



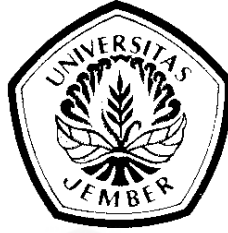
**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM MERAH
(*Amarantus tricolor* L.) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR
TERHADAP KADAR ALP SERUM MENCIT
YANG DIINDUKSI ISONIAZID**

SKRIPSI

Oleh

**Shinta Madyaning Wuri
NIM 132010101023**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM MERAH
(*Amarantus tricolor* L.) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR
TERHADAP KADAR ALP SERUM MENCIT
YANG DIINDUKSI ISONIAZID**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

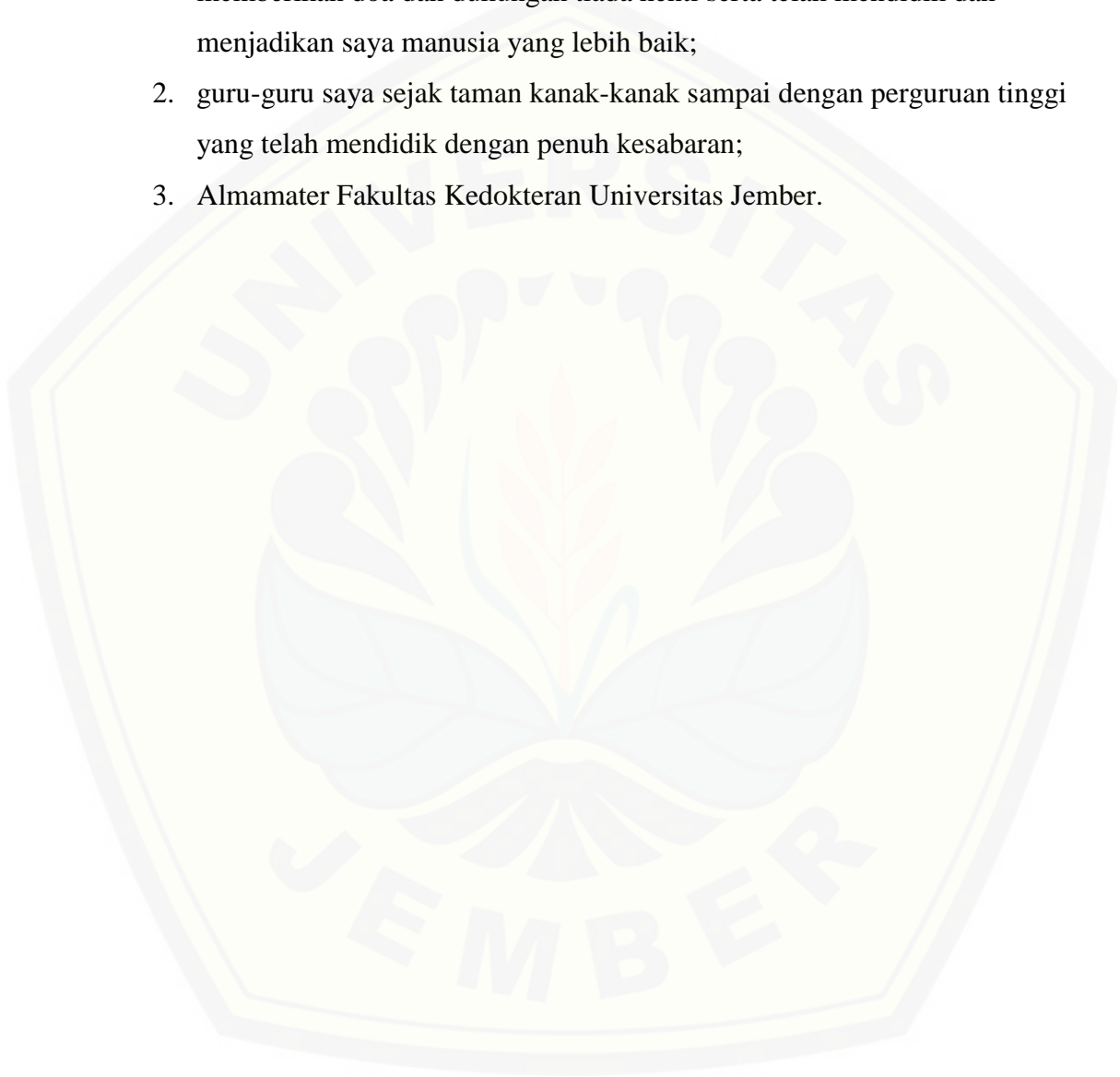
**Shinta Madyaning Wuri
NIM 132010101023**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orang tua saya, Bapak Sutiyono dan Ibu Sulastri yang senantiasa memberikan doa dan dukungan tiada henti serta telah mendidik dan menjadikan saya manusia yang lebih baik;
2. guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dengan penuh kesabaran;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

“Dan Katakanlah: "Bekerjalah kamu, maka Allah dan Rasul-Nya serta orang-orang mukmin akan melihat pekerjaanmu itu, dan kamu akan dikembalikan kepada (Allah) Yang Mengetahui akan yang ghaib dan yang nyata, lalu diberitakan-Nya kepada kamu apa yang telah kamu kerjakan.”

(Terjemahan Q.S Al-Taubah [9]:105)*)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. (Terjemahan Q.S Al-Insyirah 6-7)**)

*) **) Departemen Agama Republik Indonesia. 1981. Al Qur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Shinta Madyaning Wuri

NIM : 132010101023

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

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

Jember, 6 Desember 2016

Yang menyatakan,

Shinta Madyaning Wuri
NIM 132010101023

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM MERAH
(*Amarantus tricolor* L.) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR
TERHADAP KADAR ALP SERUM MENCIT
YANG DIINDUKSI ISONIAZID**



Oleh
Shinta Madyaning Wuri
NIM 132010101023

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar ALP Serum Mencit yang Diinduksi Isoniazid” karya Shinta Madyaning Wuri telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 6 Desember 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I,

dr. Ika Rahmawati S, M. Biotech
NIP 198408192009122003

dr. Dini Agustina, M. Biomed
NIP 198308012008122003

Anggota II,

Anggota III,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes
NIP 196902031999031001

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si
NIP 198409162008012003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar ALP Serum Mencit yang Diinduksi Isoniazid; Shinta Madyaning Wuri, 132010101023; 2016; 57 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Drug Induced Liver Injury (DILI) atau hepatotoksitas imbas obat merupakan komplikasi potensial pada obat yang diberikan. Insiden hepatotoksik akibat penggunaan isoniazid (INH) tunggal sebesar 0,1-0,56%. Mekanisme DILI akibat INH terjadi karena terbentuknya asetilhidrazin dan hidrazin oleh enzim N-asetiltransferase 2 dan amidase. Hidrazin mengurangi jumlah glutathion sulfhidril (GSH) menyebabkan radikal bebas bertambah banyak dan menyebabkan hepatotoksik. Radikal bebas dapat mengaktifasi Ca^{2+} dependent protein kinase isoform (cPKCs) yang menyebabkan perubahan fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu seperti sitoskeleton, kanalikular transporter dan komponen *tight junctional*. Hal tersebut dapat mengganggu sekresi bilier dan retensi lebih lanjut dari zat terlarut yang mendorong terbentuknya empedu. Hal ini menyebabkan kolestasis. Target toksisitas INH adalah hepatosit dan endotel saluran empedu mengakibatkan terjadinya hepatitis dan kolestasis sehingga dapat meningkatkan kadar ALP.

Berkurangnya antioksidan alami dalam tubuh menyebabkan ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan, sehingga diperlukan antioksidan dari luar tubuh. Antioksidan dapat diperoleh dari bayam (*Amaranthus tricolor* L.) karena salah satu tumbuhan yang mengandung polifenol, flavonoid, betalain, vitamin A, vitamin B6, vitamin C, klorofil, β -karoten, dan riboflavin. Oleh karena itu, perlu diteliti pengaruhnya pada kadar ALP mencit yang diinduksi INH. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar ALP pada mencit yang diinduksi INH dan dosis efektifnya.

Penelitian merupakan *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian yaitu *post test only control group design*. Penelitian menggunakan sampel berjumlah 28 ekor mencit yang diambil dari populasinya dengan cara *simple random sampling*. Pada penelitian ini dilakukan adaptasi selama tujuh hari dan perlakuan selama 10 hari, bertempat di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Mencit dikelompokkan menjadi tujuh kelompok sehingga tiap kelompok berjumlah empat ekor. Kelompok kontrol (K(N)) diberikan normal salin dan selang 2 jam diberikan tween 80 1%. Kelompok kontrol negatif (K(-)) diberikan INH 100 mg/kgBB/hari peroral, selang 2 jam diberikan tween 80 1%. Kelompok K1, K2, K3, K4, dan K5 diberikan INH 100 mg/kgBB/hari peroral, selang 2 jam diberikan ekstrak etanol daun bayam merah dosis 1,05 mg/20gBB, 2,1 mg/20gBB, 4,2 mg/20gBB, 8,4 mg/20gBB, dan 16,8 mg/20gBB secara oral. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun bayam merah. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar ALP. Analisis data yang digunakan adalah uji *One Way Anova* untuk membandingkan kadar ALP mencit antar kelompok, uji *Post Hoc* yaitu LSD (*Least Significance*

Different) untuk mengetahui antar kelompok manakah yang kadar ALP berbeda dan analisis probit untuk menentukan dosis efektif.

Hasil penelitian didapatkan kadar rata-rata ALP kelompok kontrol sebesar 41,36 U/L, kelompok kontrol negatif sebesar 110,97 U/L, kelompok ekstrak dosis 1,05 mg/20gBB sebesar 79,26 U/L, kelompok ekstrak dosis 2,1 mg/20gBB sebesar 71,34 U/L, kelompok ekstrak dosis 4,2 mg/20gBB sebesar 66,51 U/L, kelompok ekstrak dosis 8,4 mg/20gBB sebesar 62,82 U/L dan kelompok ekstrak dosis 16,8 mg/20gBB sebesar 47,21 U/L. Hasil analisis data didapatkan data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan hasil signifikan dengan $p < 0,05$. Uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K(-) dan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun bayam merah (K1-K5). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak etanol daun bayam merah dengan mencegah peningkatan kadar ALP serum mencit yang diinduksi isoniazid. Hasil uji analisis probit didapatkan bahwa ED95 ekstrak etanol daun bayam merah sebesar 6,75 mg/20gBB dapat mencegah peningkatan ALP pada 95% mencit pada penelitian ini, sehingga dosis 6,75 mg/20gBB merupakan dosis efektif ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor mencit yang diinduksi INH.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar ALP Mencit yang Diinduksi Isoniazid”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
3. Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perheparannya dalam penulisan tugas akhir ini;
4. dr. Ika Rahmawati S, M. Biotech dan dr. Dini Agustina, M. Biomed sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bu Widi, Mbak Nuris, Pak Maryono dan Mbak Lilik yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
6. Bapak Sutiyono dan Ibu Sulastri, orang tua tercinta atas kasih sayang, dukungan moril, materi, doa dan pengorbanan;
7. Analia Deviyana, Chika Ayu Desanasari, Tifana Hellen, Garnesa Rizki sebagai saudara kandung saya yang selalu memberikan dukungan dan doanya;
8. Rekan kerja saya Emma, Latifatu, dan Buyung yang telah membantu dan selalu memberikan dorongan serta semangat selama penelitian;

9. Ayak, Asis, Cicik, Leny, Khrisna, Revin, Intan, Haqiqi, Putri Maura, Pudyo, Risa, Tiara, dan Reza sebagai sahabat yang selalu memberikan semangat dan doa untuk saya;
10. Teman-teman angkatan 2013 tercinta yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengaharap kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

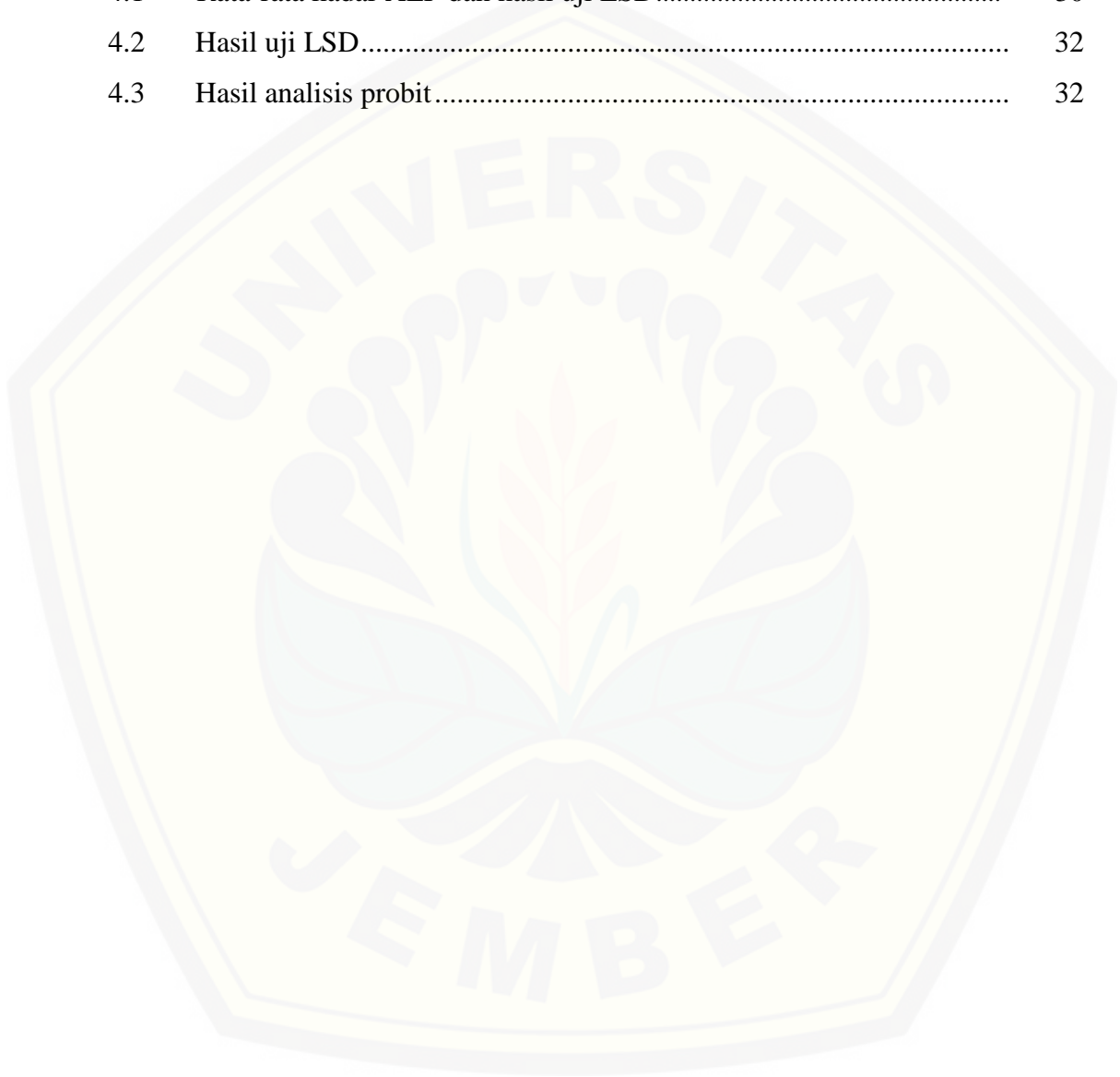
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif	4
BAB 2. TINAJUAN PUSTAKA	5
2.1 Drug Induced Liver Injury	5
2.1.1 Tipe <i>Drug Induced Liver Injury</i>	5
2.2 Isoniazid	6

2.2.1	Farmakokinetik.....	7
2.2.2	Cara Kerja.....	8
2.2.3	Efek samping.....	8
2.2.4	Mekanisme DILI oleh Isoniazid.....	9
2.3	Alkalin Fosfatase	10
2.4	Bayam Merah (<i>Amaranthus tricolor</i> L.)	11
2.4.1	Taksonomi Bayam	11
2.4.2	Kandungan Nutrisi dan Manfaat Bayam Merah...	12
2.5	Kerangka Konsep	14
2.6	Hipotesis	16
BAB 3.	METODE PENELITIAN	17
3.1	Jenis Penelitian	17
3.2	Rancangan Penelitian	17
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	18
3.4	Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.5	Variabel Penelitian	19
3.5.1	Variabel Bebas.....	19
3.5.2	Variabel Terikat.....	19
3.5.3	Variabel Terkendali	19
3.6	Definisi Operasional	20
3.6.1	Ekstrak Etanol Daun bayam merah (<i>Amaranthus tricolor</i> L.)	20
3.6.2	Kadar ALP.....	21
3.6.3	Hewan Coba	21
3.6.4	Dosis dan Frekuensi pemberisn INH.....	21
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	22
3.7.1	Alat Penelitian	22
3.7.2	Bahan Penelitian	22
3.8	Prosedur Penelitian	22
3.8.1	Pemilihan Hewan Coba	22

3.8.2	Adaptasi Hewan Coba	22
3.8.3	Pembagian Kelompok Perlakuan.....	23
3.8.4	Pembuatan Ekstrak Daun Bayam Merah.....	24
3.8.5	Penginduksian Isoniazid (INH).....	24
3.8.6	Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (<i>Amaranthus tricolor</i> L.).....	24
3.8.7	Pemeriksaan ALP.....	24
3.9	Analisis Data	25
3.10	Uji Kelayakan Etik	25
3.11	Alur Penelitian	26
3.11.1	Skema Pembuatan Ekstrak Daun Bayam Merah	26
3.11.2	Skema Perlakuan terhadap Hewan Coba.....	27
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1	Hasil Penelitian	28
4.1.1	Hasil ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (<i>Amaranthus tricolor</i> L.)	28
4.1.2	Hasil Kadar ALP	28
4.2	Analisis Data	30
4.3	Pembahasan	31
BAB 5.	PENUTUP	35
5.1	Kesimpulan	35
5.2	Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Pembagian kelompok perlakuan	23
4.1 Rata-rata kadar ALP dan hasil uji LSD.....	30
4.2 Hasil uji LSD.....	32
4.3 Hasil analisis probit.....	32



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur molekul isoniazid	7
2.2 <i>Amaranthus tricolor</i> L.....	11
2.3 Kerangka konsep	14
3.1 Skema rancangan penelitian.....	17
3.2 Skema pembuatan ekstrak daun bayam merah	27
3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba	28
4.1 Grafik rata-rata kadar ALP.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Perhitungan dosis.....	41
3.2 Volume penyondean berdasarkan berat badan hewan coba.....	44
3.3 Volume maksimal larutan yang dapat diberikan pada hewan coba.....	45
3.4 Surat identifikasi tanaman bayam (<i>Amaranthus tricolor</i> L.).....	46
3.5 Perlakuan hewan coba.....	47
3.6 Pembuatan ekstrak etanol daun bayam merah.....	48
3.7 Tabel konversi perhitungan dosis.....	49
3.8 Pemeriksaan kadar alp.....	50
3.9 Persetujuan etik penelitian.....	51
4.1 Data kadar ALP.....	53
4.2 Hasil uji normalitas data (<i>Shapiro Wilk</i>).....	54
4.3 Hasil uji homogenitas.....	54
4.4 Hasil uji <i>one way annova</i> dan LSD.....	55
4.5 Analisis probit.....	57

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Drug Induced Liver Injury (DILI) atau hepatotoksitas imbas obat merupakan komplikasi potensial pada obat yang diberikan karena hepar merupakan pusat disposisi metabolik dari semua bahan obat dan bahan-bahan asing yang masuk tubuh (Sudoyo *et al.*, 2009). Insiden DILI belum diketahui secara pasti, survei di dunia menunjukkan bahwa insiden DILI 1:10.000 sampai 1:100.000 pasien. Jumlah aktual dapat jauh lebih besar karena sistem pelaporan yang belum memadai, kesulitan mendeteksi dan kurangnya observasi (Loho & Hasan, 2014). Perkiraan insiden DILI setiap tahunnya dilaporkan sebesar 19,1 kasus per 100.000 pada penduduk Islandia dan 13,9 kasus per 100.000 penduduk Perancis (Licata, 2016).

Prevalensi DILI yang disebabkan oleh obat anti tuberkulosis (OAT) di India sebesar 58%. Resiko DILI lebih besar dari 100 per 100.000 ditemukan pada pengguna isoniazid (INH) (Bjornsson, 2016). Insiden DILI akibat penggunaan INH tunggal sebesar 0,1-0,56%. Berdasarkan data dari *Food and Drug Administration* (FDA) memperkirakan bahwa 23,1 per 100.000 orang meninggal karena penggunaan INH sebagai terapi profilaksis (Ramappa & Aithal, 2012).

DILI akibat INH menyebabkan hepatitis dan kolestasis yang ditandai dengan peningkatan enzim hepar, salah satunya alkalin fosfatase (ALP) (Ndraha, 2013). Hal tersebut dikarenakan target toksisitas INH adalah hepatosit dan endotel saluran empedu (Tasduq *et al.*, 2007). Penelitian lain yang mendukung pernyataan diatas adalah penelitian yang dilakukan oleh Kumar *et al.* (2014) menunjukkan terjadinya peningkatan kadar ALP pada tikus yang diinduksi INH dosis 75 mg/kgBB per oral selama 10 hari dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Mekanisme hepatotoksitas INH terjadi karena terbentuknya asetilhidrazin dan hidrazin oleh enzim N-asetiltransferase 2 dan amidase. Hidrazin mengurangi jumlah glutathion sulhidril (GSH) yang merupakan antioksidan endogen untuk melindungi tubuh dari radikal bebas (Kumar *et al.*, 2014). Radikal bebas menyebabkan keadaan stres oksidatif yang menginduksi aktivasi Ca^{2+} dependent

protein kinase isoform (cPKCs). cPKCs mengubah fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu, seperti sitoskeleton, kanalikular transporter dan komponen *tight junctional* yang mengganggu sekresi bilier dan retensi lebih lanjut dari zat terlarut yang mendorong terbentuknya empedu. Hal tersebut menyebabkan terjadinya kolestasis (Pal *et al.*, 2011). Target toksisitas INH di hepatosit dan endotel saluran empedu mengakibatkan terjadinya hepatitis dan kolestasis sehingga dapat meningkatkan kadar ALP (Tasduq *et al.*, 2007).

Berkurangnya antioksidan alami dalam tubuh akibat mekanisme diatas menyebabkan tubuh membutuhkan antioksidan dari luar, yang bisa didapatkan salah satunya dari daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan salah satu tanaman yang sering dikonsumsi dan mudah didapat karena tersebar di daerah subtropis maupun tropis seperti Indonesia. Antioksidan yang terkandung dalam daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah polifenol (flavonoid), betalain, vitamin A, vitamin B6, vitamin C, klorofil, β -karoten dan riboflavin (Amornrit & Santiyanont, 2015; Rajalaksmi *et al.*, 2011). Cara kerja flavonoid, klorofil, vitamin C dan betalain sebagai antioksidan melalui donor elektron. Antioksidan daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) berfungsi sebagai neuroprotektif dalam menurunkan stres oksidatif dan inflamasi yang disebabkan oleh *Advanced glycation end-products* (AGE) sehingga resiko terjadinya neurodegeneratif menurun (Amornrit & Santiyanont, 2015). Penelitian lain yang dilakukan oleh Al-Dosari (2010) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan dosis 500 mg/kgBB memberikan hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar ALP tikus yang mengalami hepatotoksik karena CCl₄.

Berdasarkan penelitian sebelumnya belum ada yang melakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor akibat INH. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH?
2. Berapa dosis efektif ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH.
- b. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Sebagai informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan daun bayam merah sebagai pilihan suplemen hepatoprotektor.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Drug Induced Liver Injury*

Drug Induced Liver Injury (DILI) atau hepatotoksitas imbas obat merupakan komplikasi potensial yang terjadi pada setiap obat yang diberikan, karena hepar merupakan pusat desposisi metabolik dari semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk tubuh (Sudoyo *et al.*, 2010). Secara umum DILI dibagi menjadi dua yaitu intrinsik/*dose-dependent* dan idiosinkrasi/*dose-independent*. DILI intrinsik adalah jenis DILI yang tergantung dosis, contohnya parasetamol dosis tinggi menyebabkan hepatotoksik akut. Sedangkan obat yang tidak dapat diprediksi toksisitasnya karena tidak tergantung dosis disebut DILI idiosinkrasi, contohnya INH (Licata, 2016).

2.1.1 Tipe *Drug Induced Liver Injury*

a. Kerusakan hepatoseluler

Kerusakan hepatoseluler ditandai dengan peningkatan signifikan aminotransferase dalam serum dan biasanya juga disertai peningkatan total bilirubin dan alkaline fosfatase. Kerusakan hepatoseluler dapat dibagi kembali dalam subdivisi berdasarkan kerusakan histologis dan gejala kliniknya, yaitu nekrosis sentrolobular, steatohepatitis, fosfolipidosis, dan kerusakan hepatoseluler secara umum (Kosanam & Boyina, 2015).

b. Nekrosis sentrolobuler

Nekrosis sentrolobuler disebabkan oleh metabolit toksik dari obat. Kerusakannya tersebar dari luar sampai ditengah lobus hepar. Manifestasi klinis nekrosis sentrolobular yang ringan biasanya asimtomatis, namun dalam keadaan berat berat manifestasinya berupa mual, muntah, nyeri abdomen atas, dan jaundice. Nekrosis sentrolobular ini biasanya berkaitan karena dosis asetaminofen (Kosanam & Boyina, 2015).

c. Steatohepatitis

Steatohepatitis atau steatonekrosis adalah tipe khusus nekrosis akut karena akumulasi asam lemak di hepatosit. Obat atau metabolitnya menyebabkan

steatonekrosis dengan cara mempengaruhi oksidasi asam lemak di mitokondria hepatosit. Steatohepatitis ini biasanya disebabkan oleh alkohol (Kosanam & Boyina, 2015).

d. Fosfolipidosis

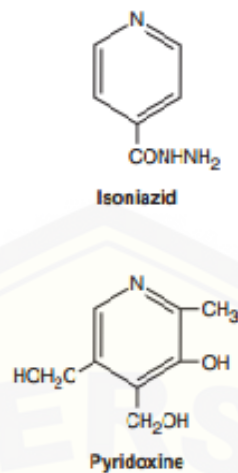
Fosfolipidosis merupakan akumulasi fosfolipid yang biasanya berada di lisosom hepatosit. Reaksi ini dihubungkan dengan konsumsi obat amiodaron (Kosanam & Boyina, 2015).

e. Kolestasis

Kerusakan hepar yang melibatkan sistem kanalikuli disebut kolestasis. Kolestasis dapat mengganggu filamen aktin subseluler yang mengelilingi kanalikuli sehingga menghambat aliran empedu. Ketidakmampuan hepar untuk mengalirkan empedu karena terakumulasinya toksin asam empedu dalam hepar (intrahepatik) (Kosanam & Boyina, 2015). DILI tipe kolestasis ini ada yang tidak disertai hepatitis dan ada yang disertai hepatitis. Contoh obat yang menyebabkan kolestasis dan hepatitis adalah INH, halotan, metildopa, antidepresan trisiklik, asam klavulanat, antibiotik makrolid, OAINS, klorpromazin, karbamezepin. Sedangkan obat yang menimbulkan kolestasis tanpa hepatitis adalah steroid anabolik, estrogen, tamoksifen, azatioprin, siklosporin, nevirapin, glimepirid, metolazon (Ndraha, 2013).

2.2 Isoniazid

Isoniazid atau isonikotinil hidrazin (INH) merupakan obat yang banyak digunakan sebagai terapi lini pertama penyakit tuberkulosis. Obat ini memiliki molekul kecil, larut dalam air dan struktur kimianya mirip dengan piridoksin (Katzung *et al.*, 2012). Struktur kimia INH ditampilkan pada Gambar 2.1. Terapi tunggal INH digunakan pada profilaksis tuberkulosis pada anak (Kemenkes RI, 2011).



Gambar 2.1 Struktur kimia INH (Katzung *et al.*, 2012)

2.2.1 Farmakokinetik

Isoniazid mudah diabsorpsi pada pemberian oral maupun parenteral. Absorpsi INH menjadi terganggu jika dikonsumsi bersamaan dengan makanan, maka lebih baik diberikan saat lambung kosong. Kadar puncak dicapai dalam waktu 1-2 jam setelah pemberian oral. INH mengalami asetilasi di hepar. Kecepatan metabolisme ini dipengaruhi oleh faktor genetik yang secara bermakna mempengaruhi kadar obat dalam plasma dan waktu paruhnya (Syarif *et al.*, 2011). Individu dapat diklasifikasikan sebagai asetilator cepat atau lambat. Waktu paruh INH pada asetilator cepat selama satu jam, sedangkan asetilator lambat selama 2-5 jam (Wang *et al.*, 2016). Hal ini mempengaruhi laju pembersihan INH dari darah. Asetilator lambat lebih rentan mengalami efek toksik tertentu INH karena obat ini akan menetap lebih lama pada kelompok orang tersebut (Murray *et al.*, 2006)

Antara 75-95% INH diekskresikan melalui urin dalam waktu 24 jam dan hampir seluruhnya dalam bentuk metabolit. Ekskresi terutama dalam bentuk asetil isoniazid yang merupakan metabolit proses asetilasi, asam nikotinat yang merupakan metabolit proses hidrolisis. Bentuk isonikotinil glisin dan isonikotinil hidrazon, dan N-metil isoniazid diekskresikan dalam jumlah kecil (Syarif *et al.*, 2011).

2.2.2 Cara Kerja

Mekanisme kerja INH dengan menghambat sintesis asam mikolat, yaitu komponen dinding sel *Mycobacterium*. INH merupakan prodrug yang diaktivasi oleh KatG, suatu enzim katalase peroksidase *Mycobacterium*. Bentuk aktivasi INH kemudian membentuk ikatan kovalen dengan *acyl carrier protein (AcpM)* dan KasA, *beta ketoacyl carrier protein synthetase*, yang menghambat sintesis asam mikolat dan membunuh sel (Katzung *et al.*, 2012).

2.2.3 Efek Samping

Efek samping yang terjadi akibat penggunaan INH berupa reaksi imunologik yang ditandai dengan timbulnya demam dan kemerahan pada kulit, bahkan pernah dilaporkan bahwa INH ini menyebabkan sistemik lupus eritomatos (Katzung *et al.*, 2012). INH termasuk obat yang menginduksi terjadinya DILI (Loho & Hasan, 2014).

2.2.4 Mekanisme DILI oleh Isoniazid

N-asetiltransferase 2 dan amidase memetabolisme INH menjadi asetilhidrazin dan hidrazin. Asetilhidrazin dihidrolisis menjadi hidrazin (Wang *et al.*, 2016). Hipotesis tentang mekanisme DILI akibat INH masih belum sepenuhnya jelas, namun banyak teori yang menjelaskan bahwa terbentuknya hidrazin merupakan agen penyebab DILI. Hidrazin dapat mengurangi jumlah glutathion sulfhidril (GSH) (Kumar *et al.*, 2014). Orang dengan asetilasi lambat konsentrasi hidrazinnya lebih tinggi daripada asetilasi cepat (Metushi *et al.*, 2011).

GSH merupakan antioksidan endogen non enzimatik. Peran GSH sebagai pelindung utama terhadap stres oksidatif meliputi kofaktor dari beberapa enzim detoksifikasi terhadap stres oksidatif, misalnya glutathion peroksidase (GPx), glutathion transferase; berpartisipasi dalam transportasi asam amino melalui membran plasma; mengikat langsung radikal hidroksil, mendetoksifikasi hidrogen peroksida dan lipid peroksida dengan mengkatalisis kerja glutathion peroksidase;

mampu meregenerasi antioksidan yang paling penting yaitu vitamin C dan E (Valko, 2006).

Penurunan jumlah GSH menyebabkan pertahanan tubuh berkurang sehingga radikal bebas tidak dapat diredam. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan (Sisein, 2014), sedangkan oksidan merupakan senyawa penerima elektron. Kemiripan sifat antara radikal bebas dan oksidan terletak pada agresivitas untuk menarik elektron disekelilingnya. Soeatmaji (dalam Winarsi, 2007) mengatakan bahwa elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron yang berada di sekitarnya sehingga terbentuklah senyawa radikal baru. Radikal bebas yang terbentuk dapat merusak tiga senyawa penting yang dapat mempertahankan integritas sel yaitu lipid, DNA dan protein.

Radikal bebas menyebabkan keadaan stres oksidatif yang menginduksi aktivasi Ca^{2+} dependent protein kinase isoform (cPKCs). cPKCs mengubah fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu, seperti sitoskeleton, kanalikular transporter dan komponen *tight junctional* yang mengganggu sekresi bilier dan retensi lebih lanjut dari zat terlarut yang mendorong terbentuknya empedu. Hal tersebut menyebabkan terjadinya kolestasis (Pal *et al.*, 2011).

INH toksik di hepatosit dan endotelium saluran empedu yang mengakibatkan terjadinya hepatitis dan kolestasis (Tasduq *et al.*, 2007). Mekanisme DILI akibat INH yang paling berperan adalah hidrazin. Hidrazin menyebabkan gangguan homeostatis GSH sehingga terjadi ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan di hepar. Hal ini menyebabkan hepatitis dan kolestasis yang mengakibatkan peningkatan alkalin fosfatase (ALP) (Kemenkes, 2011). Berdasarkan penelitian oleh Kumar *et al.* (2014) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar ALP pada serum mencit yang diinduksi INH dosis 75 mg/kgBB per oral dibandingkan kelompok kontrol. Penelitian lain yang dilakukan oleh Tasduq *et al.* (2007), terjadi peningkatan alkalin fosfatase (ALP) lebih tinggi pada tikus yang diinduksi INH tunggal. Hasil penelitian oleh Palanisamy &

Manian (2011) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar ALP tikus yang diinduksi INH dosis 100 mg/kgBB intraperitoneal selama 21 hari yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

2.3 Alkalin Fosfatase

Alkalin fosfatase (ALP) merupakan enzim yang aktif dalam berbagai jenis organisme, dari bakteri sampai mamalia (Fernandez, 2007). Enzim ini berperan dalam mempercepat hidrolisis fosfat organik dengan melepaskan fosfat anorganik. ALP terdapat dalam banyak jaringan, terutama di hepar, tulang, mukosa usus dan plasenta (Panjaitan *et al.*, 2007). ALP di hepar, tulang dan ginjal diperkirakan berasal dari gen yang sama tetapi alkalin fosfatase di usus dan plasenta berasal dari gen yang berbeda. ALP di hepar dapat ditemukan secara histokimia di mikrovili kanalikuli empedu dan permukaan sinusoid hepatosit (Thapa & Walia, 2007). ALP terlibat dalam transpor kolin melintasi membran kanalikuli hepatosit dan permukaan luminal sel epitel empedu (Fernandez, 2007).

Pemeriksaan ALP biasanya digunakan sebagai indikator biokimia pada penyakit hepar dan tulang. Peningkatan ALP dalam serum atau cairan tubuh lain bisa terjadi pada keadaan fisiologis maupun patologis. Secara fisiologis ALP serum meningkat pada wanita hamil, ibu menyusui, diet tinggi lemak, dan pada anak-anak yang dalam masa pertumbuhan (Fernandez, 2007). Sedangkan secara patologis, peningkatan ALP terjadi karena penyakit hepar dan non hepar. Peningkatan ALP karena penyakit hepar terjadi pada kondisi obstruksi saluran empedu, kolangitis, sirosis, hepatitis metastase, hepatitis, dan kolestasis (Kemenkes, 2011). Untuk membedakan ALP hepar atau tulang dapat menggunakan elektroforesis untuk mengetahui isoenzim ALP pada penyakit hepar atau tulang. ALP1 menandakan penyakit hepar dan ALP2 menandakan penyakit tulang (Wulandari, 2014).

2.4 Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Bayam merah berasal dari India (*Indian spinach*). Biasanya tumbuh di ladang, pekarangan rumah, pinggir jalan dan tanah tandus. Dapat tumbuh di ketinggian 1-700 mdpl (Utami, 2008). Tanaman bayam merah memiliki ciri berdaun tunggal, ujungnya meruncing, lunak dan lebar. Batangnya lunak dan berwarna putih kemerah-merahan. Buahnya tidak berdaging, tetapi bijinya banyak, sangat kecil, bulat, dan mudah pecah. Tanaman ini memiliki akar tunggang dan berakar samping. Akar sampingnya kuat dan agak dalam. Tanaman ini berbentuk perdu atau semak. Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) atau yang biasa disebut bayam cabut atau bayam sekul ada yang berwarna kemerahan (bayam merah) dan ada juga yang berwarna hijau keputih-putihan (bayam putih). Bayam ini berbunga pada ketiak daun (Sunarjono, 2013). Adapun gambar bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 *Amaranthus tricolor* L. (Amornrit & Santiyanont, 2015).

2.4.1 Taksonomi Bayam Merah (*Amaranthus Tricolor* L.)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryphyllales
Famili	: Amaranthaceae
Genus	: <i>Amaranthus</i>

Spesies : *Amaranthus tricolor* L. (Saparinto, 2013).

2.4.2 Kandungan Nutrisi dan Manfaat Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) mengandung vitamin A, vitamin B6, vitamin C, klorofil, β -karoten, dan riboflavin (Rajalaksmi *et al.*, 2011). Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) juga mengandung alkaloid, glikosida, flavonoid, tanin, antrakuinon, saponin, minyak volatil, kumarin, sterol, dan triterpen (Al-Dosari, 2010). Studi lain menyebutkan bahwa kandungan dalam daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terdapat karbohidrat, flavonoid seperti betasianin A dan B, amaranthin, isoamaranthin, quercetin dan beberapa senyawa sterol seperti spinasterol, kolesterol, kampestrol, 24-metilen kolesterol, stigmasterol, sitosterol, fukosterol dan isofukosterol (Rahmatullah *et al.*, 2013).

Kandungan antioksidan dalam daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terdiri dari golongan fenolik (flavonoid) dan betalain (Amornrit & Santiyanont, 2015). Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) mengandung 485 mg/100g senyawa fenolik (Rajalaksmi *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan senyawa antioksidan penting golongan fenolik. Flavonoid bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan hidrogennya dan *chellating* ion logam (Kumar & Pandey, 2013).

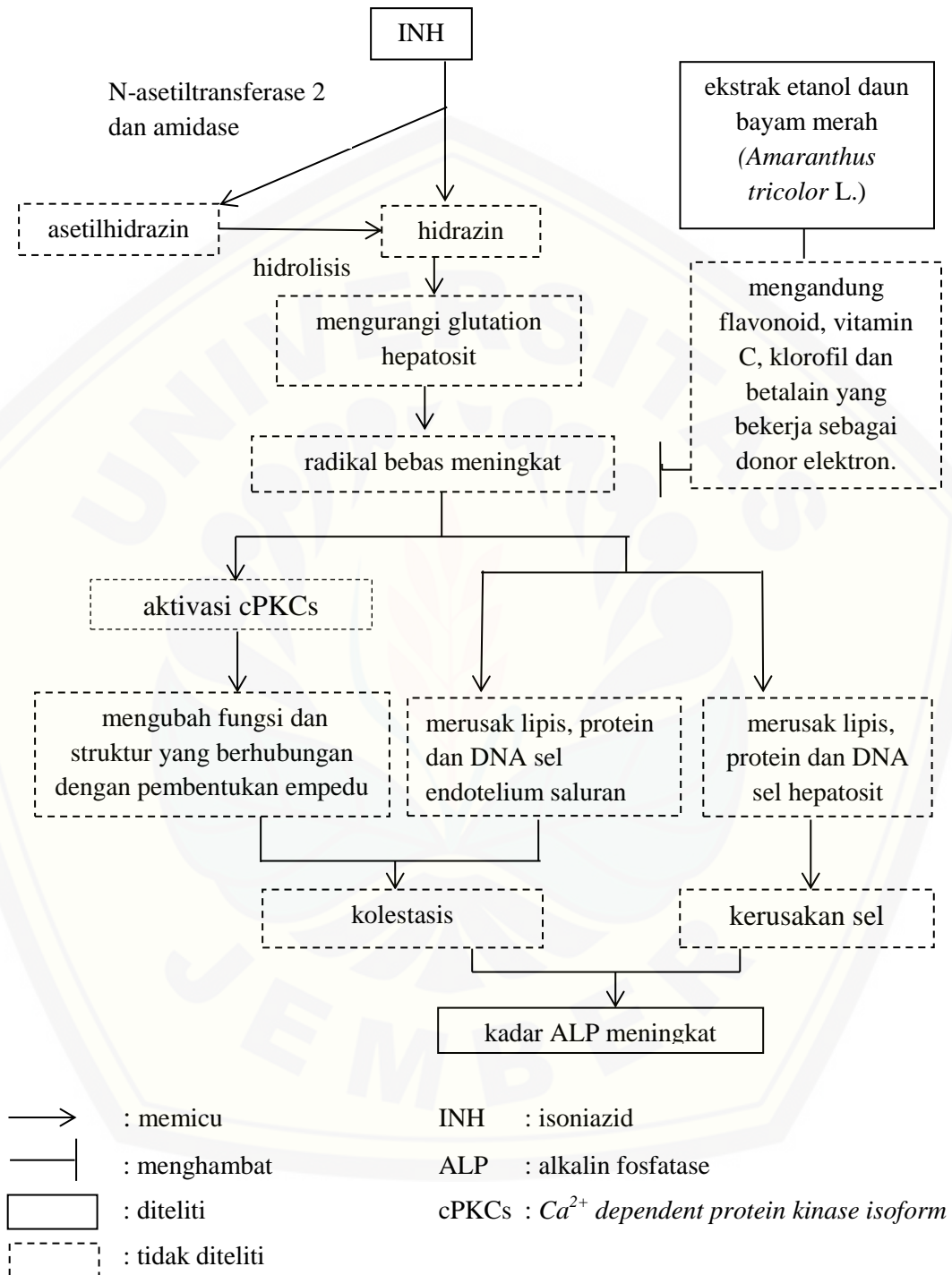
Kandungan vitamin C dalam daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebesar 126 μ g/100g (Rajalaksmi *et al.*, 2011). Mekanisme antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya pada lipid radikal sehingga menghambat kereaktifan lipid radikal (Sisein, 2014). Kemampuan vitamin C sebagai donor elektron membuat vitamin C menjadi sangat efektif sebagai antioksidan karena vitamin C dapat dengan cepat memutus rantai reaksi SOR (Spesies Oksigen Reaktif) dan Spesies Nitrogen Reaktif (Siswanto *et al.*, 2013). Vitamin C bersama NADPH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphatase*) berperan dalam mereduksi vitamin E teroksidasi menjadi vitamin E agar efektivitasnya sebagai antioksidan tetap berlanjut (Valko, 2006).

Senyawa antioksidan lain yang terkandung dalam daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah klorofil. Mekanisme kerja klorofil sebagai

antioksidan dengan cara *scavenge* langsung radikal hidroksil yang dihasilkan dari H_2O_2 . Selain itu, senyawa klorofil mampu mencegah terjadinya reaksi fenton dengan mendonorkan elektronnya ke Fe^{2+} (Hsu *et al.*, 2013). Betalain juga senyawa antioksidan yang terkandung dalam *Amaranthus tricolor* L. Kelompok betalain merupakan pigmen warna tumbuhan, bersifat larut air dan mengandung nitrogen. Betalain berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektronnya (*radical scavenger*) (Cai *et al.*, 2003).

Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sering dimanfaatkan sebagai obat alami, secara empiris untuk mencegah osteoporosis, mengobati penyakit kuning, alergi, menjaga kesehatan mata dan kulit, meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah dan mengobati luka bakar (Kusmiati *et al.*, 2012). Bayam merah termasuk tumbuhan paling penting di Afrika Selatan dan negara lain karena digunakan dalam pengobatan hemoroid, sakit gigi, disentri, diuretik, dan sebagai agen hepatoprotektor (Tharun *et al.*, 2012). Antioksidan daun bayam merah berfungsi sebagai neuroprotektif dalam menurunkan stres oksidatif dan inflamasi yang disebabkan oleh *Advanced glycation end-products* (AGE) sehingga resiko terjadinya neurodegeneratif menurun (Amornrit & Santiyanont, 2015).

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka konsep

N-asetiltransferase 2 dan amidase memetabolisme INH menjadi asetilhidrazin dan hidrazin. Asetilhidrazin dihidrolisis menjadi hidrazin (Wang *et al.*, 2016). Hidrazin dapat mengurangi jumlah glutathion sulfhidril (GSH) (Kumar *et al.*, 2014). GSH merupakan antioksidan alami dalam tubuh, karena jumlahnya berkurang maka terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Hal ini menyebabkan radikal bebas meningkat. Radikal bebas merupakan elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya sehingga terbentuklah senyawa radikal baru. Radikal bebas yang terbentuk dapat merusak tiga senyawa penting yang dapat mempertahankan integritas sel yaitu lipid, DNA dan protein.

Target toksisitas INH di hepatosit dan saluran empedu yang mengakibatkan terjadinya hepatitis dan kolestasis. Radikal bebas mengaktivasi cPKCs sehingga mengubah fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu, seperti sitoskeleton, kanalikular transporter dan komponen *tight junctional* yang mengganggu sekresi bilier dan retensi lebih lanjut dari zat terlarut yang mendorong terbentuknya empedu. Hal tersebut menyebabkan kolestasis. Keadaan ini ditandai dengan meningkatnya kadar alkalin fosfatase (ALP).

Proses reaksi radikal bebas dapat diredam dengan pemberian antioksidan alami dalam ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Kandungan daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang berperan sebagai antioksidan yaitu flavonoid, klorofil, vitamin C, dan betalain sebagai donor elektron sehingga radikal bebas tidak mencari elektron pada atom lain dan rantai reaksi radikal bebas terputus. Berkurangnya radikal bebas karena antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) diharapkan mampu mencegah hepatotoksik dan kolestasis sehingga mencegah peningkatan kadar alkalin fosfatase (ALP).

2.6 Hipotesis Penelitian

Terdapat pengaruh pada pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH.



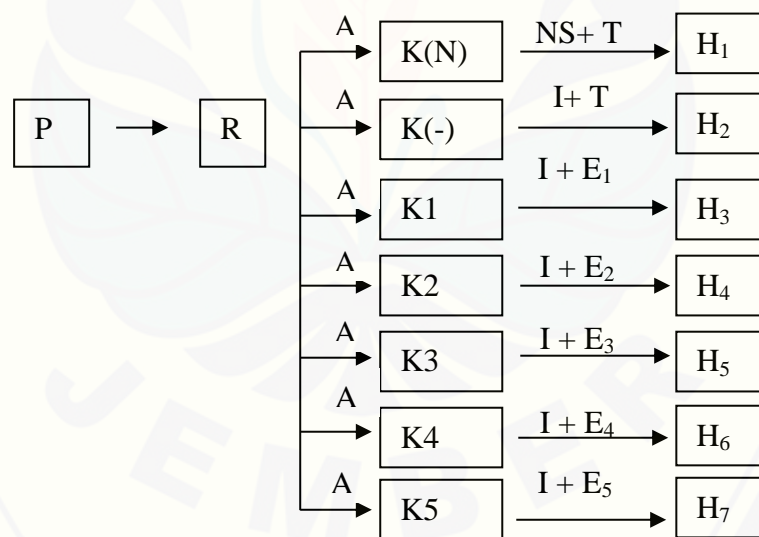
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental murni (*true experimental laboratories*) dengan rancangan penelitian *post test only control group design*.

3.2 Rancangan Penelitian

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



- P : Populasi
- R : Randomisasi
- A : Adaptasi pada hari ke 1 sampai hari ke-7
- K(N) : Kelompok kontrol
- K(-) : Kelompok kontrol negatif
- K1 : Kelompok perlakuan 1
- K2 : Kelompok perlakuan 2
- K3 : Kelompok perlakuan 3
- K4 : Kelompok perlakuan 4
- K5 : Kelompok perlakuan 5

- NS : Pemberian normal saline pada hewan coba
 T : Pemberian tween 80 1% pada hewan coba
 I : Induksi INH 100 mg/kgBB per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-17
 E₁ : Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah 1,05 mg/20gBB per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-17 dan diberikan 2 jam setelah I
 E₂ : Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah 2,1 mg/20gBB per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-17 dan diberikan 2 jam setelah I
 E₃ : Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah 4,2 mg/20gBB per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-17 hari dan diberikan 2 jam setelah I
 E₄ : Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah 8,4 mg/ 20gBB per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-17 dan diberikan 2 jam setelah I
 E₅ : Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah 16,8 mg/ 20gBB per oral pada hari ke-8 sampai hari ke-17 dan diberikan 2 jam setelah I
 H₁ : Kadar ALP K(N)
 H₂ : Kadar ALP K(-)
 H₃ : Kadar ALP K1
 H₄ : Kadar ALP K2
 H₅ : Kadar ALP K3
 H₆ : Kadar ALP K4
 H₇ : Kadar ALP K5

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

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

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

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

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

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

$$r \geq 4$$

Pada rumus tersebut, t adalah jumlah perlakuan dan r adalah banyaknya replikasi setiap kelompok perlakuan. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 4 ekor mencit untuk 7 kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 28 ekor mencit. Teknik random sederhana (*simple random sampling*) dilakukan dengan secara acak meletakkan satu per satu mencit ke dalam 7 kotak hingga masing-masing kotak berisi 4 mencit, kemudian kotak-kotak tersebut diundi untuk menentukan kelompoknya.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan mencit, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeriksaan ALP mencit. Waktu pelaksanaan adalah bulan Oktober 2016.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

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

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar alkalin fosfatase (ALP) pada mencit.

3.5.3 Variabel Terkendali:

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. usia hewan coba;
- b. jenis kelamin hewan coba;
- c. berat badan hewan coba;
- d. pemeliharaan dan perlakuan hewan coba;

- e. waktu dan lama perlakuan hewan coba;
- f. dosis dan frekuensi pemberian INH.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Ekstrak Etanol Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah hasil ekstraksi daun bayam merah dengan pelarut etanol 96%. Metode yang digunakan untuk mendapatkan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah melalui metode maserasi. Ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) diberikan kepada mencit setiap hari selama 10 hari setelah 2 jam pemberian INH dengan dosis sebesar 1,05 mg/20gBB; 2,1 mg/20gBB; 4,2 mg/20gBB; 8,4 mg/20gBB; dan 16,8 mg/20gBB; dilarutkan ke 1% tween 80 lalu disondekan secara peroral dengan volume sesuai berat badan per mencit.

Perhitungan dosis dan volume pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) disesuaikan dengan berat badan mencit seperti pada Lampiran 3.1 dan Lampiran 3.2 dengan volume maksimal pemberian per oral mencit menurut Suhardjono (1994) yang dapat dilihat pada Lampiran 3.3. Skala pengukuran ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) termasuk skala nominal. Sebelum diekstraksi, bayam merah dilakukan identifikasi tanaman yang dapat dilihat pada Lampiran 3.4. Tabel konversi perhitungan dosis menurut Ngatidjan, 1991 dapat dilihat pada Lampiran 3.5

3.6.2 Kadar ALP

Kadar ALP adalah kadar yang digunakan peneliti untuk menunjukkan efektivitas hepatoprotektor ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Pengukuran enzim ini menggunakan serum mencit yang diambil darahnya melalui jantung mencit sebanyak 1 mL. Kadar enzim tersebut menunjukkan seberapa besar sel hepatosit, membran sinusoid dan kanalikuli yang rusak, semakin tinggi kadar enzim menunjukkan semakin besar kerusakan. Pengukuran kadar ALP menggunakan metode IFCC (*International Federation of Clinical*) dengan mengambil darah mencit disentrifus dan serumnya sebanyak 20

μL , kemudian dicampur dengan reagen ALP (merk DIALAB) sebanyak 1000 μL , setelah itu dinilai *absorbance test*, kemudian dihitung dengan rumus yang sesuai dengan petunjuk di reagen.

3.6.3 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur balb/c jantan karena relatif lebih kuat, tidak terganggu kehamilan, metabolisme INH dan ikatan kovalen pada mikrosom hepar mencit mirip manusia (Metushi & Uetrech, 2013). Mencit berusia 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram karena pada usia tersebut hewan coba telah matur. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba di sebuah kandang berukuran 20x30x45 cm dan beralaskan sekam kering. Pada kandang 7 kelompok hewan coba masing-masing berisi 4 ekor hewan coba dengan pemberian makanan pelet dan minuman berupa air secara *ad libitum* pada semua kandang. Perlakuan hewan coba dilakukan selama 10 hari setelah 7 hari diadaptasi.

3.6.4 Dosis dan Frekuensi Pemberian Isoniazid (INH)

Dosis INH yang digunakan pada penelitian ini adalah 100 mg/kgBB pada mencit yang dilarutkan dalam normal saline, diberikan secara oral dengan alat sonde satu kali sehari selama 10 hari. Perhitungan dosis dan volume pemberian INH disesuaikan dengan berat badan mencit seperti pada Lampiran 3.1 dan volume maksimal pemberian per oral pada mencit pada Lampiran 3.2. INH yang digunakan dalam bentuk tablet generik yang diproduksi oleh Kimia Farma dengan sediaan 100 mg dan didapatkan di apotek terdekat.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Alat untuk pemeliharaan mencit adalah bak plastik, penutup kawat, tempat makan, botol minum, dan label;

- b. Alat untuk pembuatan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah selep, timbangan digital, *rotary evaporator*, tabung erlenmeyer, toples kaca, oven, corong, kertas saring, dan pengaduk;
- c. Alat untuk pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*;
- d. Alat untuk pemberian INH adalah mortar dan stemper, *beaker glass*, pengaduk, spuit sonde, dan *handscoon*;
- e. Alat untuk mengambil darah mencit adalah papan fiksasi, spuit, dan *handscoon*, *scalpel*;
- f. Alat untuk mengukur kadar ALP adalah cuvet, spektrofotometer, tabung reaksi, tabung *ependorf*, vortex, rak, mikropipet, *blue tip*, dan *yellow tip*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

- a. Bahan untuk pemeliharaan mencit adalah makanan turbo 521 bentuk pellet, air, dan sekam;
- b. Bahan untuk ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah daun bayam merah dan etanol 96%;
- c. Bahan untuk menyonde adalah INH, ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.), tween 80 1% dan normal saline;
- d. Bahan untuk mengukur kadar ALP adalah reagen dan serum darah mencit.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pemilihan Hewan Coba

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

3.8.2 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas

Jember untuk menyesuaikan dengan lingkungan baru. Makanan turbo 521 bentuk pellet dan minuman air yang diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang. Dokumentasi perlakuan hewan coba dapat dilihat pada Lampiran 3.6.

3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

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

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Nama Kelompok	Perlakuan yang Diberikan
Kelompok K _(N)	Pemberian normal saline dan tween 80 1%
Kelompok K ₍₋₎	Pemberian INH 100 mg/ kgBB dan tween 80 1%
Kelompok K ₁	Pemberian INH 100 mg/ kgBB dan ekstrak daun bayam merah 1,05 mg/20gBB
Kelompok K ₂	Pemberian INH 100 mg/ kgBB dan ekstrak daun bayam merah 2,1 mg/20gBB
Kelompok K ₃	Pemberian INH 100 mg/ kgBB dan ekstrak daun bayam merah 4,2 mg/20gBB
Kelompok K ₄	Pemberian INH 100 mg/ kgBB dan ekstrak daun bayam merah 8,4 mg/20gBB
Kelompok K ₅	Pemberian INH 100 mg/ kgBB dan ekstrak daun bayam merah 16,8 mg/20gBB

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

Daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dicuci bersih dengan air, dikeringkan dengan oven. Kemudian dihaluskan menggunakan selep hingga didapatkan serbuk halus. Selanjutnya serbuk daun bayam merah sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam maserator, setelah itu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 750 mL (dengan perbandingan 1:7,5 untuk mendapatkan hasil yang optimal), didiamkan 72 jam. Setelah itu dilakukan penampungan filtrat. Ampas yang didapatkan dari hasil penyaringan kemudian dimaserasi ulang (dapat diulangi maksimal 3 kali). Cara maserasi dengan merendamnya menggunakan etanol 96% dan diaduk selama 2-3 menit. Setelah filtrat didapatkan maka dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C hingga pelarut etanol 96% menguap dan didapatkan hasil ekstrak semi kental etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) (Al-Dosari, 2010). Dokumentasi pembuatan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dapat dilihat pada Lampiran 3.7.

3.8.5 Penginduksian INH

Pada penelitian yang dilakukan oleh Dong *et al.* (2014) dosis INH yang digunakan pada mencit adalah 100 mg/kgBB/hari yang dilarutkan dengan normal saline dan diberikan secara oral satu kali sehari selama 10 hari.

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

Ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dilarutkan dalam 0,2 mL/20gBB 1% tween 80 dan diberikan dengan dosis sebesar 1,05 mg/20gBB, 2,1 mg/20gBB, 4,2 mg/20gBB, 8,4 mg/20gBB dan 16,8 mg/20gBB peroral dengan alat sonde setiap hari selama 10 hari, setelah 2 jam pemberian INH.

3.8.7 Pemeriksaan kadar ALP

Rekomendasi dari *International Federation of Clinical* (IFCC), prinsip pengujian ALP menggunakan *Color^{ALP}* yaitu dengan adanya magnesium dan zink, 4-nitrophenyl phosphate akan dipecah oleh fosfatase menjadi fosfat dan 4-nitrophenol. Prinsip reaksi:



4-nitrophenol yang dihasilkan berbanding lurus dengan aktivitas ALP katalitik. Kadar ALP ditentukan dengan mengukur peningkatan absorbansinya. Prosedur pemeriksaan ALP sebagai berikut:

- a. mempersiapkan alat dan bahan;
- b. mengambil darah dari jantung mencit, kemudian disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit, kemudian diambil serumnya;
- c. mengisi 36 tabung reaksi dengan masing-masing tabung berisi reagen sebanyak 1000 μL ;
- d. meletakkan tabung yang berisi reagen tersebut di dalam waterbath dengan suhu 37 $^{\circ}\text{C}$;
- e. mengukur $\Delta A/\text{min}$ blank dengan cara mencampur 20 μL aquades dengan 1000 μL reagen, pada saat ini mulai menghitung waktu dengan *stopwatch*, lalu di vortex sampai homogen, kemudian dipindahkan ke dalam cuvet dan

dimasukkan ke spektrofotometer dan diamati absorbansinya pada menit pertama, kedua, ketiga, setelah itu dihitung menggunakan rumus;

- f. mengukur $\Delta A/\text{min}$ sampel dengan cara mencampur 20 μL sampel dengan 1000 μl reagen, pada saat ini mulai menghitung waktu dengan *stopwatch*, lalu di votex sampai homogen, kemudian dipindahkan ke dalam cuvet dan dimasukkan ke spektrofotometer dan diamati absorbansinya pada menit pertama, kedua, ketiga, setelah itu dihitung menggunakan rumus.

Dokumentasi pemeriksaan ALP dapat dilihat pada Lampiran 3.8.

3.9 Analisis Data

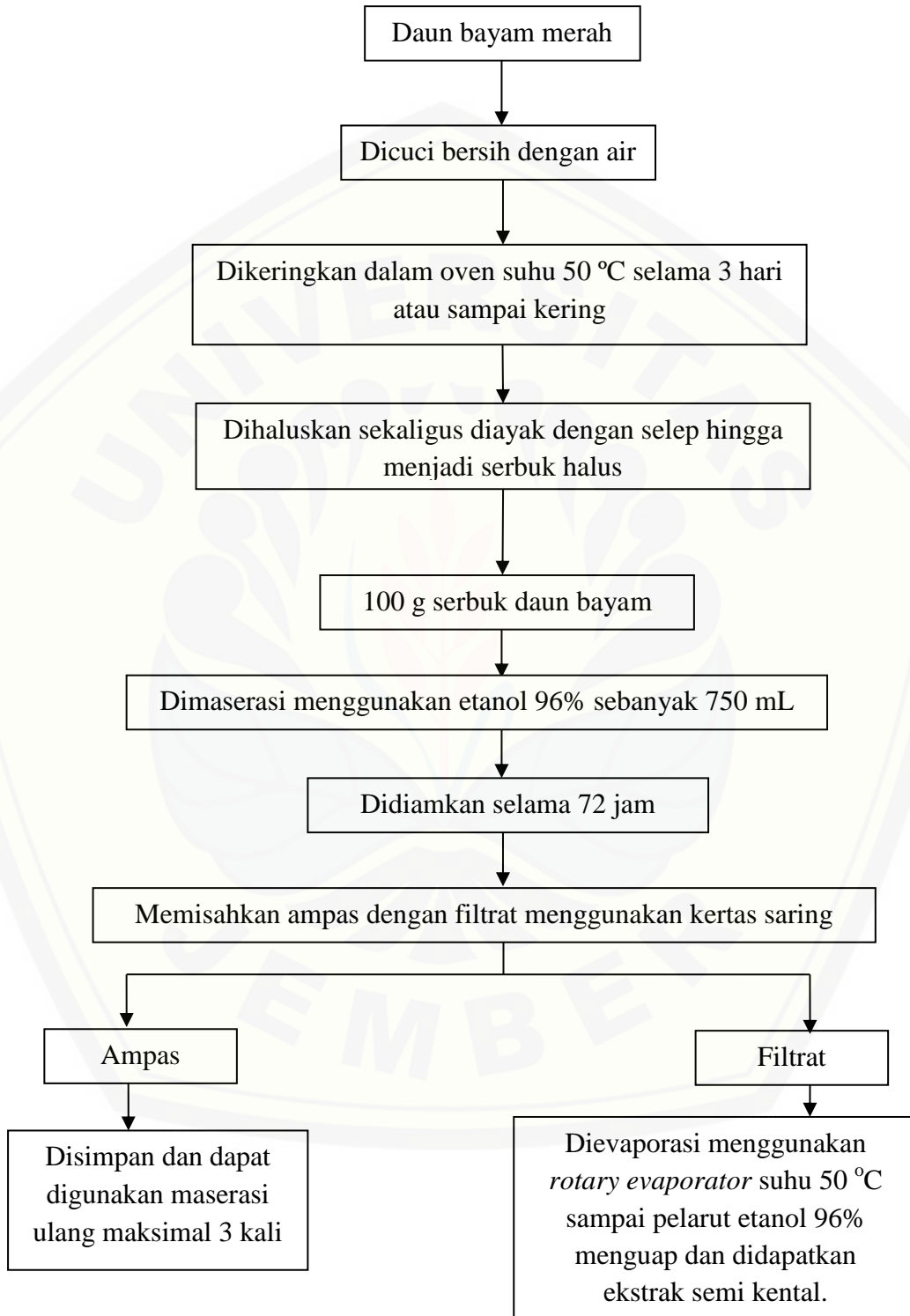
Seluruh data dianalisis secara komputerisasi dan dibantu dengan perangkat lunak berupa program statistik. Uji statistik penelitian ini menggunakan uji *One Way Anova* karena jumlah perlakuan lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji tersebut, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel <50 dan uji *Lavene* untuk mengetahui homogenitas. Apabila data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* ($p < 0.05$) dan dilakukan analisis *Post Hoc*. Apabila tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya data terdistribusi normal dan homogen. Apabila data hasil transformasi tidak terdistribusi normal dan homogen, maka alternatifnya dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Selain itu, statistik yang digunakan untuk menentukan dosis efektif ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus Tricolor L.*) adalah analisis probit.

3.10 Uji Kelayakan Etik

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

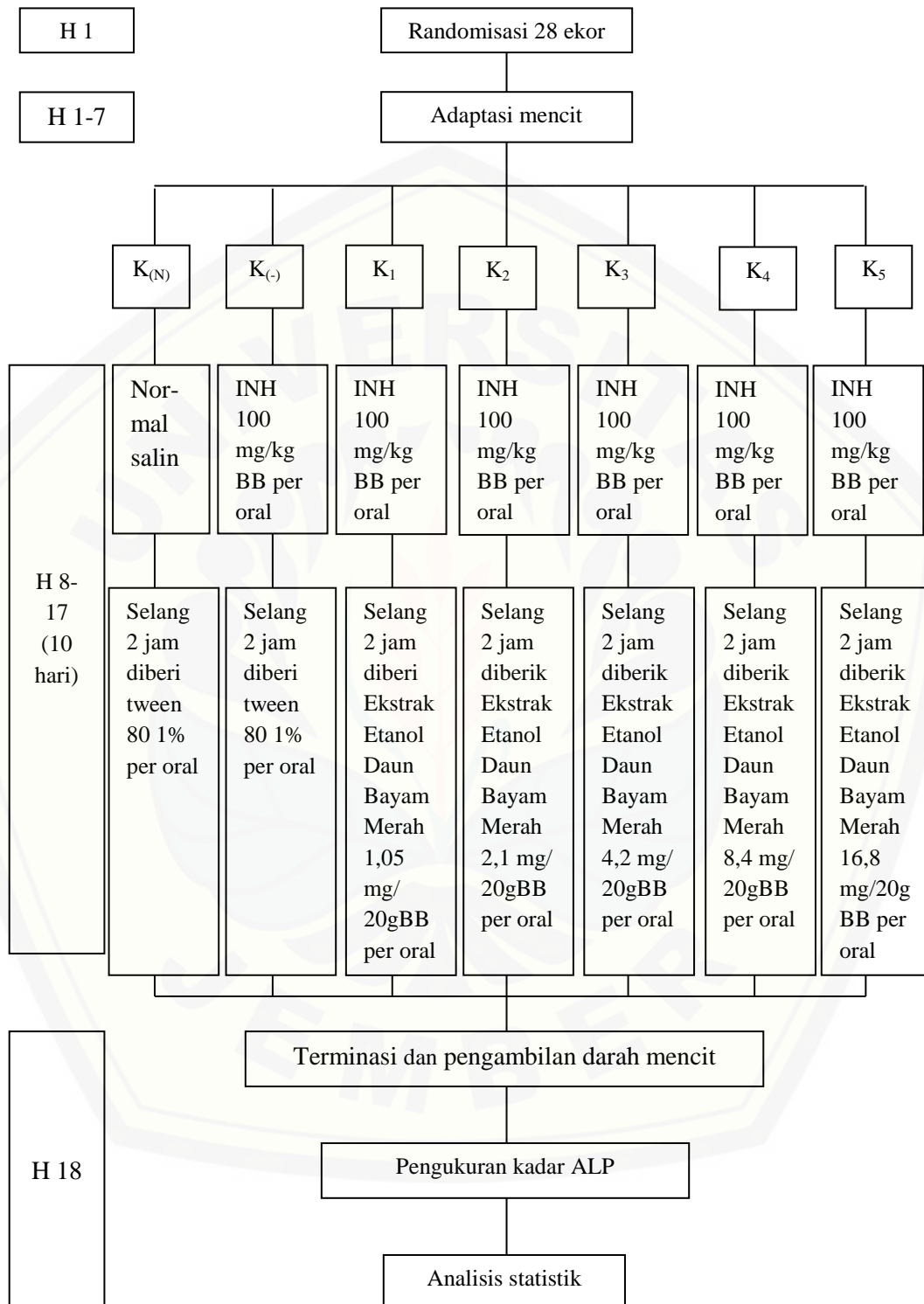
3.11 Alur Penelitian

3.11.1 Skema Pembuatan Ekstrak Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.)

3.11.2 Skema Perlakuan terhadap Hewan Coba



Gambar 3.3 Skema perlakuan terhadap hewan coba

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) berpengaruh mencegah peningkatan kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH.
2. Dosis efektif ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor mencit yang diinduksi INH sebesar 6,75 mg/20gBB.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap hepatotoksik akibat INH dengan menilai kadar katalase dan GSH yang merupakan antioksidan alami tubuh.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.).
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang dikombinasikan dengan silymarin (hepatoprotektor yang sekarang digunakan).

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dosari, M., 2010. The effectiveness of ethanolic extract of *Amaranthus tricolor* L. : a natural hepatoprotective agent. *American Journal of Chinese Medicine*, 38(6): 1051-1064.
- Amornrit, W., dan R. Santianont. 2015. Effect of amaranthus on advanced glycation end-products induced cytotoxicity and proinflammatory cytokine gene expression in SH-SY5Y cells. *Molecules* 20: 17288-17308.
- Bjornsson, E. S. 2016. Hepatotoxicity by drugs: the most common implicated agents. *International Journal of Molecular Science*. 224: 1-7.
- Cai, Y., M. Sun, dan H. Corke. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Dahlan, S. 2014. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Dong, Y., J. Huang, X. Lin, S. Zhang, Y. Jiao, T. Liang. 2014. Hepatoprotective effects of *Yulangsan polysaccharide* against isoniazid and rifampicin-induced liver injury in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 152: 201-206.
- Fernandez, N. J. 2007. Alkaline phosphatase: beyond the liver. *Researchgate*: 223.
- Hsu, Y. C., P. Y. Chao, S. P. Hu, dan C. M. Yang. 2013. The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. *Food and Nutrition Sciences*. 1-8.
- Katzung, B. G., S. B. Masters, dan A. J. Trevor. 2012. *Basic and Clinical Pharmacology*. Twelfth Edition. New York: The Mc Graw Hill.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Pedoman Interpretasi Data Klinik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Pedoman Nasional Pengendalian Tuberculosis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kosanam, S., dan R. Boyina. 2015. Drug induced liver injury: a review. *International Journal of Pharmacological Research*. 5(2): 24-30.
- Kumar, S., R. Kumar, A. Dwivedi, dan A. K. Pandey. 2014. In vitro antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activity and in vivo effect of syngonium

phodophyllum and eichornia crassipes leaf extract on isoniazid induce oxidative stress and hepatic marker. *Hindawi*.

Kumar, S., dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoid: an overview. *Hindawi*. 1-16.

Kusmiati, T., Rachmatiah, dan A. A. Pertiwi. 2012. Pengujian ekstrak aseton daun bayam merah (*amaranthus Sp*) sebagai senyawa antiradikal DPPH, antibakteri dan identifikasi senyawa aktif dengan KG SM. *Seminar nasional XI pendidikan biologi FKIP UNS*. 3(22): 138-147.

Licata, A. 2016. Adverse drug reactions and organ damage: the liver. *European Journal of Internal Medicine*. 28: 9-16.

Loho, I. M., dan I. Hasan. 2014. Drug-induced liver injury-tantangan dalam diagnosis. *CDK-214*. 41(3): 167-170.

Metushi, I.G., P. Cai, X. Zhu, T. Nagakawa, dan J.P. Uetrecht. 2011. A fresh look at the mechanism of isoniazid induced-hepatotoxicity. *Clinical Pharmacology and Therapeutic*. 89(6): 911-914.

Metushi, I. G., J. Uetrecht. 2013. Isoniazid-induced liver injury and immune response in mice. *Journa of Immunotoxicology*. 11(4): 383-392.

Murray, R. K., D. K. Granner, dan V. W. Rodwell. 2006. *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC.

Ndraha, S. 2013. Kolestasis intrahepatik. *CDK-20* 40: 567-571.

Ngatidjan. 1991. *Petunjuk Laboratorium: Metode Laboratorium dalam Toksikolog*. Yogyakarta: FK UGM

Pal, S., S. Ghatak, dan A. Chowdhury. 2011. Implications of oxidative stress in pathogenesis of cholestasis. *Tropical Gastroenterology*.

Palanisamy, N., S. Manian. 2011. Protective effects of asparagus racemosus on oxidative damage in isoniazid-induced hepatotoxic rats: an in vivo study. *Toxicology and Industrial Helth*. 28(3): 238-244.

Panjaitan, R. G. P., E. Handharyani, Chaerul, Masriani, Z. Zakiah, dan W. Manalu. 2007. Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida terhadap Fungsi Hepar dan Ginjal Tikus. *Makara Kesehatan*. 11 (1): 11-16.

Price, S. dan L. Wilson. 2002. *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes*. Sixth Edition. London: Elsevier Science. Terjemahan oleh B.U.

- Pendit, H. Hartanto, P. Wulansari, D. A. Mahanani. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rahmatullah, M., M. Hosain, S. Rahman, M. Akter, F. Rahman, F. Rehana, M. Munmun, M. A. Kalpana. 2013. Antihyperglycaemic and antinociceptive activity evaluation of methanolic extract of whole plant of *Amaranthus tricolor* L (Amaranthaceae). *Rahmatullah et al., Afr J Tradit Complement Altern Med*. 10(5): 408-411.
- Rajalaksmi, K., T. Haribabu, dan P. Sudha. 2011. Toxicokinetic studies of antioxidant of *Amaranthus tricolor* and Marigold (*Calendula Officinalis* L.) plants exposed to heavy metal lead. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Science*. 1(2): 105-109.
- Ramappa, V., G.P. Aithal. 2012. Hepatotoxicity related to anti-tuberculosis drugs: mechanism and management. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 3(1): 37-49.
- Saparinto, C. 2013. *Grow Your Own Vegetables-Panduan Praktek Menanam 14 Sayuran Populer di Pekarangan*. Yogyakarta: Penebar Swadaya.
- Sargent, S. 2009. *Liver Diseases*. Oxford: Blackwell.
- Sherwood, L. 2007. *Human Physiology: From Cells to Systems*. Sixth Edition. Singapore: Cengage Learning Asia. Terjemahan oleh B. U. Pendit. 2012. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Singh, A., T. K. Bath, dan O.P. Sharma. 2011. Clinical Biochemistry of hepatotoxicity. *Clinical Toxicology*. 2-19.
- Sisein E. A. 2014. Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*. 2(2): 110-118.
- Siswanto, Budisetyawati, dan F. Ernawati. 2013. Peran Beberapa Zat Gizi Mikro dalam Sistem Imunitas. *Gizi Indonesia*. 36(1): 57-64.
- Snell, R. 2007. *Clinical Anatomy by Systems*. Washington: Lippincott William & Wilkins. Terjemahan oleh L. Sugiharto. 2012. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Sudoyo, A. W., B. Setiyohadi., I. Alwi., M. Simadibrata., S. Setiyati. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Kelima. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Sunarjono, H. 2013. *Bertanam 36 Jenis Sayur*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Syarif, A., Nafrialdi, dan R. Setiabudi. 2011. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FK UI
- Tasduq, S. A., P. Kaiser, S.C. Sharma, dan R. K. Johri. 2007. Potentiation of isoniazid-induced liver toxicity by rifampicin in a combinational therapy of antitubercular drugs (rifampisin, isoniazid, pyrazinamide) in wistar rat: a toxicity profile study. *Hepatology Research*. 37: 845-853.
- Thapa, B. R., dan A. Walia. 2007. Liver Function Test and Their Interpretation. *Indian Journal of Pediatric*. 74: 663-671.
- Tharun, K. N. Rao, S. K. Padhy, S. K. Dinakaran, D. Banji, H. Avasarala, S. Gosh, dan M. S. Prasad. 2012. Pharmacognostic, phytochemical, antimicrobial and antioxidant activity evaluation of amaranthus tricolor linn leaf. *Asian Journal of Chemistry*. 24(1): 455-460.
- Utami, P. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Valko, M. 2006. Free radicals and antioxidants in normal physiological human disease. *Elsevier* 39: 44-84.
- Wang, P., K. Prandhan, X. Zhong, dan X. Ma. 2016. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta Pharmaceutica Sinica B*.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wulandari, R. P. 2014. Efektivitas Ekstral Etanol 80% Daun Katuk (*Sauropus androgenus* (L.) Merr) sebagai Hepatoprotektor dalam Menurunkan Kadar Alkaline Fosfatase (ALP) Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi CCl₄. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Perhitungan Dosis

a. Dosis Isoniazid 100 mg/kgBB/hari

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

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

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

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

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam normal saline. Jika berat badan hewan coba 30 gram maka volume penyondean adalah 0,03. Jadi 12 mg dilarutkan dalam 1,2 mL dengan pemberian isoniazid masing-masing hewan coba sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

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

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

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

$$x = 1,575$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

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

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

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

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

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

$$x = 3,15$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$3,15 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 12,6 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam tween 80 1%. Jika berat badan hewan coba 30 gram, maka volume penyondean sebesar 0,3 mL. Jadi, 12,6 mg ekstrak dilarutkan dalam 1,2 mL tween, dengan pemberian pada masing-masing hewan coba sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

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

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

$$\begin{aligned} \frac{4,2 \text{ mg}}{20 \text{ g}} &= \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ g}} \\ x &= 6,3 \end{aligned}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$6,3 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 25,2 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam tween 80 1%. Jika berat badan hewan coba 30 gram, maka volume penyondean sebesar 0,3 mL. Jadi, 25,2 mg ekstrak dilarutkan dalam 1,2 mL tween, dengan pemberian pada masing-masing hewan coba sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

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

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

$$\begin{aligned} \frac{8,4 \text{ mg}}{20 \text{ g}} &= \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ g}} \\ x &= 12,6 \end{aligned}$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$3,15 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 12,6 \text{ mg}$$

Pemberian isoniazid dilarutkan dalam tween 80 1%. Jika berat badan hewan coba 30 gram, maka volume penyondean sebesar 0,3 mL. Jadi, 12,6 mg ekstrak dilarutkan dalam 1,2 mL tween, dengan pemberian pada masing-masing hewan coba sesuai dengan berat badan dan volume penyondean.

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

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

$$\frac{16.8 \text{ mg}}{20 \text{ g}} = \frac{x \text{ mg}}{30 \text{ g}}$$
$$x = 25,2$$

Kebutuhan 1 kelompok yang terdiri dari 4 mencit adalah

$$25,2 \text{ mg} \times 4 \text{ mencit} = 100,8 \text{ mg}$$

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

Lampiran 3.2 Volume Penyondean Berdasarkan Berat Badan Hewan Coba

Kelompok	Sampel	Berat Badan (gram)	Volume Penyondean (mL)
K(N)	1	20	0,20
	2	22	0,22
	3	23,05	0,23
	4	20,11	0,20
K(-)	1	23,5	0,24
	2	22,2	0,22
	3	20,36	0,21
	4	22,56	0,23
K1	1	25,24	0,25
	2	29,97	0,30
	3	26,92	0,27
	4	24,78	0,25
K2	1	20,64	0,21
	2	23,61	0,24
	3	25,52	0,26
	4	24,56	0,25
K3	1	24,27	0,24
	2	25,50	0,26
	3	22,98	0,23
	4	25,22	0,25
K4	1	24,19	0,24
	2	25,69	0,26
	3	23,39	0,23
	4	27,04	0,27
K5	1	23,42	0,23
	2	29,97	0,30
	3	24,24	0,24
	4	24,85	0,25

Lampiran 3.3 Volume Maksimal Larutan yang Dapat Diberikan Pada Hewan

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 (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

i.v : intravena

i.m : intramuscular

i.p : intraperitoneal

s.c : subcutan

p.o : peroral

Sumber: Suhardjono (1995)

Lampiran 3.4 Surat Identifikasi Tanaman Bayam (*Amaranthus tricolor* L.)

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

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 2609./UN25.1.9/TU/2016

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

Nama/NIM : Latifatu C/ 132010101013
Shinta Madyaning W/ 132010101013

Jur./Fak./PT : F. Kedokteran / Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

Amaranthus tricolor L. {Syn.-; Family – Amaranthaceae; Vernacular name – Bayam glatik, Bayam merah (Ind.)}

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 4 Oktober 2016

Mengetahui,
Pembantu Dekan I,



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

Ketua Laboratorium
Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 19640417199103200

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

Lampiran 3.5 Tabel Konversi Perhitungan Dosis

dicari diketahui	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1	7	13,25	27,8	29,7	64,1	124,2	397,9
Tikus 200 g	0,14	1	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56
Marmut 400 g	0,08	0,57	1	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1	2,2	4,1	13
Kera 4 kg	0,016	0,12	0,19	0,42	0,45	1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1

Sumber: Ngatidjan (1991)

Lampiran 3.6 Perlakuan Hewan Coba



Adaptasi Hewan Coba



Pemberian makanan,
minum dan penggantian
sekam *ad libitum*



Penyondean ekstrak



Penyondean INH



Terminasi



Pengambilan Darah Jantung

Lampiran 3.7 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah



Daun bayam merah



Daun bayam merah
dihancurkan



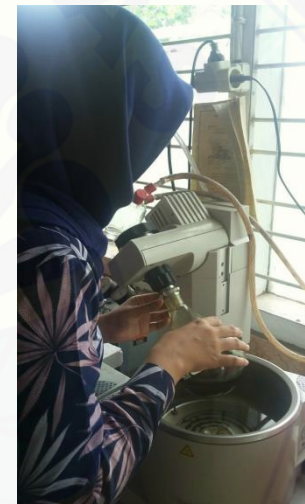
Serbuk halus daun bayam



maserasi



Penyaringan ekstrak
setelah dimaserasi



Rotary evaporator



Hasil ekstrak etanol daun bayam merah

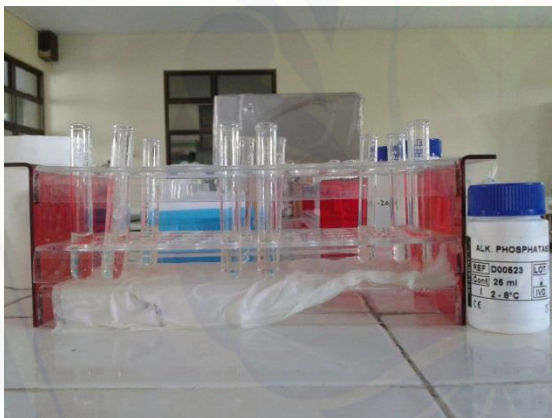
Lampiran 3.8 Pemeriksaan Kadar ALP



Darah yang diambil dari jantung



Sentrifuge untuk memisahkan serum darah



Reagen ALP



spektrofotometri

Lampiran 3.9 Pesetujuan Etik Penelitian

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

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA
Nomor : 967 /H25.1.11/KE/2016

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

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

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN BAYAM (*Amaranthus tricolor L.*)
SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR TERHADAP KADAR ALP SERUM MENCIT YANG
DIINDUKSI ISONIAZID**

Nama Peneliti Utama : Shinta Madyaning Wuri (NIM. 132010101023)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of Institution

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

Jember, 12 Mei 2016

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

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

Saran Komisi Etik :

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

Jember, 12 Oktober 2016



(dr. Rini Riyanti, Sp.PK)

Lampiran 4.1 Kadar ALP

Kelompok	sampel	abs 1	abs 2	abs 3	abs1-abs2	abs2-abs3	$\Delta A/\text{min sampel}$	$\Delta A/\text{min}$	Kadar ALP (U/L)
K(N)	1	1,07	1,072	1,077	0,002	0,005	0,0035	0,002	27,57
	2	0,935	0,94	0,945	0,005	0,005	0,005	0,0035	48,25
	3	1,189	1,185	1,187	0,004	0,002	0,003	0,0015	20,68
	4	0,881	0,888	0,894	0,007	0,006	0,0065	0,005	68,925
K(-)	1	0,923	0,928	0,935	0,005	0,007	0,006	0,0045	62,0325
	2	1,001	1,047	1,096	0,046	0,049	0,0475	0,046	126,822
	3	0,882	0,894	0,906	0,012	0,012	0,012	0,0105	144,7425
	4	1,033	1,041	1,052	0,008	0,011	0,0095	0,008	110,28
K1	1	0,825	0,857	0,885	0,032	0,028	0,03	0,0285	78,5745
	2	0,926	0,952	0,981	0,026	0,029	0,0275	0,026	71,682
	3	0,913	0,942	0,973	0,029	0,031	0,03	0,0285	78,5745
	4	1,029	1,062	1,096	0,033	0,034	0,0335	0,032	88,224
K2	1	0,875	0,907	0,937	0,032	0,03	0,031	0,0295	81,3315
	2	0,856	0,874	0,893	0,018	0,019	0,0185	0,017	46,869
	3	0,86	0,893	0,927	0,033	0,034	0,0335	0,032	88,224
	4	0,972	0,998	1,025	0,026	0,027	0,0265	0,025	68,925
K3	1	1,028	1,059	1,085	0,031	0,026	0,0285	0,027	74,439
	2	0,919	0,925	0,935	0,006	0,01	0,008	0,0065	71,682
	3	0,85	0,882	0,899	0,032	0,017	0,0245	0,023	63,411
	4	1,048	1,06	1,092	0,012	0,032	0,022	0,0205	56,5185
K4	1	0,873	0,913	0,92	0,04	0,007	0,0235	0,022	60,654
	2	0,863	0,893	0,911	0,03	0,018	0,024	0,0225	62,0325
	3	1,065	1,085	1,113	0,02	0,028	0,024	0,0225	62,0325
	4	1,138	1,157	1,189	0,019	0,032	0,0255	0,024	66,168
K5	1	1,034	1,06	1,085	0,026	0,025	0,0255	0,024	66,168
	2	1,366	1,378	1,39	0,012	0,012	0,012	0,0105	28,9485
	3	0,886	0,903	0,923	0,017	0,02	0,0185	0,017	46,869
	4	0,899	0,917	0,936	0,018	0,019	0,0185	0,017	46,869

Cara penghitungan kadar ALP:

$$\Delta A/\text{min sampel} = \frac{|\text{abs1-abs2}| + |\text{abs2-abs3}|}{2}$$

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

$$\text{ALP (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times \text{faktor}$$

$\Delta A/\text{min sampel}$: rata-rata beda absorbansi sampel

$\Delta A/\text{min}$: hasil pengurangan $\Delta A/\text{min sampel}$ dengan $\Delta A/\text{min blank}$

$\Delta A/\text{min blank}$: rata-rata beda absorbansi blank (0,0015)

Faktor : angka pengali (2757)

Lampiran 4.2 Hasil Uji Normalitas Data (*Shapiro Wilk*)

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	normal	,236	4	.	,940	4	,653
	INH	,242	4	.	,938	4	,641
ALP	bayam 1	,290	4	.	,932	4	,604
	bayam 2	,209	4	.	,939	4	,649
	bayam 3	,237	4	.	,942	4	,666
	bayam 4	,364	4	.	,840	4	,195
	bayam 5	,259	4	.	,944	4	,679

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.3 Hasil Uji homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

ALP

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,399	6	21	,064

Lampiran 4.4 Hasil Uji One Way Annova dan LSD

ANOVA

ALP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12617,704	6	2102,951	6,091	,001
Within Groups	7250,004	21	345,238		
Total	19867,708	27			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	INH	-69,61000*	13,13846	,000	-96,9329	-42,2871
	bayam 1	-37,90250*	13,13846	,009	-65,2254	-10,5796
	bayam 2	-29,97750*	13,13846	,033	-57,3004	-2,6546
	bayam 3	-25,15500	13,13846	,069	-52,4779	2,1679
	bayam 4	-21,36250	13,13846	,119	-48,6854	5,9604
	bayam 5	-5,85750	13,13846	,660	-33,1804	21,4654
INH	normal	69,61000*	13,13846	,000	42,2871	96,9329
	bayam 1	31,70750*	13,13846	,025	4,3846	59,0304
	bayam 2	39,63250*	13,13846	,007	12,3096	66,9554
	bayam 3	44,45500*	13,13846	,003	17,1321	71,7779
	bayam 4	48,24750*	13,13846	,001	20,9246	75,5704
	bayam 5	63,75250*	13,13846	,000	36,4296	91,0754
bayam 1	normal	37,90250*	13,13846	,009	10,5796	65,2254
	INH	-31,70750*	13,13846	,025	-59,0304	-4,3846
	bayam 2	7,92500	13,13846	,553	-19,3979	35,2479
	bayam 3	12,74750	13,13846	,343	-14,5754	40,0704
	bayam 4	16,54000	13,13846	,222	-10,7829	43,8629
	bayam 5	32,04500*	13,13846	,024	4,7221	59,3679
bayam 2	normal	29,97750*	13,13846	,033	2,6546	57,3004
	INH	-39,63250*	13,13846	,007	-66,9554	-12,3096
	bayam 1	-7,92500	13,13846	,553	-35,2479	19,3979
	bayam 3	4,82250	13,13846	,717	-22,5004	32,1454

	bayam 4	8,61500	13,13846	,519	-18,7079	35,9379
	bayam 5	24,12000	13,13846	,081	-3,2029	51,4429
	normal	25,15500	13,13846	,069	-2,1679	52,4779
	INH	-44,45500*	13,13846	,003	-71,7779	-17,1321
bayam 3	bayam 1	-12,74750	13,13846	,343	-40,0704	14,5754
	bayam 2	-4,82250	13,13846	,717	-32,1454	22,5004
	bayam 4	3,79250	13,13846	,776	-23,5304	31,1154
	bayam 5	19,29750	13,13846	,157	-8,0254	46,6204
	normal	21,36250	13,13846	,119	-5,9604	48,6854
	INH	-48,24750*	13,13846	,001	-75,5704	-20,9246
bayam 4	bayam 1	-16,54000	13,13846	,222	-43,8629	10,7829
	bayam 2	-8,61500	13,13846	,519	-35,9379	18,7079
	bayam 3	-3,79250	13,13846	,776	-31,1154	23,5304
	bayam 5	15,50500	13,13846	,251	-11,8179	42,8279
	normal	5,85750	13,13846	,660	-21,4654	33,1804
	INH	-63,75250*	13,13846	,000	-91,0754	-36,4296
bayam 5	bayam 1	-32,04500*	13,13846	,024	-59,3679	-4,7221
	bayam 2	-24,12000	13,13846	,081	-51,4429	3,2029
	bayam 3	-19,29750	13,13846	,157	-46,6204	8,0254
	bayam 4	-15,50500	13,13846	,251	-42,8279	11,8179

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

Lampiran 4.5 Analisis Probit

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	3,53263	0,835451	1,89517	5,17008
StDev	1,96008	0,879961	0,813081	4,72513

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-1,02720	1,84715	-28,8773	1,05742
2	-0,492882	1,63108	-24,4807	1,39429
3	-0,153876	1,49776	-21,7008	1,61765
4	0,101145	1,40000	-19,6165	1,79256
5	0,308585	1,32247	-17,9267	1,94053
6	0,485149	1,25814	-16,4936	2,07151
7	0,639961	1,20320	-15,2416	2,19104
8	0,778577	1,15535	-14,1251	2,30256
9	0,904643	1,11306	-13,1142	2,40840
10	1,02069	1,07530	-12,1880	2,51022
20	1,88298	0,843949	-5,55175	3,51309
30	2,50476	0,760302	-1,49456	4,96420
40	3,03605	0,766074	0,757547	7,41875
50	3,53263	0,835451	1,87557	10,6999
60	4,02921	0,953146	2,54314	14,4315
70	4,56050	1,11525	3,05580	18,6255
80	5,18227	1,33442	3,54145	23,6482
90	6,04457	1,66828	4,12415	30,7046
91	6,16061	1,71492	4,19802	31,6587
92	6,28668	1,76594	4,27740	32,6962
93	6,42530	1,82241	4,36375	33,8378
94	6,58011	1,88591	4,45915	35,1139
95	6,75667	1,95883	4,56676	36,5704
96	6,96411	2,04510	4,69178	38,2831
97	7,21913	2,15195	4,84365	40,3905
98	7,55814	2,29513	5,04295	43,1944
99	8,09245	2,52293	5,35229	47,6186