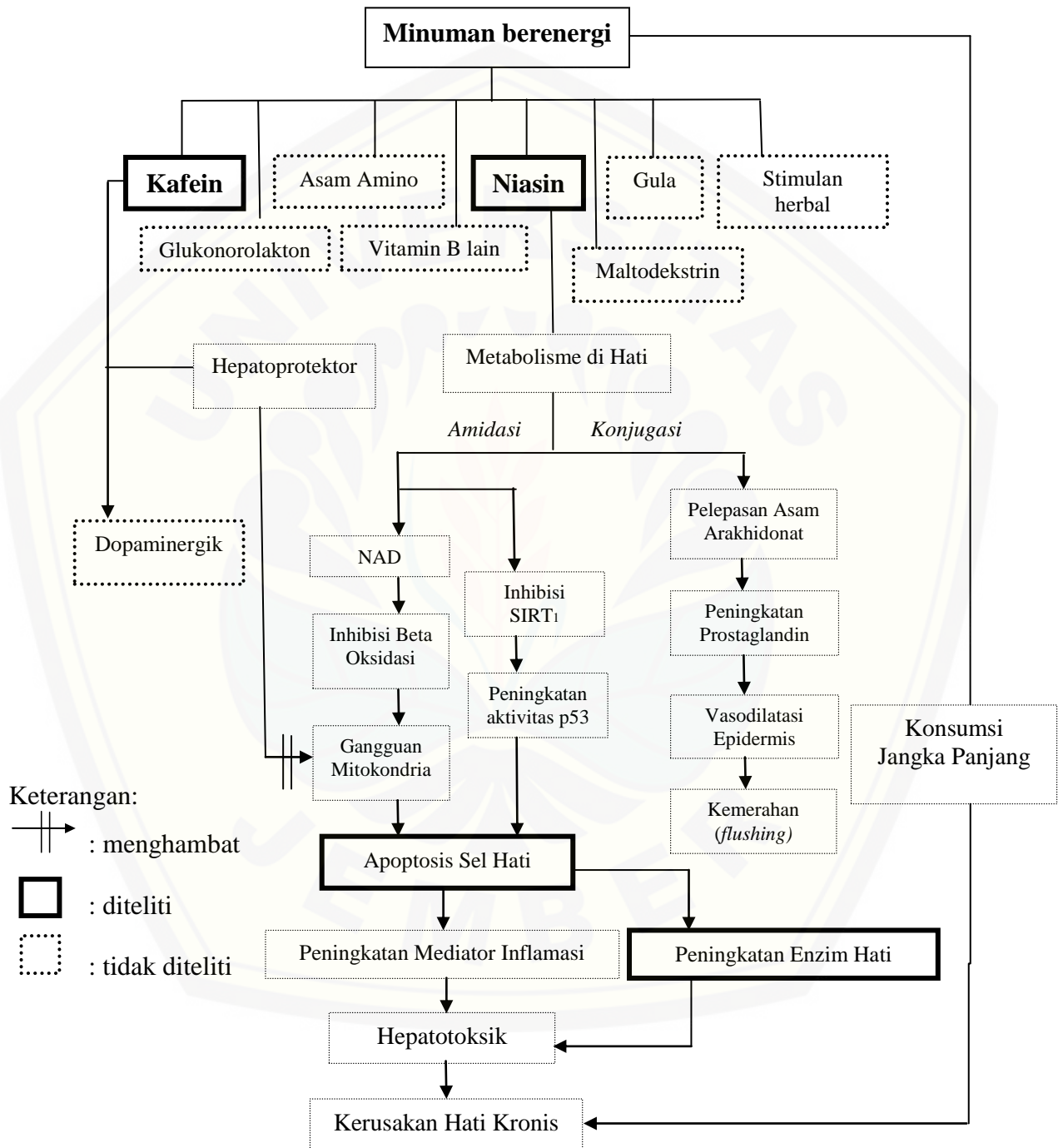
Globulin serum merupakan kelompok protein yang terbuat dari  $\gamma$  globulin (immunoglobulin) yang diproduksi oleh limfosit B serta  $\alpha$  dan  $\beta$  globulin yang

diproduksi oleh hepatosit. Pada gangguan hati kronis seperti hepatitis kronis dan sirosis terjadi peningkatan  $\gamma$  globulin pada serum. Pada sirosis kenaikan gamma globulin diakibatkan produksi antibodi meningkat tajam untuk melawan bakteri usus. Ini dapat terjadi akibat hati yang sirosis gagal membersihkan antigen bakteri (Longo dan Fauci, 2013).

### 2.3.3 Pemeriksaan Faktor Koagulasi Hati

Faktor pembekuan darah diproduksi secara eksklusif oleh hepatosit kecuali faktor VIII yang diproduksi oleh sel endotel vaskular. Waktu paruh dari faktor koagulasi jauh lebih pendek dari albumin, mulai dari 6 jam untuk faktor VII sampai 5 hari untuk fibrinogen. Karena perputaran yang cepat, pengukuran faktor pembekuan adalah pengukuran kondisi akut terbaik untuk mengetahui adanya gangguan fungsi sintesis hati. Selain membantu diagnosis, pengukuran ini dapat membantu penilaian prognosis penyakit parenkim hati akut. Salah satu contohnya adalah serum *prothrombin time* meliputi pengukuran faktor II, V, VII, dan X. Sedangkan, untuk biosintesis faktor II, VII, IX, dan X bergantung dengan adanya vitamin K. Serum *prothrombin time* dapat meningkat pada hepatitis, sirosis, serta gangguan yang menyebabkan defisiensi vitamin K seperti ikterus obstruktif atau malabsorpsi lemak (Longo dan Fauci, 2013).

2.4 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual penelitian

Kandungan minuman berenergi antara lain kafein, stimulan berbasis herbal (ekstrak ginseng, ekstrak *Ginkgo biloba*, ekstrak guarana), gula sederhana (glukosa dan fruktosa), asam amino (taurin, karnitin, kreatin), maltodekstrin, glukuronolakton dan vitamin B kompleks (niasin, asam pantotenat, piridoksin, riboflavin, inositol, dan kobalamin) (Khayyat *et al.*, 2012). Beberapa laporan kasus terjadinya hepatotoksik akibat mengkonsumsi minuman berenergi secara berlebihan diduga disebabkan oleh niasin yang memiliki mekanisme hepatotoksik. Kandungan kafein dalam minuman berenergi dilaporkan memiliki efek hepatoprotektif sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat mencegah apoptosis maupun nekrosis hepatosit yang ditunjukkan dengan penurunan kadar *alanin aminotransferase* (ALT), *aspartat aminotransferase* (AST), dan *alkaline fosfatase* (AP). Berdasarkan laporan kasus oleh Vivekanandarajah *et al.* (2011), kasus hepatitis yang terjadi dikaitkan dengan intensitas konsumsi minuman berenergi dengan kandungan niasin sebesar 30 mg per kemasannya.

Mekanisme hepatotoksik niasin terutama jenis *nicotinamide* yang lebih banyak beredar di pasaran dimetabolisme melalui jalur non konjugasi (amidasi). Pada jalur amidasi, niasin akan mengalami proses oksidasi dan reduksi. Produk yang dihasilkan salah satunya adalah *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD). Keluarnya NAD mengakibatkan stres oksidatif pada hati dengan menghambat  $\beta$  oksidasi melalui siklus transpor elektron sehingga menyebabkan gangguan pada mitokondria (Summers, 2015).

## 2.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Apabila dibandingkan dengan kafein, kandungan aktif niasin dalam model minuman berenergi dapat menimbulkan kerusakan hati yang ditandai oleh abnormalitas uji fisiologi hati.
2. Semakin besar dosis niasin maka semakin besar kerusakan hati yang ditimbulkan.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah desain *true experimental laboratories* secara *in vivo*. Penelitian ini bertujuan mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Farmakologi, Biomolekuler, dan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember, serta Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pemeriksaan yang akan dilakukan adalah kadar ALT, AST, dan GGT. Waktu pelaksanaan penelitian adalah April 2016 – Oktober 2016.

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah Tikus Wistar Albino jantan

#### 3.3.2 Besar Sampel

Pada penelitian ini dilakukan pengulangan pada tiap kelompok untuk mencegah adanya bias. Penghitungan besarnya pengulangan dihitung dengan menggunakan rumus Federer, yaitu:

$$(n-1)(p-1) > 15,$$

keterangan:

n: jumlah sampel tiap kelompok penelitian

p: jumlah kelompok penelitian/perlakuan

jika,  $p=7$

maka,  $(n-1)(7-1) \geq 15$



$$n-1 \geq 15/6$$

$$n-1 \geq 2,5$$

$$n \geq 3,5$$

Menurut rumus di atas, besar sampel dalam satu kelompok minimal yang harus dipenuhi adalah 3,5. Jika dibulatkan ke atas menjadi minimal 4 ekor tikus pada masing-masing kelompok, sehingga jumlah total yang digunakan adalah 28 ekor.

### **3.4 Variabel Penelitian**

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah.

- a. Pemberian niasin.
- b. Pemberian kafein.

#### **3.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah.

- a. Kadar ALT, AST, dan GGT.

#### **3.4.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah.

- a. Jenis dan pemeliharaan hewan coba.
- b. Dosis dan frekuensi pemberian perlakuan pada tikus.
- c. Lama perlakuan pada tikus.
- d. Pengamatan kadar ALT, AST, dan GGT.

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Larutan Niasin dan Kafein

- a. Larutan niasin adalah larutan yang dibuat dari sediaan bubuk niasin (vitamin B3) yang didapatkan dari Brataco, Surabaya. Pembuatan dosis larutan berdasarkan Statistik Konsumsi Pangan 2015, rekomendasi BPOM, dan beberapa penelitian sebelumnya. Niasin kemudian dilarutkan dalam aquadest.
- b. Larutan kafein adalah larutan yang dibuat dari sediaan bubuk kafein yang didapatkan dari Makmur Sejati, Jember. Pembuatan dosis larutan berdasarkan Statistik Konsumsi Pangan 2015, rekomendasi BPOM, dan beberapa penelitian sebelumnya. Kafein kemudian dilarutkan dalam CMC Na 0,2 %.

#### 3.5.2 Kadar Alanin Aminotransferase (ALT)

Kadar alanin aminotransferase (ALT) adalah kadar enzim yang diambil dari plasma darah subjek penelitian dengan menggunakan pemeriksaan metode kinetik IFCC (tanpa piridoksal -5- fosfat) dengan alat spektrofotometer dengan satuan U/L. Pemeriksaan dilakukan di laboratorium biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

#### 3.5.3 Kadar Aspartat Aminotransferase (AST)

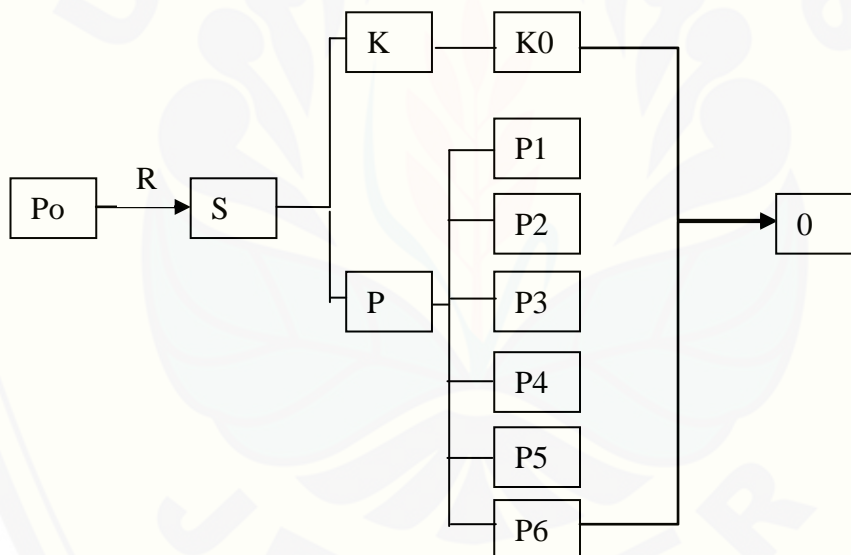
Kadar aspartat aminotransferase (AST) adalah kadar enzim yang diambil dari plasma darah subjek penelitian dengan menggunakan pemeriksaan metode kinetik IFCC (tanpa piridoksal -5- fosfat) dengan alat spektrofotometer dengan satuan U/L. Pemeriksaan dilakukan di laboratorium biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### 3.5.4 Kadar Gamma-Glutamil Transferase (GGT)

Kadar gamma-glutamiltransferase (GGT) adalah kadar enzim yang diambil dari plasma darah subjek penelitian dengan menggunakan pemeriksaan metode kinetik IFCC (tanpa piridoksal -5- fosfat) dengan alat spektrofotometer dengan satuan U/L. Pemeriksaan dilakukan di laboratorium biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### 3.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian adalah sebagai berikut.



Keterangan:

Po = Populasi tikus wistar jantan

R = Randomisasi sampel

S = Sampel

K = Kontrol

P = Perlakuan

K0 = Kontrol tanpa perlakuan (hanya diberi aquadest)

- P1 = Kelompok perlakuan diberi niasin dosis 0,36 mg/ hari dan kafein sebanyak 0,9 mg/hari setara dengan rata-rata konsumsi minuman berenergi orang Indonesia yaitu 1 kemasan/ hari (Statistik Konsumsi Pangan, 2015) lalu dilakukan penyesuaian untuk tikus.
- P2 = Kelompok perlakuan diberi niasin dosis 1,08 mg/hari dan kafein sebanyak 2,7 mg/hari setara dengan batas aman konsumsi minuman berenergi yang ditetapkan BPOM yaitu 3 kemasan/hari.
- P3 = Kelompok perlakuan diberi niasin dosis 1,44 mg/hari dan kafein sebanyak 3,6 mg/hari setara dengan n+1 batas aman konsumsi minuman berenergi yang ditetapkan BPOM yaitu 4 kemasan/hari.
- P4 = Kelompok perlakuan diberi niasin dosis 3,6 mg/hari dan kafein sebanyak 9 mg/hari setara dengan dosis minimal niasin dapat menimbulkan keluhan hepatotoksik pada manusia dan setara dengan 10 kemasan/hari (Vivekandarajah *et al.*, 2011).
- P5 = Kelompok perlakuan diberi niasin dosis toksik 5,4 mg/hari setara dengan dosis niasin dapat menimbulkan keluhan hepatotoksik pada manusia yaitu 300 mg/hari (Vivekandarajah *et al.*, 2011).
- P6 = Kelompok perlakuan diberi kafein dosis maksimum 9 mg/hari setara dengan dosis toksik kafein pada manusia yaitu 500mg/hari (Yew, 2014).
- 0 = Observasi kadar ALT, AST, dan GGT.

### 3.7 Bahan dan Alat Uji yang Digunakan

Pada penelitian ini, alat dan bahan yang dibutuhkan untuk uji *in vivo* adalah tikus jantan galur wistar, larutan kafein dan niasin dengan berbagai macam dosis, CMC Na, sonde, kandang, minuman tikus, dan makanan pellet. Pemeriksaan kadar AST, ALT, dan GGT menggunakan plasma heparin atau EDTA, *micropipet* kuning dan biru, ependorf, mesin analisis *Biolyzer 100*, dan reagensia (R1 dan R2) AST, ALT, GGT.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Pemilihan Sampel Hewan Coba

Sampel penelitian adalah tikus strain wistar jantan berbulu putih, sehat, bergerak aktif, tingkah laku normal, dan berumur 2 bulan dengan berat rata-rata 150-200 gram.

#### 3.8.2 Preparasi Hewan Coba

Pada penelitian ini digunakan 28 ekor tikus wistar albino jantan yang dibagi secara acak dengan teknik *systematic random sampling* menjadi 7 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 6 kelompok perlakuan. Tikus diadaptasikan selama empat belas hari sebelum diberi perlakuan. Tikus diberikan pakan standar dan minum *ad libitum*, serta dilakukan penimbangan berat badan tikus. Pembersihan kandang, sekam kayu pada alas kandang, dan kotoran dilakukan setiap dua hari untuk menghindari timbulnya penyakit. Lingkungan tempat tinggal dibuat tenang dan terhindar dari sinar matahari langsung.

#### 3.8.3 Pembuatan Model Minuman Berenergi

Model minuman berenergi dibuat berdasarkan komposisi niasin dan kafein yang beredar di Indonesia yaitu sebanyak 20 mg niasin dan 50 mg kafein. Dosis tersebut kemudian dikonversikan ke dalam dosis. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan menggunakan aquadest dan 0,2 % Na CMC. Sediaan bubuk kafein dilarutkan dengan aquadest + Na CMC 0,2%, kemudian dilanjutkan sediaan bubuk niasin yang dilarutkan dalam aquadest. Setelah masing-masing larutan dibuat, kemudian campurkan larutan niasin dan kafein dalam satu kemasan. Satu botol model minuman berenergi dibuat untuk mencukupi kebutuhan selama 7 hari. Penelitian dilakukan selama 49 hari (7 minggu), maka dilakukan pembuatan model minuman berenergi selama 7 kali. Cara pembuatan dapat dilihat di Lampiran 4.1.

#### 3.8.4 Penentuan Dosis

Penentuan dosis niasin dan kafein disesuaikan dengan model minuman berenergi yang terdapat di pasaran. Dosis niasin yaitu sebesar 20 mg dan dosis kafein yaitu sebesar 50 mg dalam satu kemasan minuman berenergi. Apabila dikonversikan ke tikus, maka dosis niasin sebesar 0,36 mg/200 grBB dan dosis kafein sebesar 0,9 mg/200 grBB yang sama dengan konsumsi satu kemasan per hari untuk kelompok perlakuan pertama (Statistik Konsumsi Pangan, 2015). Berdasarkan rekomendasi batas aman konsumsi minuman berenergi yang ditetapkan BPOM yaitu 3 kemasan/ hari lalu dilakukan penyesuaian untuk tikus, hewan coba diberi niasin dosis 1,08 mg/ 200 grBB/ hari dan kafein sebanyak 2,7 mg/ 200 grBB/ hari untuk kelompok perlakuan kedua. Berdasarkan n+1 dari batas aman konsumsi minuman berenergi yang ditetapkan BPOM yaitu 4 kemasan/ hari lalu dilakukan penyesuaian untuk tikus, hewan coba diberi niasin dosis 1,44 mg/ 200 grBB/ hari dan kafein sebanyak 3,6 mg/200 grBB/ hari untuk kelompok perlakuan ketiga. Kelompok perlakuan keempat diberi niasin dosis 3,6 mg/ 200grBB/ hari dan kafein sebanyak 9 mg/ 200grBB/ hari setara dengan dosis minimal niasin yang dapat menimbulkan keluhan hepatotoksik pada manusia setara dengan 10 kemasan/hari (Vivekandarajah *et al.*, 2011). Kelompok perlakuan kelima diberi niasin dosis 5,4 mg/ 200 grBB/ hari setara dengan dosis niasin yang dapat menimbulkan keluhan hepatotoksik pada manusia yaitu 300 mg/hari (Vivekandarajah *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa dosis kafein tinggi dapat menimbulkan keluhan pada manusia yaitu 500 mg/ hari, kemudian dilakukan penyesuaian untuk tikus yang mana hewan coba diberi kafein dosis 9 mg/ 200 grBB/ hari untuk kelompok perlakuan keenam (Yew, 2014). Dosis yang diberikan sengaja dibuat berbeda agar peneliti mengetahui pada dosis berapakah minuman berenergi itu aman untuk dikonsumsi serta pada dosis dan rentang waktu berapa dapat membuat kerusakan hati yang bermanifestasi sebagai abnormalitas fungsi hati. Oleh karena itu, sampel akan dinilai dari kadar ALT, AST, dan GGT.

### 3.8.5 Pemberian Model Minuman Berenergi pada Hewan Coba

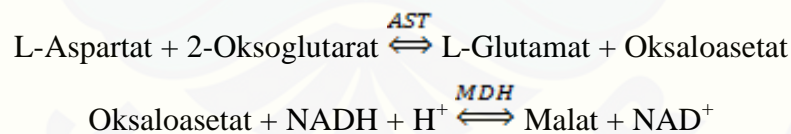
Model minuman berenergi yang sudah mengandung niasin dan kafein diberikan ke hewan coba dengan cara per oral. Pemberian dilakukan dengan cara menyondekan larutan ke hewan coba menggunakan sonde khusus tikus. Model minuman berenergi diberikan selama 49 hari (Veidal *et al.*, 2011) di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### 3.8.6 Pemeriksaan AST

Pemeriksaan AST dilakukan dengan metode kinetik-IFCC (tanpa piridoksal 5-fosfat) yaitu darah jantung tikus diambil 3 ml, selanjutnya sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Plasma darah 100 µl dan reagen AST 1000 µl dimasukkan dalam tabung reaksi serta dihomogenkan. Selanjutnya, dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 365 nm. Kemudian nilai absorbansi dicatat pada menit I, II, dan III. Selanjutnya, dilakukan penghitungan nilai AST berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{AST} = \Delta A / \text{min} \times \text{Factor}$$

Nilai normal pemeriksaan AST adalah 3 - 45 U/L Prinsip dari pemeriksaan ini yaitu



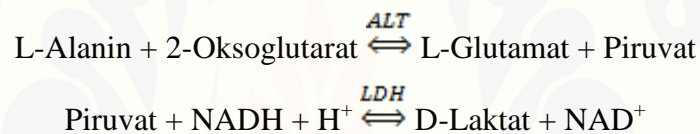
*Aspartat aminotransferase* mengkatalis transaminasi dari L-aspartat dan α-oksoglutarat membentuk L-glutamat dan oksaloasetat. Oksaloasetat direduksi menjadi malat oleh enzim *malat dehidrogenase* (MDH) dan *nikotinamida adenosin dinukleotida hidrogen* (NADH) teroksidasi menjadi *nikotinamida adenosin dinukleotida* (NAD). Banyaknya NADH yang teroksidasi berbanding langsung dengan aktivitas AST dan diukur secara fotometrik.

### 3.8.7 Pemeriksaan ALT

Pemeriksaan ALT dilakukan dengan metode kinetik-IFCC (tanpa piridoksal 5-fosfat) yaitu darah jantung tikus diambil 3 ml, selanjutnya sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Plasma darah 100  $\mu$ l dan reagen ALT 1000  $\mu$ l dimasukkan dalam tabung reaksi serta dihomogenkan. Selanjutnya, dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 365 nm. Kemudian, nilai absorbansi dicata pada menit I, II, dan III. Selanjutnya, dilakukan penghitungan nilai ALT berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$ALT = \Delta A / \text{min} \times \text{Factor}$$

Nilai normal pemeriksaan ALT adalah 0 – 35 U/L. Prinsip dari pemeriksaan ini yaitu



*Alanin aminotransferase* mengkatalis transiminasi dari L-alanin dan  $\alpha$ -oksoglutarat membentuk L-glutamat dan piruvat, piruvat yang terbentuk di reduksi menjadi laktat oleh enzim *laktat dehidrogenase* (LDH) dan *nikotinamida adenosin dinukleotida hidrogen* (NADH) teroksidasi menjadi *nikotinamida adenosin dinukleotida* (NAD). Banyaknya NADH yang teroksidasi hasil penurunan serapan berbanding langsung dengan aktivitas ALT dan diukur secara fotometrik.

### 3.8.8 Pemeriksaan GGT

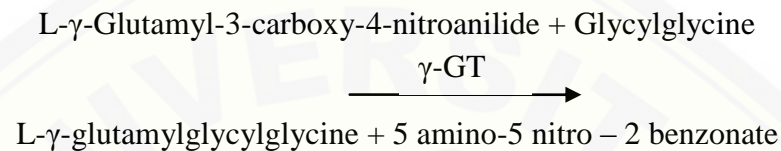
Pemeriksaan GGT dilakukan dengan metode kinetik-IFCC (tanpa piridoksal 5-fosfat) yaitu darah jantung tikus diambil 3 ml, selanjutnya sampel disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Plasma darah 100  $\mu$ l dan reagen GGT 1000  $\mu$ l dimasukkan dalam tabung reaksi serta dihomogenkan. Selanjutnya, dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 405 nm. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi awal dan secara bersamaan



jalankan stopwatch. Kemudian, nilai absorbansi dicatat pada menit I, II, dan III. Selanjutnya, dilakukan penghitungan nilai GGT berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\text{GGT} = \Delta A / \text{min} \times \text{Factor}$$

Nilai normal pemeriksaan GGT adalah 8 - 61 U/L. Prinsip dari pemeriksaan ini yaitu:



*Gamma-glutamyl transferase* mengkatalisasi transfer grup glutamil dari substrat dan glisiglisin membentuk glutamilglisiglisin dan 5-amino-2-nitrobenzoat. Laju pembentukan dari 5-amino-2-nitrobenzoat sebanding dengan aktivitas GGT ada di dalam sampel dan diukur secara kinetik pada gelombang 405 nm.

### 3.9 Uji Kelayakan Etik

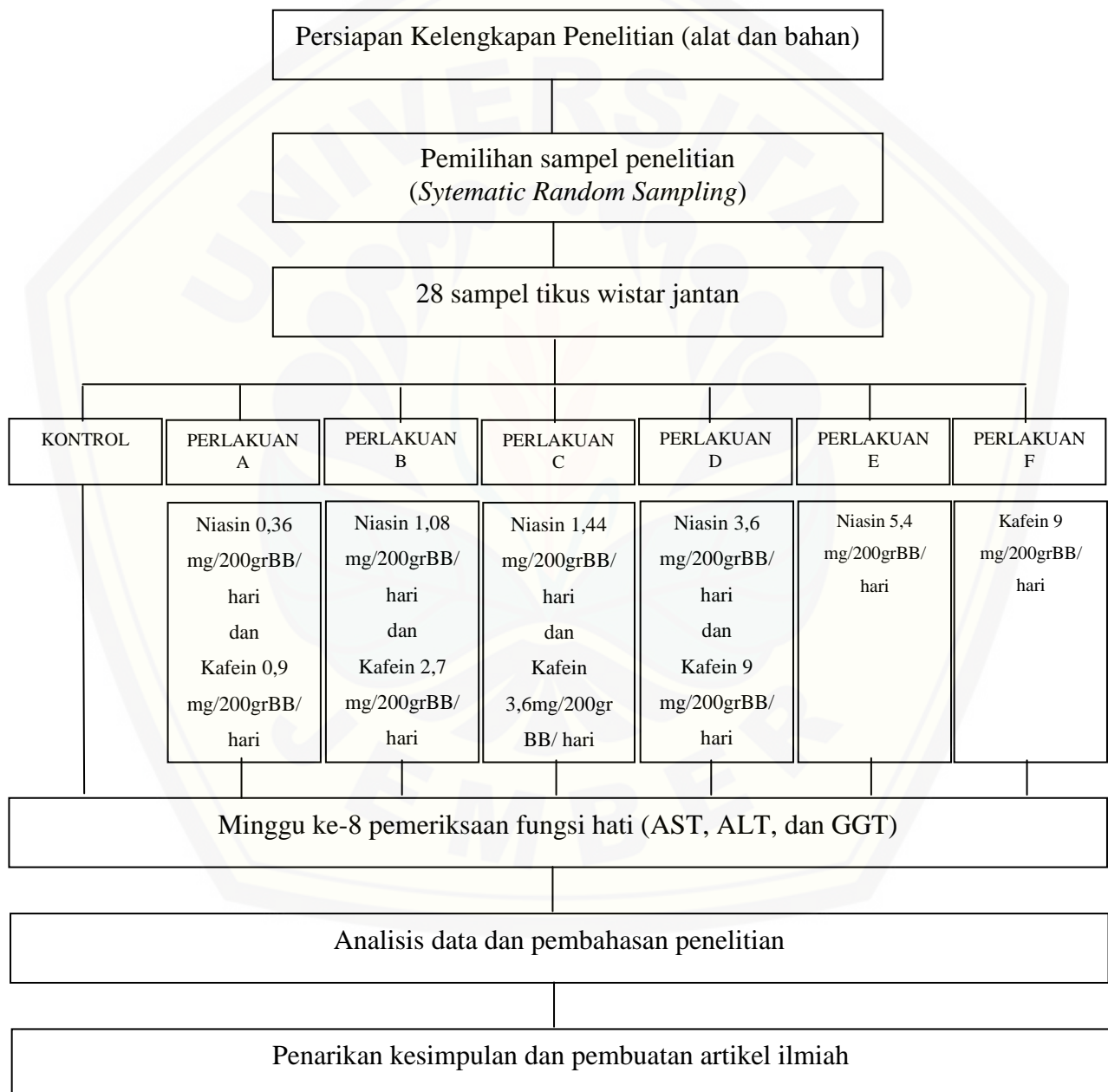
Pada penelitian ini, subjek yang digunakan adalah tikus yang dalam pelaksanaannya harus mendapatkan sertifikat kelayakan etik, sehingga perlu diajukan ke komisi etik kedokteran. Prosedur ini diharapkan akan menjamin keamanan bagi peneliti maupun hewan coba, melindungi hewan coba, serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

### 3.10 Analisa Data

Data yang akan diambil meliputi kadar ALT, AST, dan GGT dinilai secara kuantitatif, lalu dilakukan uji analisis bivariat berupa uji hipotesis korelatif dan uji analisis multivariat berupa uji analisis regresi. Pada uji hipotesis korelatif digunakan uji parametrik (*Pearson*), jika memenuhi syarat seperti distribusi data harus normal dan varians data yang sama. Jika tidak memenuhi syarat, maka

digunakan uji non parametrik (*Spearman*). Kemudian, pada uji analisis regresi digunakan uji regresi linier dikarenakan variabel terikat berupa variabel numerik.

### 3.11 Alur Kerja Penelitian



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

1. Terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian niasin dan kafein terhadap fisiologi hati yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar GGT, tetapi tidak terdapat pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan kadar AST dan ALT.
2. Dosis yang dapat menimbulkan gangguan fisiologi hati berupa peningkatan kadar GGT yaitu pemberian niasin 60 mg/hari dan kafein 150 mg/hari yang setara dengan 3 kemasan per hari.

### 5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan diatas, maka saran yang dapat diberikan peneliti yaitu.

1. Perlu dilakukan penelitian dengan durasi yang lebih lama yaitu tiga bulan untuk mengetahui efek model minuman berenergi terhadap timbulnya gangguan fisiologi hati.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap komponen minuman berenergi lain untuk mengetahui interaksi masing-masing komponen minuman berenergi terhadap kesehatan.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai interaksi niasin dan kafein pada model minuman berenergi terhadap organ lain seperti ginjal, jantung, otak, maupun pembuluh darah.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Akande, I. S dan O. A. Banjoko. 2011. Assessment of biochemical effect of “Power Horse” energy drink on hepatic, renal and histological functions in sprague dawley rats. *Annual Review & Research in Biology*.1(3): 45-56.
- Alsunni, A. A. 2015. Energy drink consumption: beneficial and adverse health effects. *International Journal of Health Sciences*. 9(4): 469-474.
- Apestegui, C.A., O. Julliard, O. Ciccarelli, J. Lerut, dan D. K. Ho Minh Duc. 2011. Energy drinks: another red flag for the liver allograft. *Liver Transplantation*. 17: 1117-1118.
- Arauz, J., M. Galicia-Moreno, P. Cortes-Reynosa, E. Perez-Salazar, P. Muriel. 2013. Coffee attenuates fibrosis by decreasing the expression of TGF- $\beta$  and CTGF in a murine model of liver damage. *J. Appl. Toxicol*, 1-10.
- Arika W. M., D. W. Nyamal, K. O. Osano, M. P. Ngugi, dan E. N. M. Njagi. 2016. Biochemical markers of in vivo hepatotoxicity. *J Clin Toxicol*. 6: 297.
- BPOM. 2004. *Ketentuan Pokok Pengawasan Suplemen*. [Online]  
Available at: <http://asrot.pom.go.id>  
[Diakses 14 Agustus 2016]
- BPOM. 2006. *Minuman Berenergi*. [Online]  
Available at: <http://www.pom.go.id>  
[Diakses 14 Agustus 2016]
- Bodewes, F. A. J. A., H. P. J. van der Doef, R. H. J. Houwen, dan H. J. Verkade. 2015. Increase of serum  $\gamma$ -glutamyltransferase associated with development of cirrhotic cystic fibrosis liver disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 3: 113-118.
- Boehm, O., B. Zur., A. Koch., N. Tran., R. Freyenhagen., M. Hartmann., dan K. Zacharowski. 2007. Clinical chemistry reference database for wistar rats and C57/BL6 mice. *Biol. Chem*. Vol. 388: 547-554.
- Cachón, A. U., C. Quintal-Novelo, G. Medina-Escobedo, G. Castro-Aguilar, dan R. E. Moo-Puc. 2016. Hepatoprotective effect of low doses of caffeine on

- CCl4-induced liver damage in rats. *Journal of Dietary Supplements*, 00(00): 1-15.
- Cadden I. S. H., N. Partovi., dan E. Yoshida. 2007. Review Article: Possible beneficial effects of coffee on liver disease and function. *Aliment Pharmacol Ther.* 26: 1-8.
- Corleone, J. 2016. Does Niacin Speed Up Your Metabolism? <http://www.livestrong.com/article/259188-does-niacin-speed-up-your-metabolism> [5Juli 2016].
- Costentin, C. E., F. Roudot-Thoraval, E. S. Zafrani, F. Medkour, J. M. Pawlotsky, A. Mallat, dan C. Hezode. 2011. Association of caffeine intake and histological features of chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology.* 54: 1123–1129.
- Dahlan, M. S. 2013. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat, Dilengkapi Aplikasi dengan Menggunakan SPSS, Edisi 5, cetakan 3.* Jakarta: Salemba Medika.
- Danielsson, J., P. Kangastupa., T. Laatikainen., M. Aalto., dan O. Niemela. 2013. Dose- and gender- dependent interactions between coffee consumption and serum GGT activity in alcohol consumers. *Alcohol and Alcoholism.* 48(3): 303-307.
- Doherty, M., dan P. M. Smith. 2004. Effects of caffeine ingestion on exercise testing: a meta-analysis. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 14(6): 626-46.
- Estern, M.J. 2013. *Statins: Miraculous or Misquided.* Oakland: Ronin Publishing, Inc.
- Forbes, S. C., D. G Candow, J. P. Little, C. Magnus, P. D. Chilibeck. 2007. Effect of red bull energy drink on repeated wingate cycle performance and bench-press muscle endurance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* 17(5): 433-444.
- Furtado, K. S., M. G. Prado, M. A. Aguiar e Silva, M. C. Dias, D. P. Rivelli, M. A. M. Rodrigues, dan L. F. Barbisan. 2012. Coffee and caffeine protect against liver injury induced by thioacetamide in male wistar rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.* 111(5): 339-347.
- Ganji, S. H., G. D. Kukes, N. Lambrecht, M. L. Kashyap, dan V. S. Kamanna. 2014. Therapeutic role of niacin in the prevention and regression of

- hepatic steatosis in rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 306: 320-327.
- Giknis, M. L. A. dan C. B. Clifford. 2006. *Clinical Laboratory Parameters for Crl:CD(SD) Rats*. Massachusetts: Charles River Laboratories.
- Heckman, M. A., K. Sherry, dan E. G. de Mejia. 2010. Energy drinks: an assessment of their market size, consumer demographics, ingredient profile, functionality, and regulations in the united states. *Compr Rev Food SciFood Saf*. 9: 303–317.
- Huang, B., B. Kunkel, dan M. E. Kabany. 2014. Acute liver failure following one year of daily consumption of a sugar-free energy drink. *ACG Case Rep J*. 1(4): 214–216.
- Kamannaa, V. S., S. H. Ganjia, dan M. L. Kashyap. 2013. Recent advances in niacin and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 24: 239–245.
- Kasper, D. L., A. S. Fauci, S. L. Hauser, D. L. Longo, J. L. Jameson, dan J. Loscalzo. 2015. *Harrison's Principle of Internal Medicine 19<sup>th</sup> Edition*. USA: McGraw Hill Education.
- Kementrian Pertanian. 2015. *Statistik Konsumsi Pangan*. Pusat Data Dan Sistem Informasi Pertanian.
- Kirchheimer, S. dan M. W. Smith. 2004. Coffee: The New Health Food? [http://www.howstuffworks.com/framed.htm?parent=caffeine.htm&url=http://men.webmd.com/features/coffee-new-healt\\_h-food](http://www.howstuffworks.com/framed.htm?parent=caffeine.htm&url=http://men.webmd.com/features/coffee-new-healt_h-food) [14 September 2016].
- Khalaf, N., D. White, F. Kanwal, D. Ramsey, S. Mittal, S. Tavakoli-Tabasi, J. Kuzniarek, dan H. B. El-Serag. 2015. Coffee and caffeine are associated with decreased risk of advanced hepatic fibrosis among patients with hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 13(8):1521-31.
- Khayat, L., J. Sorour, M. A. Rawi, dan A. Essawy. 2012. Histological, ultrastructural and physiological studies on the effect of different kinds of energy drinks on the liver of wistar albino rat. *J Am Sci*. 8(8): 688-697.
- Korth, C. E., dan J. M. Backes. 2012. Hepatotoxic effects of lipid-altering agents. *US Pharmacist*. 37(9): 17-20.

- Kumar, V., R. S. Cotran, dan S. L. Robbins. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Alih bahasa oleh Awal Prasetyo, Brahm U. Pendit, Toni Priliono. 2007. Jakarta: EGC.
- Laurence, D. R. & A. L. Bacharach. 2013. *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics*. USA: Elsevier.
- Lavigne, P. M., dan R. H. Karas. 2013. The current state of niacin in cardiovascular disease prevention: a systematic feview and meta-regression. *Journal of the American College of Cardiology*. 61(4): 440-446.
- Lee, D. H., R. Blomhoff., D. R. Jacobs Jr. 2005. Is serum gamma-glutamyltransferase within a marker of oxidative stress?. *Free Radical Research*. 38(6): 535-539.
- Lee, D. H., J. S. Lim., J. H. Yang., M. H. Ha., dan D. R. Jacobs Jr. 2005. Serum gamma-glutamyltransferase within its normal range predicts a chronic elevation of alanine aminotransferase: a four year follow up study. *Free Radical Research*. 39(6): 589-593.
- Longo, L. D., dan A. S. Fauci. 2013. *Harrison's Gastroenterology and Hepatology* 2<sup>nd</sup> Edition. USA: McGraw Hill Education.
- Lv, X., Z. Chen, J. Li, L. Zhang, H. Liu, C. Huang, dan P. Zhu. 2010. Caffeine protects against alcoholic liver injury by attenuating inflammatory response and oxidative stress. *Inflammation Research*. 59(8): 635-645.
- Machado-Filho, J. A., A. O. Correia, A. B. A. Montenegro, M. E. P. Nobre, G. S. Cerqueira, K. R. T. Neves, M. D. G. Naffah-Mazzacoratti, E. A. Cavalheiro, G. A. D. C. Brito, dan G. S. D. B. Viana. 2014. Caffeine neuroprotective effects on 6-OHDA-lesioned rats are mediated by several factors, including pro-inflammatory cytokines and histone deacetylase inhibitions. *Behavioural Brain Research*. 264: 116–125.
- Machado, S. R., E. R. Parise, dan L. de Carvalho. 2014. Coffee has hepatoprotective benefits in brazilian patients with a chronic hepatitis C even in lower daily consumption than in american and european populations. *Braz J Infect Dis*. 18(2): 170-176.
- MacKay, D., J. Hathcock, dan E Guarneri. 2012. Niasin: chemical forms, bioavailability, and health effects. *Nutrition Reviews*. 70(6): 357-366.

- Mescher, A. L. *Histologi Dasar Junqueira: Teks & Atlas (Edisi 12)*. Terjemahan oleh Brahm U. 2012. Jakarta: EGC.
- Mormone, E., J. George., dan N. Nieto. 2011. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chemico-Biological Interactions*. 193: 225–231.
- Nurbanu, G., E. Gozke, dan Z. A. Basturk. 2014. Gamma-glutamyl transferase levels in patients with acute ischemic stroke. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. 2014: 1-4.
- Paulsen, F., dan J. Waschke. *Sobotta Atlas Anatomi Manusia: Anatomi Umum dan Muskuloskeletal*. Terjemahan oleh Brahm U. 2013. Jakarta: EGC.
- Perez-Lopez, A., J. J. Salinero, dan J. Abian-Vicen. 2014. Caffeinated energy drinks improve volleyball performance in elite female players. *Med Sci Sports Exerc*. 47(4): 850-856.
- Pincus M. R., P. Tierno, M. Fenelus, W. B. Bowne, dan M. H. Bluth, 2011. Evaluation of Liver Function. In: McPherson RA, Pincus MR, eds. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22nd ed. Philadelphia, PA: *Elsevier Saunders*: Chap 21.
- Price, S. A., dan L. M. Wilson. 2005. *Pathophysiology: Clinical Concept of Disease Process*, 6/E. USA: Elsevier Science.
- Ruhl, C. E., dan J. E. Everhart. 2005. Coffee and tea consumption are associated with a lower incidence of chronic liver disease in the united states. *Gastroenterology*. 129(6): 1928-1936.
- Setiati, S., I. Alwi, A. W. Sudoyo, M. Simandibrata, B. Setiyohadi, dan A. F. Syam. 2014. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Interna Publishing.
- Sharp, D. S., dan N. L. Benowitz. 1995. RE: 'alcohol, smoking, coffee, and cirrhosis' and 'coffee and serum gamma-glutamyltransferase: a study of self-defense officials in japan. *Am J Epidemiol*. 141:480–481.
- Sherwood, L. *Fisiologi Manusia; Dari Sel ke Sistem*. Alih bahasa oleh Brahm U. Pendit. 2011. Jakata: EGC.
- Shimizu, Y. 2008. Liver in systemic disease. *World J Gastroenterol*. 14: 4111-4119.



- Suhardjono, D. 1995. Percobaan Hewan Laboratorium. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207
- Summers, B. B. 2015. The Mechanism for Niacin Associated Flushing and Hepatotoxicity. [online]. *EBM Consult*. Abstract from: <file:///F:/The%20Mechanism%20for%20Niacin%20Associated%20Flushing%20and%20Hepatotoxicity.htm> [diakses 19 September 2016].
- Thapa, B. R. dan A. Walia. 2007. Liver function tests and their interpretation. *Indian Journal of Pediatrics*. 74: 67-75.
- Universitas Jember. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: Jember University Press.
- Veidal, S. S., M. A. Karsdal, E. Vassiliadis, A. Nawrocki, M. R. Larsen, Q. H. T. Nguyen, P. Hagglund, Y. Luo, Q. Zheng, B. Vainer, dan D. J. Leeming. 2011. MMP mediated degradation of type VI collagen is highly associated with liver fibrosis – identification and validation of a novel biochemical marker assay. *PLoS ONE*. 6(9): e24753
- Vivekanandarajah, A. N. S., dan A. Waked. 2011. Acute hepatitis in a woman following excessive ingestion of an energy drink: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 5(1): 227.
- Wang, X., J. R. Chowdury, dan N. R. Chowdury. 2006. Bilirubin metabolism: applied physiology. *Current Paediatrics*. 16: 70-74.
- Wesnes, K. A., M. L. Barrett, dan J. K. Udani. 2013. An evaluation of the cognitive and mood effects of an energy shot over a 6h period in volunteers. A randomized, double-blind, placebo controlled, cross-over study. *Appetite*. 67: 105-113.
- Yew, David. 2014. Caffeine Toxicity. [Online]  
Available at:<http://emedicine.medscape.com/>  
[Diakses pada 23 Agustus 2016].
- Yu, Y., Y. Fan, , Z. Yang, Y. Lu, ,Q. Xu, dan X. Chen. 2016. Elevated serum gamma-glutamyltransferase predicts advanced histological liver damage in chronic hepatitis B. *Discovery Medicine*. 21(113): 7-14.
- Zimmermann-Ivol, P. R. Burkhard, J. Le Floch-Rohr, L. Allard, dan D. F. Hochstrasser. 2004. Fatty acid binding protein as a serum marker for the early diagnosis of stroke: a pilot study. *Mol Cell Proteomics*. 3: 66-72.

## LAMPIRAN

## LAMPIRAN 3.1 PERIJINAN KOMISI ETIK

 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 : 971 /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 :*

**PENGARUH PEMBERIAN NIASIN DAN KAFEIN DALAM MODEL MINUMAN BERENERGI TERHADAP FISILOGI HATI TIKUS WISTAR JANTAN**

Nama Peneliti Utama : Ngurah Agung Reza Satria Nugraha Putra  
*Name of the principal investigator* (NIM. 132010101031)

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

Jember, 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.
- 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 AST, ALT dan GGT.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Jember, 12 Oktober 2016



(dr. Rini Riyanti, Sp.PK)

**LAMPIRAN 3.2 TABEL DAFTAR VOLUME MAKSIMAL 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
Marmot (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 (5kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,00

(Suhardjono D. 1995. Percobaan Hewan Laboratorium. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207)

Keterangan:

- i.v : intravena
- i.m : intramuscular
- i.p : intraperitoneal
- s.c : subcutan
- p.o : per oral

**LAMPIRAN 3.3 TABEL KONVERSI DOSIS**

	<b>20 gr Mencit</b>	<b>200 gr Tikus</b>	<b>400 gr Marmot</b>	<b>1,5 kg Kucing</b>	<b>1 kg Kelinci</b>	<b>4 kg Kera</b>	<b>12 kg Anjing</b>	<b>70 kg Manusia</b>
<b>20 gr Mencit</b>	1,00	7,00	12,29	27,80	23,70	64,10	124,20	287,90
<b>200 gr Tikus</b>	0,14	1,00	1,74	3,30	4,20	9,20	17,80	56,00
<b>400 gr Marmot</b>	0,08	0,57	1,00	2,25	2,0	5,20	10,20	31,50
<b>1,5 kg Kucing</b>	0,04	0,25	1,44	1,00	1,08	2,40	4,50	14,20
<b>1 kg Kelinci</b>	0,03	0,23	0,41	0,92	1,00	2,20	4,10	13,00
<b>4 kg Kera</b>	0,016	0,11	0,19	0,42	0,5	1,00	1,90	6,10
<b>12 kg Anjing</b>	0,008	0,06	0,10	0,22	0,2	0,52	1,00	3,10
<b>70 kg Manusia</b>	0,0026	0,018	0,31	0,07	0,13	0,16	0,32	1,00

(Laurence, D. R. & A. L. Bacharach. 2013. Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics. USA: Elsevier)

#### LAMPIRAN 4.1 CARA PEMBUATAN DAN PENGHITUNGAN DOSIS MODEL MINUMAN BERENERGI

##### Pembuatan Model Minuman Berenergi

Dosis minuman berenergi pada manusia dikonversikan ke tikus:

$$n \times 0,018$$

$n$  = dosis

Dalam 1 kemasan minuman berenergi yang beredar di pasaran Indonesia mengandung dosis sebesar 20 mg Niasin dan 50 mg Kafein. Kemudian, akan dikonversikan ke dalam dosis tikus (Laurence & Bacharach, 2013).

Dosis pada Manusia	Dosis pada Tikus
20 mg Niasin	0,36 mg Niasin
50 mg Kafein	0,90 mg Kafein

Kemudian dilakukan pengenceran larutan menggunakan aquadest dan 0,2 % Na CMC. Sediaan kafein dilarutkan dengan aquadest + Na CMC 0,2% dilanjutkan dengan sediaan niasin yang dilarutkan dalam aquadest. Setelah masing-masing larutan dibuat, kemudian campurkan larutan niasin dan kafein dalam 1 botol.

##### Penghitungan Dosis Model Minuman Berenergi

Penghitungan dosis dibuat berdasarkan dosis yang dibuat peneliti. Untuk satu botol model minuman berenergi dibuat untuk mencukupi kebutuhan selama 7 hari. Dikarenakan penelitian dilakukan 7 minggu, maka dilakukan pembuatan model minuman berenergi selama 7 kali.

$$\begin{aligned}
 \Sigma \text{kemasan} \longrightarrow & n \times N \times \text{jumlah tikus} \times \text{jumlah hari} = \dots\dots \\
 & n \times K \times \text{jumlah tikus} \times \text{jumlah hari} = \dots\dots \\
 & 2 \text{ ml} \times \text{jumlah tikus} \times \text{jumlah hari} = \dots\dots \\
 & \text{-----} + \\
 & = \dots\dots
 \end{aligned}$$

Keterangan:

n = jumlah kemasan

N = dosis niasin

K = dosis kafein

2 ml adalah volume lambung tikus (maksimal yaitu 5 ml)

1. Kelompok Perlakuan A

$$1 \text{ kemasan : Niasin} = 0,36 \times 4 \times 7 = 10,08 \text{ mg} = 0,01008 \text{ g}$$

$$\text{Kafein} = 0,9 \times 4 \times 7 = 25,2 \text{ mg} = 0,02520 \text{ g}$$

$$2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 56 \text{ ml}$$

Jadi, 0,01008 g Niasin dan 0,02320 g Kafein dimasukkan dalam 56 ml aquadest untuk kebutuhan 1 minggu.

2. Kelompok Perlakuan B

$$3 \text{ kemasan : Niasin} = 3 \times 0,36 \times 4 \times 7 = 30,24 \text{ mg} = 0,03024 \text{ g}$$

$$\text{Kafein} = 3 \times 0,9 \times 4 \times 7 = 75,6 \text{ mg} = 0,07560 \text{ g}$$

$$2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 56 \text{ ml}$$

Jadi, 0,03024 g Niasin dan 0,07560 g Kafein dimasukkan dalam 56 ml aquadest untuk kebutuhan 1 minggu.

3. Kelompok Perlakuan C

$$4 \text{ kemasan : Niasin} = 4 \times 0,36 \times 4 \times 7 = 40,32 \text{ mg} = 0,04032 \text{ g}$$

$$\text{Kafein} = 4 \times 0,9 \times 4 \times 7 = 100,8 \text{ mg} = 0,1008 \text{ g}$$

$$2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 56 \text{ ml}$$

Jadi, 0,04032 g Niasin dan 0,1008 g Kafein dimasukkan dalam 56 ml aquadest untuk kebutuhan 1 minggu.

## 4. Kelompok Perlakuan D

10 kemasan : Niasin =  $10 \times 0,36 \times 4 \times 7 = 100,8 \text{ mg} = 0,1008 \text{ g}$

Kafein =  $10 \times 0,9 \times 4 \times 7 = 252 \text{ mg} = 0,2520 \text{ g}$

$2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 56 \text{ ml}$

Jadi, 0,1008 g Niasin dan 0,2520 g Kafein dimasukkan dalam 56 ml aquadest untuk kebutuhan 1 minggu.

## 5. Kelompok Perlakuan E

Niasin dosis toksik yaitu 300 mg (dosis manusia)

Niasin =  $300 \times 0,018 = 5,4 \text{ mg}$  (dosis tikus)

$5,4 \times 4 \times 7 = 151,2 \text{ mg} = 0,1512 \text{ g}$

$2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 56 \text{ ml}$

Jadi, 0,1512 g Niasin dimasukkan dalam 56 ml aquadest untuk kebutuhan 1 minggu.

## 6. Kelompok Perlakuan F

Kafein dosis maksimum yaitu 500 mg (dosis manusia)

Kafein =  $500 \times 0,018 = 9 \text{ mg}$  (dosis tikus)

$9 \times 4 \times 7 = 252 \text{ mg} = 0,252 \text{ g}$

$2 \text{ ml} \times 4 \times 7 = 56 \text{ ml}$

Jadi, 0,252 g Kafein dimasukkan dalam 56 ml aquadest untuk kebutuhan 1 minggu.





**Hasil Penelitian**

## Hasil Kadar AST

Kelompok Penelitian	Sampel Penelitian	Kadar AST (U/L)	Rata-Rata Kadar AST (U/L)
Kelompok Kontrol	1	55,58	51,23
	2	40,92	
	3	48,08	
	4	60,35	
Kelompok A	1	44,62	55,66
	2	57,76	
	3	59,24	
	4	61,02	
Kelompok B	1	43,55	61,72
	2	57,22	
	3	73,10	
	4	73,00	
Kelompok C	1	51,33	63,97
	2	53,67	
	3	93,90	
	4	56,98	
Kelompok D	1	58,81	69,23
	2	52,37	
	3	78,31	
	4	87,43	
Kelompok E	1	57,51	57,58
	2	66,52	
	3	55,35	
	4	50,93	
Kelompok F	1	33,97	41,62
	2	39,68	
	3	40,73	
	4	52,08	

## Hasil Kadar ALT

Kelompok Penelitian	Sampel Penelitian	Kadar ALT (U/L)	Rata-Rata Kadar ALT (U/L)
Kelompok Kontrol	1	15,72	22,70
	2	28,84	
	3	20,53	
	4	25,70	
Kelompok A	1	17,22	24,98
	2	19,50	
	3	32,86	
	4	30,34	
Kelompok B	1	32,41	25,70
	2	27,89	
	3	25,65	
	4	16,86	
Kelompok C	1	17,73	32,43
	2	52,80	
	3	35,76	
	4	23,43	
Kelompok D	1	49,40	36,53
	2	42,12	
	3	30,39	
	4	24,19	
Kelompok E	1	14,40	26,98
	2	42,32	
	3	13,00	
	4	38,20	
Kelompok F	1	12,41	23,09
	2	24,92	
	3	34,70	
	4	20,34	

## Hasil Kadar GGT

Kelompok Penelitian	Sampel Penelitian	Kadar GGT (U/L)	Rata-Rata Kadar GGT (U/L)
Kelompok Kontrol	1	1,31	0,98
	2	0,65	
	3	0,65	
	4	1,31	
Kelompok A	1	1,31	1,31
	2	2,62	
	3	1,31	
	4	1,31	
Kelompok B	1	1,31	1,64
	2	2,62	
	3	1,31	
	4	1,31	
Kelompok C	1	2,62	1,64
	2	2,62	
	3	1,31	
	4	1,31	
Kelompok D	1	2,62	2,29
	2	2,62	
	3	2,62	
	4	1,31	
Kelompok E	1	2,62	3,60
	2	3,93	
	3	3,93	
	4	3,93	
Kelompok F	1	1,31	1,64
	2	1,31	
	3	1,31	
	4	2,62	

**LAMPIRAN 4.3. ANALISIS STATISTIK BIVARIAT**

Uji Normalitas Data AST

		<b>Descriptives</b>		Statistic	Std. Error
AST	Normal	KELOMPOK_AST			
		Mean		51,2325	4,26532
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	37,6583	
			Upper Bound	64,8067	
		5% Trimmed Mean		51,2989	
		Median		51,8300	
		Variance		72,772	
		Std. Deviation		8,53064	
		Minimum		40,92	
		Maximum		60,35	
	Range		19,43		
	Interquartile Range		16,45		
	Skewness		-,309	1,014	
	Kurtosis		-1,744	2,619	
	Niasin dan Kafein (1 botol)	Mean		55,6600	3,73985
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	43,7581	
			Upper Bound	67,5619	
		5% Trimmed Mean		55,9756	
		Median		58,5000	
		Variance		55,946	
Std. Deviation			7,47970		
Minimum			44,62		
Maximum			61,02		
Range			16,40		
Interquartile Range		12,67			
Skewness		-1,811	1,014		
Kurtosis		3,395	2,619		

Niasin dan Kafein (3 botol)	Mean		61,7175	7,11303
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	39,0807	
		Upper Bound	84,3543	
	5% Trimmed Mean		62,0944	
	Median		65,1100	
	Variance		202,381	
	Std. Deviation		14,22605	
	Minimum		43,55	
	Maximum		73,10	
	Range		29,55	
	Interquartile Range		26,11	
	Skewness		-,736	1,014
	Kurtosis		-1,916	2,619
	Mean		63,9700	7,10589
Niasin dan Kafein (4 botol)	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	41,3559	
		Upper Bound	86,5841	
	5% Trimmed Mean		63,5650	
	Median		60,3250	
	Variance		201,975	
	Std. Deviation		14,21179	
	Minimum		51,33	
	Maximum		83,90	
	Range		32,57	
	Interquartile Range		26,10	
	Skewness		1,290	1,014
	Kurtosis		1,673	2,619
	Mean		69,2300	8,19818
	Niasin dan Kafein (10 botol)	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	43,1397
Upper Bound			95,3203	
5% Trimmed Mean			69,1556	
Median			68,5600	
Variance			268,841	

	Std. Deviation	16,39637	
	Minimum	52,37	
	Maximum	87,43	
	Range	35,06	
	Interquartile Range	31,17	
	Skewness	,129	1,014
	Kurtosis	-3,856	2,619
	Mean	57,5775	3,28029
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 47,1381	
		Upper Bound 68,0169	
	5% Trimmed Mean	57,4500	
	Median	56,4300	
	Variance	43,041	
Niasin (dosis toksik)	Std. Deviation	6,56059	
	Minimum	50,93	
	Maximum	66,52	
	Range	15,59	
	Interquartile Range	12,23	
	Skewness	,969	1,014
	Kurtosis	1,564	2,619
	Mean	41,6150	3,79132
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 29,5493	
		Upper Bound 53,6807	
	5% Trimmed Mean	41,4583	
	Median	40,2050	
	Variance	57,497	
Kafein (dosis maksimum)	Std. Deviation	7,58265	
	Minimum	33,97	
	Maximum	52,08	
	Range	18,11	
	Interquartile Range	13,85	
	Skewness	1,057	1,014

Kurtosis

2,053

2,619

## Tests of Normality

	KELOMPOK_AST	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
	Normal	,195	4	.	,977	4	,881
	Niasin dan Kafein (1 botol)	,361	4	.	,790	4	,086
	Niasin dan Kafein (3 botol)	,286	4	.	,866	4	,283
AST	Niasin dan Kafein (4 botol)	,258	4	.	,911	4	,489
	Niasin dan Kafein (10 botol)	,237	4	.	,927	4	,575
	Niasin (dosis toksik)	,254	4	.	,950	4	,714
	Kafein (dosis maksimum)	,296	4	.	,923	4	,557

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Korelasi *Pearson* AST

## Correlations

		Dosis	AST
Dosis	Pearson Correlation	1	,202
	Sig. (2-tailed)		,345
	N	24	24
AST	Pearson Correlation	,202	1
	Sig. (2-tailed)	,345	
	N	24	24



Uji Normalitas Data ALT

Descriptives				
KELOMPOK_ALT		Statistic	Std. Error	
Normal	Mean	22,6975	2,88861	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	13,5047	
		Upper Bound	31,8903	
	5% Trimmed Mean	22,7439		
	Median	23,1150		
	Variance	33,376		
	Std. Deviation	5,77722		
	Minimum	15,72		
	Maximum	28,84		
	Range	13,12		
	Interquartile Range	11,13		
	Skewness	-,315	1,014	
	Kurtosis	-1,838	2,619	
	ALT	Mean	24,9800	3,88450
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	12,6178
Upper Bound			37,3422	
5% Trimmed Mean		24,9733		
Median		24,9200		
Variance		60,357		
Std. Deviation		7,76900		
Minimum		17,22		
Maximum		32,86		
Range		15,64		
Interquartile Range		14,44		
Skewness		,016	1,014	
Kurtosis		-5,074	2,619	
Niasin dan Kafein (1botol)		Mean	25,7025	3,26558
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	15,3100
	Upper Bound		36,0950	

	5% Trimmed Mean		25,8211	
	Median		26,7700	
	Variance		42,656	
	Std. Deviation		6,53116	
	Minimum		16,86	
	Maximum		32,41	
	Range		15,55	
	Interquartile Range		12,22	
	Skewness		-,907	1,014
	Kurtosis		1,450	2,619
	Mean		32,4300	7,76271
		Lower Bound	7,7256	
	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	57,1344	
	5% Trimmed Mean		32,1150	
	Median		29,5950	
	Variance		241,039	
Niasin dan Kafein (4 botol)	Std. Deviation		15,52542	
	Minimum		17,73	
	Maximum		52,80	
	Range		35,07	
	Interquartile Range		29,39	
	Skewness		,817	1,014
	Kurtosis		-,559	2,619
	Mean		36,5250	5,67788
		Lower Bound	18,4554	
	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	54,5946	
	5% Trimmed Mean		36,4950	
Niasin dan Kafein (10 botol)	Median		36,2550	
	Variance		128,953	
	Std. Deviation		11,35576	
	Minimum		24,19	
	Maximum		49,40	

	Range		25,21	
	Interquartile Range		21,84	
	Skewness		,092	1,014
	Kurtosis		-2,871	2,619
	Mean		26,9800	7,71849
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,4163	
		Upper Bound	51,5437	
	5% Trimmed Mean		26,9044	
	Median		26,3000	
	Variance		238,300	
Niasin (dosis toksik)	Std. Deviation		15,43698	
	Minimum		13,00	
	Maximum		42,32	
	Range		29,32	
	Interquartile Range		27,94	
	Skewness		,054	1,014
	Kurtosis		-5,607	2,619
	Mean		23,0925	4,65265
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8,2857	
		Upper Bound	37,8993	
	5% Trimmed Mean		23,0411	
	Median		22,6300	
	Variance		86,589	
Kafein (dosis maksimum)	Std. Deviation		9,30530	
	Minimum		12,41	
	Maximum		34,70	
	Range		22,29	
	Interquartile Range		17,86	
	Skewness		,273	1,014
	Kurtosis		,391	2,619

## Tests of Normality

	KELOMPOK_ALT	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Normal	,198	4	.	,974	4	,868
	Niasin dan Kafein (1botol)	,260	4	.	,870	4	,298
	Niasin dan Kafein (3 botol)	,247	4	.	,956	4	,753
ALT	Niasin dan Kafein (4 botol)	,219	4	.	,946	4	,691
	Niasin dan Kafein (10 botol)	,205	4	.	,961	4	,782
	Niasin (dosis toksik)	,292	4	.	,813	4	,128
	Kafein (dosis maksimum)	,172	4	.	,995	4	,984

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Korelasi *Pearson* ALT

## Correlations

		Dosis	ALT
Dosis	Pearson Correlation	1	,206
	Sig. (2-tailed)		,335
	N	24	24
ALT	Pearson Correlation	,206	1
	Sig. (2-tailed)	,335	
	N	24	24

Uji Normalitas Data GGT

Descriptives

KELOMPOK_GGT		Statistic	Std. Error	
Normal	Mean	,9800	,19053	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,3737	
		Upper Bound	1,5863	
	5% Trimmed Mean	,9800		
	Median	,9800		
	Variance	,145		
	Std. Deviation	,38105		
	Minimum	,65		
	Maximum	1,31		
	Range	,66		
	Interquartile Range	,66		
	Skewness	,000	1,014	
	Kurtosis	-6,000	2,619	
	GGT	Mean	1,6375	,32750
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	,5952	
		Upper Bound	2,6798	
5% Trimmed Mean		1,6011		
Median		1,3100		
Variance		,429		
Std. Deviation		,65500		
Minimum		1,31		
Maximum		2,62		
Range		1,31		
Interquartile Range		,98		
Skewness		2,000	1,014	
Kurtosis		4,000	2,619	
Niasin dan Kafein (1 botol)		Mean	1,6375	,32750
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,5952	
		Upper Bound	2,6798	
Niasin dan Kafein (3 botol)	Mean	1,6375	,32750	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,5952	
		Upper Bound	2,6798	

	5% Trimmed Mean		1,6011	
	Median		1,3100	
	Variance		,429	
	Std. Deviation		,65500	
	Minimum		1,31	
	Maximum		2,62	
	Range		1,31	
	Interquartile Range		,98	
	Skewness		2,000	1,014
	Kurtosis		4,000	2,619
	Mean		1,9650	,37816
		Lower Bound	,7615	
	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	3,1685	
	5% Trimmed Mean		1,9650	
	Median		1,9650	
	Variance		,572	
Niasin dan Kafein (4 botol)	Std. Deviation		,75633	
	Minimum		1,31	
	Maximum		2,62	
	Range		1,31	
	Interquartile Range		1,31	
	Skewness		,000	1,014
	Kurtosis		-6,000	2,619
	Mean		2,2925	,32750
		Lower Bound	1,2502	
	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	3,3348	
	5% Trimmed Mean		2,3289	
Niasin dan Kafein (10 botol)	Median		2,6200	
	Variance		,429	
	Std. Deviation		,65500	
	Minimum		1,31	
	Maximum		2,62	

	Range		1,31	
	Interquartile Range		,98	
	Skewness		-2,000	1,014
	Kurtosis		4,000	2,619
	Mean		3,6025	,32750
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2,5602	
		Upper Bound	4,6448	
	5% Trimmed Mean		3,6389	
	Median		3,9300	
	Variance		,429	
Niasin (dosis toksik)	Std. Deviation		,65500	
	Minimum		2,62	
	Maximum		3,93	
	Range		1,31	
	Interquartile Range		,98	
	Skewness		-2,000	1,014
	Kurtosis		4,000	2,619
	Mean		1,6375	,32750
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	,5952	
		Upper Bound	2,6798	
	5% Trimmed Mean		1,6011	
	Median		1,3100	
	Variance		,429	
Kafein (dosis maksimum)	Std. Deviation		,65500	
	Minimum		1,31	
	Maximum		2,62	
	Range		1,31	
	Interquartile Range		,98	
	Skewness		2,000	1,014
	Kurtosis		4,000	2,619

## Tests of Normality

	KELOMPOK_GGT	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
	Normal	,307	4	.	,729	4	,024
	Niasin dan Kafein (1 botol)	,441	4	.	,630	4	,001
	Niasin dan Kafein (3 botol)	,441	4	.	,630	4	,001
GGT	Niasin dan Kafein (4 botol)	,307	4	.	,729	4	,024
	Niasin dan Kafein (10 botol)	,441	4	.	,630	4	,001
	Niasin (dosis toksik))	,441	4	.	,630	4	,001
	Kafein (dosis maksimum)	,441	4	.	,630	4	,001

a. Lilliefors Significance Correction

## Uji Normalitas Data GGT (setelah transformasi data)

## Tests of Normality

	KELOMPOK_GGT	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	Normal	,307	4	.	,729	4	,024
	Niasin dan Kafein (1 botol)	,441	4	.	,630	4	,001
	Niasin dan Kafein (3 botol)	,441	4	.	,630	4	,001
tran_age	Niasin dan Kafein (4 botol)	,307	4	.	,729	4	,024
	Niasin dan Kafein (10 botol)	,441	4	.	,630	4	,001
	Niasin (dosis toksik))	,441	4	.	,630	4	,001
	Kafein (dosis maksimum)	,441	4	.	,630	4	,001

a. Lilliefors Significance Correction



Uji Korelasi *Spearman* GGT

		Dosis	GGT
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1,000	,765**
	Dosis Sig. (2-tailed)	.	,000
	N	24	24
	Correlation Coefficient	,765**	1,000
	GGT Sig. (2-tailed)	,000	.
	N	24	24

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Uji *Mann Whitney* Kadar GGT kelompok kontrol dan kelompok F

	Dosis	N	Mean Rank	Sum of Ranks
GGT	Normal	4	3,25	13,00
	Kafein (dosis maksimum)	4	5,75	23,00
	Total	8		

	GGT
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-1,667
Asymp. Sig. (2-tailed)	,096
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: DOSIS

b. Not corrected for ties.

**LAMPIRAN 4.4. ANALISIS STATISTIK MULTIVARIAT**

## Analisis Regresi Linier Kadar GGT

**Model Summary and Parameter Estimates**

Dependent Variable: GGT

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,625	36,613	1	22	,000	1,216	,405		
Logarithmic <sup>a</sup>	.	.	.	.	.	.	.		
Inverse <sup>b</sup>	.	.	.	.	.	.	.		
Quadratic	,630	17,873	2	21	,000	1,300	,260	,027	
<b>Cubic</b>	<b>,667</b>	<b>13,383</b>	<b>3</b>	<b>20</b>	<b>,000</b>	<b>1,102</b>	<b>,970</b>	<b>-,348</b>	<b>,047</b>
Compound	,554	27,337	1	22	,000	1,210	1,217		
Power <sup>a</sup>	.	.	.	.	.	.	.		
S <sup>b</sup>	.	.	.	.	.	.	.		
Growth	,554	27,337	1	22	,000	,190	,197		
Exponential	,554	27,337	1	22	,000	1,210	,197		
Logistic	,554	27,337	1	22	,000	,827	,821		

The independent variable is Niasin.

a. The independent variable (Niasin) contains non-positive values. The minimum value is Dosis Kontrol. The Logarithmic and Power models cannot be calculated.

b. The independent variable (Niasin) contains values of zero. The Inverse and S models cannot be calculated.

Persamaan yang diperoleh yaitu:

$y = 1,5$  u/l (batas atas kadar GGT normal )

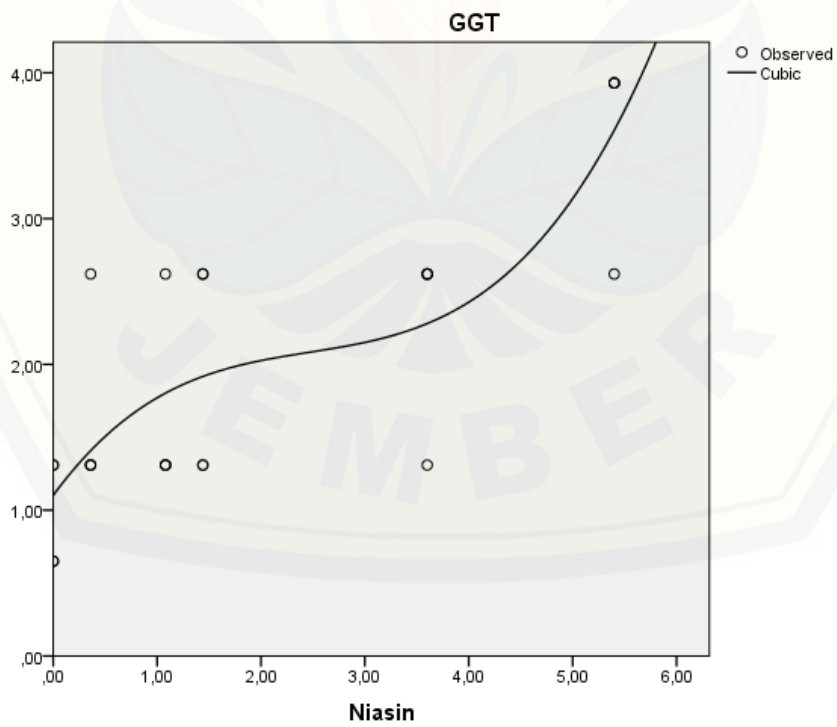
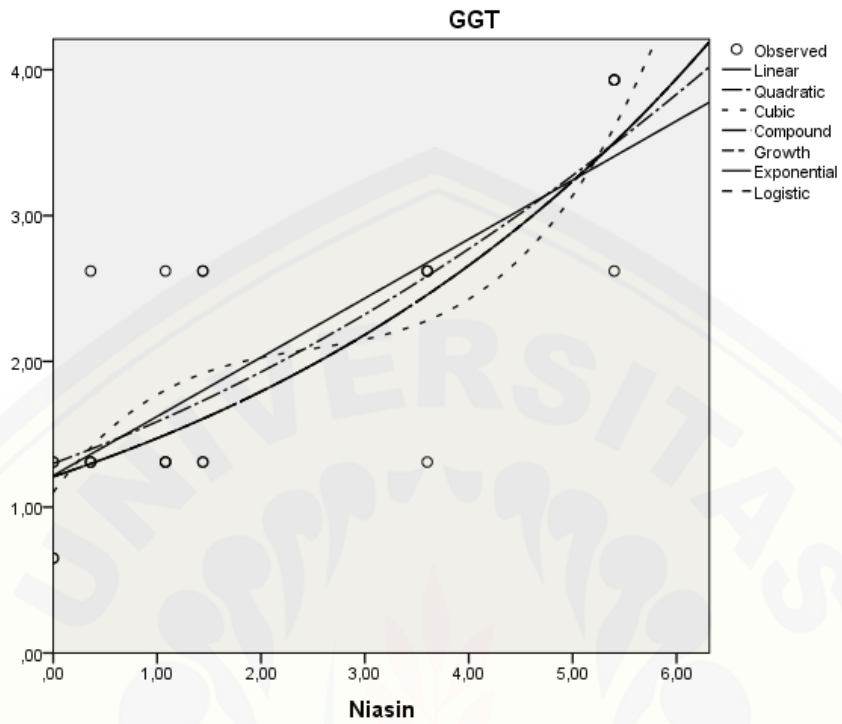
$x =$  kadar niasin (mg)

$$y = 1,102 + 0,97x + (-0,348)x^2 + 0,047x^3$$

$$1,5 = 1,102 + 0,97x + (-0,348)x^2 + 0,047x^3$$

$$0 = 0,898 + 0,97x + (-0,348)x^2 + 0,047x^3$$

Jadi,  $x = 0,491$





$$0.047x^3 - 0.348x^2 + 0.97x + 1.102 = 1.5$$



[Web Apps](#) [Examples](#) [Random](#)

Input:

$$0.047x^3 - 0.348x^2 + 0.97x + 1.102 = 1.5$$

Alternate forms:

[More](#)

$$0.047(x + 0.84832)(x^2 - 8.25257x + 27.6391) = 1.5$$

$$x((0.047x - 0.348)x + 0.97) + 1.102 = 1.5$$

$$0.047(x - 2.46809)^3 + 0.111106(x - 2.46809) + 0.582828 = 0$$

Alternate form assuming  $x$  is real:

$$(1.102 + 0. i) + 0.047x^3 - 0.348x^2 + 0.97x = 1.5$$

Real solution:

[Step-by-step solution](#)

$$x = 0.491095$$

**LAMPIRAN 4.5 DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN**

**Alat dan Bahan Penelitian**



(A)



(B)



(C)



(D)

**Foto Kegiatan Penelitian**



1. Pendataan Sampel Penelitian



2. Pemberian Model Minuman Berenergi ke Hewan Coba



3. Terminasi Hewan Coba



4. Pengambilan Darah dan Organ Hati



5. Persiapan sampel darah dan reagen AST, ALT, GGT



6. Pemeriksaan kadar AST, ALT, GGT

JEMBER