

TESIS

**UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR DARI MADU
KELULUT (*Trigona Spp.*) PADA TIKUS *SPRAGUE
DAWLEY* YANG DIINDUKSI ACETAMINOPHEN**

Disusun dan diajukan oleh

SIGIT DWI PRAMONO

(P062181015)



**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
KONSENTRASI BIOKIMIA DAN BIOLOGI MOLEKULER**

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

**UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR DARI MADU KELULUT
(*Trigona Spp.*) PADA TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI
ACETAMINOPHEN**

**HEPATOPROTECTOR EFFECTIVENESS TEST OF HONEY KELULUT
(*Trigona Spp.*) IN ACETAMINOPHEN-INDUCED *SPRAGUE*
DAWLEY RATS**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Konsentrasi Biokimia dan Biologi Molekuler

Disusun dan diajukan oleh:

SIGIT DWI PRAMONO

P062181015

Kepada

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

SEKOLAH PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR DARI MADU KELULUT
(*Trigona Spp.*) PADA TIKUS SPRAGUE DAWLEY
YANG DIINDUKSI ACETAMINOPHEN**

Disusun dan diajukan oleh

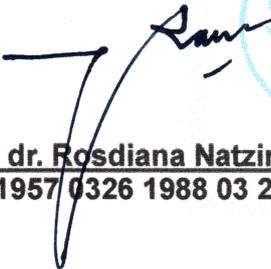
**SIGIT DWI PRAMONO
P062181015**

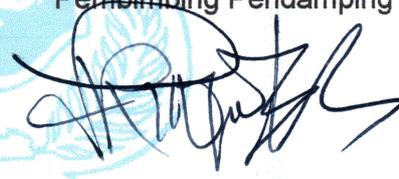
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister **Program Studi Ilmu Biomedik**
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 29 Juni 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping


Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D,Sp.Biok(K)
NIP. 1957 0326 1988 03 2001


Dr. dr. Syahrjuita Kadir, M.Kes,Sp.THT
NIP. 1968 1230 1998 03 2001

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik


Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc.
NIP. 1977 0121 2003 12 2003

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin


Prof. Dr. Hamka Naping, MA.
NIP. 1961 1104 1987 02 1001



PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sigit Dwi Pramono
NIM : P062181015
Program Studi : Ilmu Biomedik
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

UJI EFEKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR DARI MADU KELULUT
(*Trigona Spp.*) PADA TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG
DIINDUKSI ACETAMINOPHEN

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 04 Juli 2022

Yang Menyatakan



Sigit Dwi Pramono

PRAKATA

Assalamu'laikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur kami panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya kepada kita semua, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini. Penulisan tesis ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Biomedik pada Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar dengan Konsentrasi Biokimia dan Biologi Molekuler. Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu dengan penuh rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor dan Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas kesediannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
2. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau kelancaran pendidikan penulis.
3. Prof. dr. Rosdiana Natsir. Ph.D, Sp.Biok(K) selaku ketua Komisi Penasehat dan Dr. dr. Syahrjuita Kadir, M.Kes, Sp.THT selaku Sekretaris Komisi Penasehat yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, arahan, dan nasehat kepada penulis.
4. dr. Gita Vita Soraya. Ph.D. sebagai penguji yang selalu meluangkan

waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis ini.

5. dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D, Sp.PA(K), DFM, selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dan perbaikan terhadap tesis ini.
6. Dr. dr. Burhanuddin Bahar. MS, sebagai penguji yang ditengah kesibukannya telah memberikan waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis ini.
7. Seluruh Dosen dan Staf pada Program Studi Magiste Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berupaya memberikan bimbingan dan pelajaran agar menjadikan penulis mempunyai ilmu pengetahuan mengenai biomedik khususnya di bidang Biokimia dan Biologi Molekuler menjadi lebih terarah dan berkualitas.
8. Kedua Orang Tua tercinta yaitu Ayahanda Sularto dan Ibunda Sunarmi yang senantiasa memberikan kasih sayang yang tak ternilai dan selalu menghadirkan ananda dalam setiap doanya.
9. Seluruh teman seperjuangan penulis yang menempuh pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin Makassar yang selau memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan.
10. Seluruh rekan dosen dan teman-teman Staf di Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia yang selalu meberikan support dan motivasi kepada penulis.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada teman seperjuangan saya yaitu Neng Mira Atjo dan Almarhumah Sri Ratna Nur, yang selalu menemani dan mendukung penulis menyelesaikan program pendidikan. Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tesis ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas semua kebaikan yang telah Bapak, Ibu dan Saudara/i berikan dan semoga tesis ini bermanfaat untuk ilmu pengetahuan terkhusus dalam bidang Biokimia dan Biologi Molekuler.

Makassar, 04 Juli 2022

Penulis

Sigit Dwi Pramono

ABSTRAK

SIGIT DWI PRAMONO. Uji efektivitas hepatoprotektor dari madu kelulut (*Trigona spp.*) pada tikus *Sprague dawley* yang diinduksi acetaminophen (dibimbing oleh **Rosdiana Natzir** dan **Syahrijuita Kadir**)

Hepatitis imbas obat dapat disebabkan oleh penggunaan obat seperti acetaminophen yang mengalami metabolisme di hati. Kerusakan hati dideteksi melalui peningkatan enzim transaminase. Madu kelulut (*Trigona spp.*) mengandung flavonoid yang tinggi dan memiliki peran protektif terhadap inflamasi dan stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian madu kelulut sebagai hepatoprotektor terhadap kadar enzim transaminase dan histopatologi hati tikus *Sprague-Dawley* (SD) yang diinduksi acetaminophen.

Penelitian ini menggunakan desain *post-test with control group design* dimana 15 ekor *Rattus norvegicus* galur SD dibagi dalam lima kelompok: kontrol negatif, kontrol positif, kontrol curcuma, perlakuan 1 dan perlakuan 2. Semua kelompok kecuali kontrol negatif diinduksi acetaminophen selama 7 hari dilanjutkan pemberian ekstrak curcuma pada kelompok kontrol curcuma dan diberikan madu kelulut pada kelompok perlakuan 1 dan 2 dengan dosis masing-masing 9,3 mg/grBB dan 18,6 mg/grBB selama 7 hari. Pengukuran SGOT dan SGPT pada hari ke-1, ke-8 dan ke-15 menggunakan spektrofotometri dan histopatologi di hari terakhir. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan uji *post hoc*.

Hasil penelitian didapatkan perbedaan signifikan kadar SGOT (nilai $p = 0,000$) dan SGPT (nilai $p = 0,000$) pada hari ke-15 antara kelompok yang diberikan madu kelulut dengan tidak diberikan setelah diinduksi acetaminophen, walaupun hasil histopatologi tidak terdapat perbedaan signifikan (nilai $p = 0,117$). Sebagai kesimpulan, madu kelulut (*Trigona spp.*) memiliki efek hepatoprotektor menurunkan kadar SGOT dan SGPT.

Kata kunci: madu kelulut, *Trigona spp.*, acetaminophen, SGOT, SGPT, histopatologi

ABSTRACT

SIGIT DWI PRAMONO. Hepatoprotector effectiveness test of honey kelulut (*Trigona spp.*) in acetaminophen-induced *Sprague dawley* rats (supervised by **Rosdiana Natzir** dan **Syahrijuita Kadir**)

Drug-induced hepatitis can be caused by the use of drugs such as acetaminophen which are metabolized in the liver. Liver injury is detected through an increase in the transaminases. Kelulut honey (*Trigona spp.*) contains high flavonoids and has a protective role against inflammation and oxidative stress. This study aims to determine the effect of giving kelulut honey as a hepatoprotector on transaminase enzyme levels and liver histopathology of acetaminophen-induced *Sprague-Dawley* (SD) rats.

This study used a post-test design with a control group design where 15 *Rattus norvegicus*, SD strains, were divided into five groups: negative control, positive control, Curcuma control, treatment 1 and treatment 2. All groups except the negative control were induced by acetaminophen for 7 days followed by administration of Curcuma extract to the Curcuma control group and kelulut honey in treatment groups 1 and 2 at a dose of 9.3 mg/grBW and 18.6 mg/grBW, respectively, for 7 days. Measurement of SGOT and SGPT on days 1, 8, and 15 using spectrophotometry and histopathology on the last day. Statistical test using *One Way Anova* and post hoc test.

The results showed a significant difference in levels of SGOT (p-value = 0.000) and SGPT (p-value = 0.000) on the 15th day between the group that was given kelulut honey and not given after being induced acetaminophen. However, the histopathological results showed no significant differences (p-value = 0.117). In conclusion, kelulut honey (*Trigona spp.*) has a hepatoprotective effect in reducing SGOT and SGPT levels.

Keyword: kelulut honey, *Trigona spp.*, acetaminophen, SGOT, SGPT, histopathology

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anatomi dan Fisiologi Hati	6
2.2 Hepatitis Imbas Obat (<i>Drug Induced Hepatitis</i>)	17
2.3 Acetaminophen (Paracetamol)	25
2.4 Madu Kelulut (<i>Trigona spp.</i>)	32
2.5 Ekstrak Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza rhizoma extract</i>)	40
2.6 Uraian Hewan Uji	41

2.7 Kerangka Teori	43
2.8 Kerangka Konsep	44
2.9 Hipotesis	45
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Desain Penelitian	46
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	46
3.3 Materi Penelitian	46
3.4 Definisi Operasional Variabel Penelitian	49
3.5 Prosedur Penelitian	51
3.6 Analisis Data	55
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	56
4.2 Pembahasan	67
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	74
5.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN	89

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Beberapa karakteristik dari kerusakan hati karena obat	18
2. Karakteristik fisikokimia dari madu lebah yang tidak menyengat (<i>Trigona spp.</i>)	35
3. Senyawa fenolik umum dengan potensi manfaat kesehatannya yang terkandung dalam madu lebah yang tidak menyengat (<i>Trigona spp.</i>)	37
4. Berat badan rata-rata hewan uji (gram) pada masing-masing kelompok perlakuan	56
5. Hasil pengukuran SGOT hewan uji pada masing-masing kelompok perlakuan	57
6. Hasil pengukuran SGPT hewan uji pada masing-masing kelompok perlakuan	61
7. Skor Histopatologi organ hati hewan uji pada setiap kelompok perlakuan	66

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Lobulus hepatik	7
2. Gambaran mikroskopik dengan perbesaran 30x hati manusia	8
3. Gambaran makroskopik hati manusia dari anterior	9
4. Pembengkakan sel disertai vakuolisasi	14
5. Respons metabolisme xenobiotik	16
6. Mekanisme Kerusakan pada Hepatitis Imbas Obat	21
7. Struktur kimia analgesik - turunan anilin	27
8. Kompleks prostaglandin H synthase (PGHS)	30
9. Lebah tidak menyengat (<i>stingless bee</i>) dan Madunya	33
10. Kerangka teori	43
11. Kerangka konsep	44
12. Skema kerja Uji Efektivitas Hepatoprotektor Madu <i>Trigona spp.</i> pada tikus galur <i>Sprague dawley</i> yang diinduksi Acetaminophen	54
13. Grafik rata-rata dan standar deviasi kadar SGOT hewan uji pada setiap kelompok perlakuan	58
14. Grafik rata-rata dan standar deviasi kadar SGPT hewan uji pada setiap kelompok perlakuan	62
15. Gambaran Histopatologi Organ Hati Pada Hewan Uji Setiap Kelompok Dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)	64

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Rekomendasi Persetujuan Etik	89
2. Perhitungan Dosis	90
3. Analisis Data Hasil Penelitian Menggunakan SPSS	92
4. Gambar Penelitian	121

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit pada hati di Indonesia secara umum masih cukup tinggi. Berdasarkan data yang ada di Indonesia maka penyakit pada hati berada di peringkat ketiga dibawah penyakit karena infeksi dan penyakit pada paru-paru (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2013). Salah satu yang menyebabkan penyakit pada hati adalah penggunaan obat-obatan yang memiliki sifat hepatotoksik (merusak hati). Penyakit atau peradangan pada hati yang disebabkan oleh penggunaan atau mengkonsumsi obat disebut sebagai *Drug Induced Hepatitis* (DIH). Berdasarkan data yang diperoleh dari organisasi Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia (PPHI) pada 2013, ada kurang lebih 20 sampai 40 persen penyakit hati fulminan yang disebabkan karena penggunaan obat. Data dari Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia tersebut juga menyatakan bahwa ada 50 persen penderita hepatitis akut yang terjadi karena reaksi obat-obatan terhadap hati (Indonesia, 2013). *Drug Induced Hepatitis* (DIH) atau hepatitis imbas obat bisa disebabkan karena penggunaan obat-obat seperti parasetamol, rifampisin, aspirin, artemisin, dan obat-obatan lain yang mengalami metabolisme di hati dengan pemakaian jangka waktu yang lama atau dengan pemakaian dosis berlebihan (Larson, 2007).

Berdasarkan survei yang telah dilakukan oleh *Acute Liver Failure Study Group* terhadap pasien yang dirawat inap pada 17 rumah sakit yang ada di Amerika Serikat didapatkan hasil bahwa obat-obat yang sering diresepkan (termasuk acetaminophen atau paracetamol) menyebabkan lebih dari 50 persen kasus hepatitis imbas obat atau DIH (Larson, 2007b). Berdasarkan data Riskesdas pada tahun 2013, terdapat sekitar 2000 kasus penyakit *Drug Induced Hepatitis* yang terjadi setiap tahun dan kurang lebih 39% diantaranya disebabkan oleh obat acetaminophen atau parasetamol (Rama Parmar, Vashrambhai and Kalia, 2010).

Akibat dampak besar yang bisa muncul karena paparan oleh radikal bebas melalui proses metabolisme xenobiotik obat-obat dan salah satunya adalah acetaminophen atau paracetamol, maka penelitian lebih jauh untuk eksplorasi bahan alam sebagai hepatoprotektor yang mudah didapatkan, ekonomis, dengan efek samping yang minimal, serta memiliki efek terapeutik seperti obat-obatan pilihan yang dikenal masa kini sebagai hepatoprotektor. Berdasarkan studi yang dilakukan salah satu sumber bahan alam yang memiliki kadar antioksidan yang tinggi dan memiliki efek hepatoprotektor adalah madu kelulut (*Trigona spp.*) (Rama Parmar, Vashrambhai and Kalia, 2010).

Berdasarkan studi yang ada madu dikatakan telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki kandungan flavonoid yang tinggi. Kandungan antioksidan lain yang terkandung di dalam madu yaitu protein dan asam amino serta fitokimia golongan polifenol. Selain itu, madu juga

terbukti mengandung beberapa enzim antara lain seperti glukosa oksidase dan katalase, serta beberapa vitamin yang penting bagi tubuh yaitu vitamin A, B kompleks, C, E, dan juga betakaroten (Yang *et al.*, 2003; Mabrouk *et al.*, 2004).

Berdasarkan uji klinis sebelumnya yang membuktikan bahwa mengkonsumsi madu dengan dosis 1,5 gram/kg berat badan meningkatkan tingkat antioksidan pada manusia (Schramm *et al.*, 2003a), madu trigona yang dikonsumsi dengan dosis 1,5 gram/kg diubah secara matematis menjadi dosis setara hewan menggunakan skala alometrik. Dosis setara hewan dari senyawa biologis dihitung menggunakan rumus dan didapatkan dosis 9,3 mg/gram berat badan untuk tikus (Ranneh *et al.*, 2019). Hasil penelitian tersebut menunjukkan hasil bahwa madu trigona memiliki peran protektif yang substansial terhadap inflamasi sistemik subklinis kronis atau *Chronic Subclinical Systemic Inflammation* (CSSI) dan stres oksidatif (Ranneh *et al.*, 2019).

Berdasarkan penjelasan diatas, maka peneliti merasa perlu dilakukan penelitian lebih jauh tentang efektivitas bahan alam dalam hal ini madu kelulut (*Trigona spp.*) sebagai hepatoprotektor pada hewan uji tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague Dawley* yang telah mengalami *Drug Induced Hepatitis* (DIH) menggunakan obat acetaminophen atau paracetamol.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun permasalahan yang timbul dari uraian di atas adalah bagaimana efek pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) sebagai hepatoprotektor berdasarkan kadar SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) dan gambaran histopatologi organ hati pada tikus *sprague dawley* yang diinduksi menggunakan acetaminophen?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui efek pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) sebagai hepatoprotektor berdasarkan kadar SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*), dan gambaran histopatologi organ hati pada tikus *Sprague dawley* yang telah diinduksi menggunakan acetaminophen.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

1. Mengetahui efek pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) dengan dosis 9,3 mg/grBB/hari dan 18,6 mg/grBB/hari sebagai hepatoprotektor berdasarkan kadar SGOT dan SGPT pada tikus *Sprague dawley* yang diinduksi menggunakan acetaminophen.

2. Mengetahui efek pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) dengan dosis 9,3 mg/grBB/hari dan 18,6 mg/grBB/hari sebagai hepatoprotektor berdasarkan gambaran histopatologi organ hati pada tikus *Sprague dawley* yang diinduksi menggunakan acetaminophen.
3. Mengetahui perbandingan antara efek pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) dengan ekstrak curcuma sebagai hepatoprotektor pada tikus *Sprague-dawley* yang diinduksi menggunakan acetaminophen.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Pengembangan Ilmu

Sumber data ilmiah dan informasi tentang efek madu kelulut (*Trigona spp.*) sebagai hepatoprotektor pada tikus *Sprague dawley* yang telah mengalami *Drug Induced Hepatitis* (DIH) karena diinduksi oleh acetaminophen yang bisa dipergunakan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Aplikasi

Rujukan untuk penelitian selanjutnya dan sumber informasi bagi masyarakat tentang khasiat madu kelulut (*Trigona spp.*) dalam mencegah dan memperbaiki kerusakan sel hati yang telah mengalami *Drug Induced Hepatitis* (DIH) karena diinduksi oleh acetaminophen yang bisa digunakan dalam kehidupan sehari-hari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

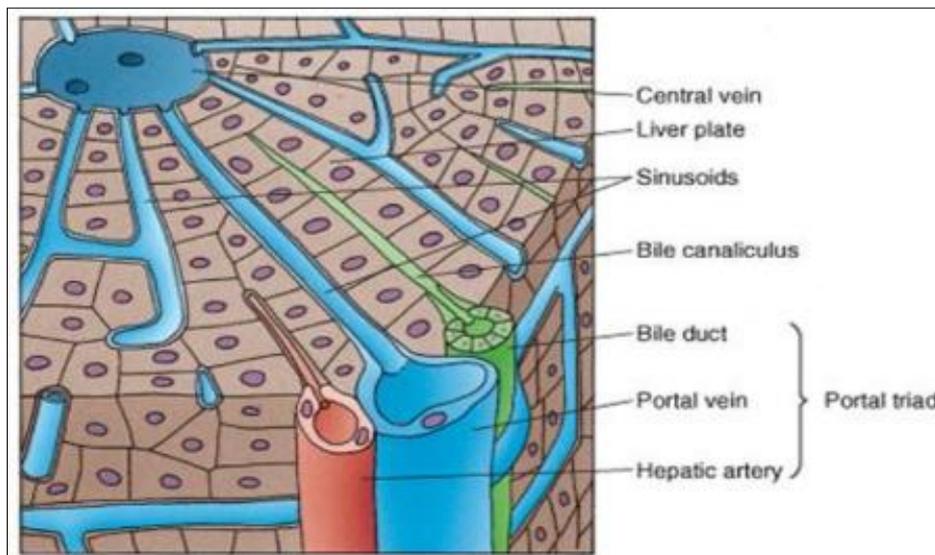
2.1 Anatomi dan Fisiologi Hati

2.1.1 Histologi dan Anatomi Hati

Sel yang terdapat di organ hati terdiri atas: sel endotel, sel hepatosit, sel makrofag atau disebut sel kuppfer, dan sel ito atau sel yang berfungsi sebagai penimbun lemak. Sel hepatosit berjejer secara radier di dalam lobus hepar atau hati kemudian membentuk lapisan dengan ukuran 1-2 sel yang mirip seperti susunan batu bata. Lapisan sel ini berjejer dari tepi lobus ke pusat dan beranastomosis membentuk struktur menyerupai labirin atau busa. Sela diantara lapisan ini terdapat kapiler yang disebut sebagai sinusoid hepar (Junqueira L.C., J.Carneiro, 2007).

Sinusoid hepar atau hati merupakan saluran berliku-liku dan lebar dengan diameter tidak teratur yang dilapisi oleh sel endotel bertingkat tidak utuh. Sinusoid hepar dibatasi oleh 3 jenis sel, yaitu sel endotel, sel kupffer, dan sel ito atau sel stelat atau liposit hepatik yang memiliki fungsi untuk memproduksi matriks ekstraseluler serta kolagen dan menyimpan vitamin A. Aliran darah yang berada di sinusoid bersumber dari cabang terminal arteri hepatik dan vena portal hepar, darah ini kaya nutrisi yang berasal dari saluran pencernaan dan kaya oksigen yang berasal dari jantung (Junqueira L.C., J.Carneiro, 2007b; Eroschenko VP, 2010).

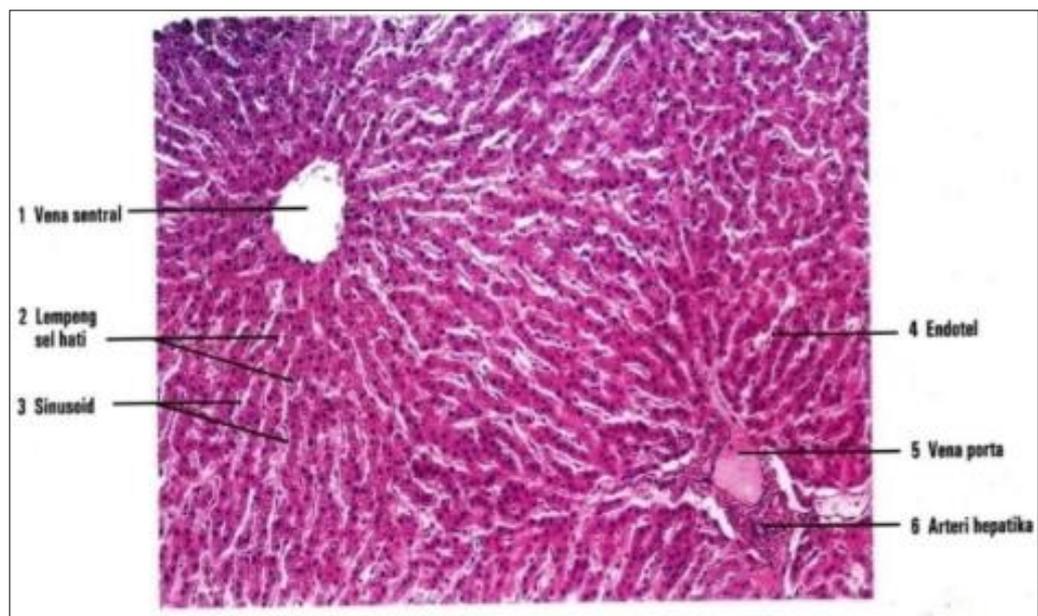
Saluran portal berada di sudut heksagonal. Pada saluran portal, darah yang bersumber dari arteri hepatic dan vena portal akan dialirkan menuju vena sentralis. Saluran portal terdiri atas tiga struktur utama yang dikenal sebagai trias portal. Pertama struktur paling besar adalah vena portal terminal yang dibatasi oleh sel endotel. Kedua struktur arteriola yang memiliki dinding tebal dan merupakan cabang terminal arteri hepatic. Ketiga adalah struktur duktus biliaris yang berfungsi mengalirkan cairan empedu. Selain itu, terdapat juga saluran limfatik (Junqueira L.C., J.Carneiro, 2007).



Gambar 1. Lobulus hepatic (Gartner LP, 2012)

Aliran darah pada hati dibagi ke dalam unit struktural yaitu asinus hepatic. Asinus hepatic memiliki bentuk seperti buah berry yang terletak di traktus portal. Asinus hepatic terletak antara dua atau lebih vena hepatic terminal, dimana darah yang mengalir berasal dari saluran portal menuju ke sinusoid, lalu menuju ke vena. Asinus hepatic terbagi menjadi tiga zona:

zona satu terletak paling dekat dengan saluran portal sehingga paling banyak menerima darah yang kaya oksigen, zona tiga terletak paling jauh dan hanya menerima darah yang mengandung sedikit oksigen, dan zona intermediet atau zona dua terletak antara zona satu dan zona tiga. Zona tiga ini merupakan yang paling mudah terkena jejas atau cedera iskemik (Junqueira L.C., J.Carneiro, 2007b).

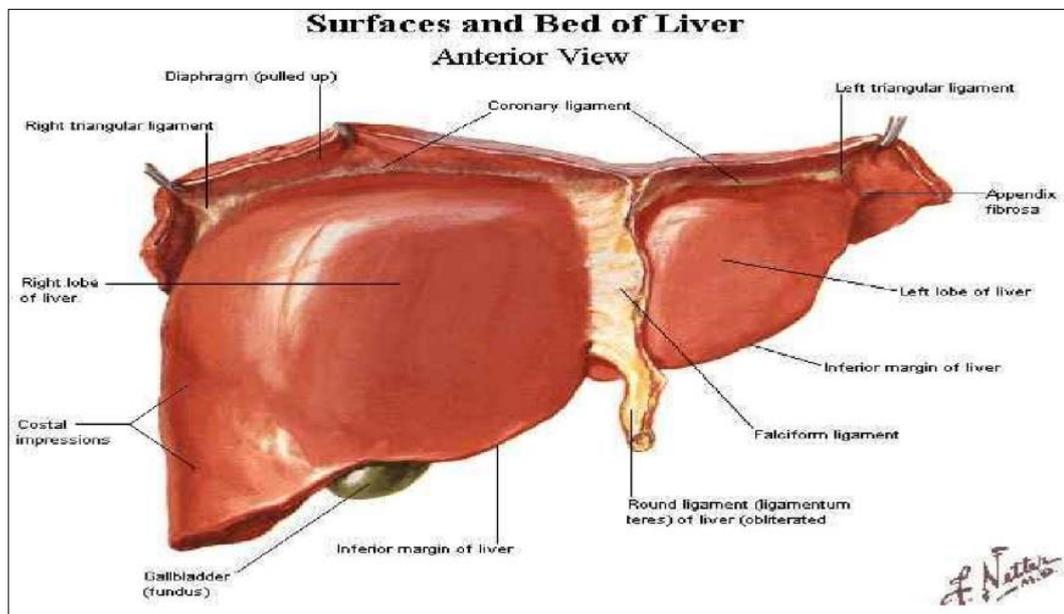


Gambar 2. Gambaran mikroskopik dengan perbesaran 30x hati manusia (Eroschenko VP, 2010b)

Organ hati atau hepar adalah satu kelenjar paling besar di dalam tubuh dengan berat kurang lebih 1,5 kilogram (Junqueira L.C., J.Carneiro, 2007). Hati merupakan organ viseral paling besar dan terletak di bawah tulang iga (Sloane, 2004).

Hepar atau hati memiliki tekstur yang lentur dan lunak serta terletak di sebelah atas rongga abdomen, tepat di bagian bawah diafragma. Sebagian

besar hati berada di profunda arcus costalis dextra dan hemidiaphragma dextra yang memisahkan hati dari pleura, paru-paru, pericardium, dan jantung. (Snell, 2006).



Gambar 3. Gambaran makroskopik hati manusia dari anterior (R. Putz, 2007)

2.1.2 Fisiologi Hati

Menurut Guyton & Hall (Guyton and Hall, 2008), organ hati atau hepar memiliki beberapa fungsi utama antara lain:

1. Proses Metabolisme karbohidrat.

Fungsi hepar atau hati dalam proses metabolisme karbohidrat adalah menyimpan cadangan glikogen dalam jumlah yang besar, mengkonversi monosakarida seperti galaktosa dan fruktosa menjadi bentuk lain yaitu glukosa, proses glukoneogenesis, dan membentuk senyawa kimia lain

yang penting bagi tubuh yang berasal dari hasil perantara metabolisme karbohidrat.

2. Proses Metabolisme lemak.

Fungsi hati yang berkaitan dengan metabolisme lemak, antara lain: mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat.

3. Proses Metabolisme protein.

Fungsi hepar atau hati dalam proses metabolisme protein antara lain: pembentukan ureum di dalam tubuh untuk ekskresi amonia melalui cairan tubuh, deaminasi asam-asam amino, pembentukan protein plasma darah, dan konversi berbagai jenis asam amino serta membentuk senyawa lain yang berasal dari asam amino.

4. Fungsi Lain-lain.

Fungsi hepar atau hati yang lain yaitu: merupakan tempat menyimpan vitamin, hepar juga sebagai tempat penyimpanan zat besi dalam bentuk feritin, hepar membentuk zat-zat yang sering digunakan untuk proses koagulasi darah dalam jumlah besar dan mengekskresikan atau mengeluarkan obat-obat, hormone, dan zat lainnya.

2.1.3 Histopatologi Hati

Jejas atau cedera sel di hati dapat bersifat *irreversible* dan *reversible* (Chandrasoma, P., Taylor, 2005a).

2.1.3.1 Jejas atau cedera yang *reversible*

A. Pembengkakan atau edema sel

Pembengkakan atau edema merupakan manifestasi paling pertama yang muncul hampir pada semua bentuk cedera atau jejas sel, sebagai akibat proses pergeseran air dari ekstraseluler ke intraseluler atau dalam sel, hal ini diakibatkan oleh gangguan pengaturan volume dan ion karena kehilangan *Adenosine Triphosphate* (ATP) (Chandrasoma, P., Taylor, 2005).

Bila air terus tertampung di dalam sel, vakuola atau kantung-kantung kecil yang jernih akan tampak di dalam sitoplasma, hal ini diduga adalah retikulum endoplasma yang mengalami pelebaran dan menonjol ke luar atau merupakan segmen yang terpecah. Gambaran jejas atau cedera yang *non lethal* (tidak mematikan) ini biasa disebut degenerasi vakuol atau degenerasi hidropik. Selanjutnya sel hati atau hepatosit yang mengalami pembengkakan akan tampak edematosa (degenerasi balon) dengan bentuk sitoplasma yang *irreguler* bergumpal-gumpal dan rongga-rongga tampak jernih serta lebar (Robbins, 2007).

B. Perlemakan Hati

Perlemakan hati adalah proses akumulasi trigliserida di dalam sel parenkim hati. Akumulasi muncul pada keadaan-keadaan berikut ini (Chandrasoma, P., Taylor, 2005):

1. Peningkatan transportasi lemak dari jaringan yang menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah asam lemak yang menuju ke hati;

2. Peningkatan kecepatan proses konversi asam lemak menjadi trigliserida di hati akibat aktivitas enzim yang terlibat ikut meningkat;
3. Penurunan proses oksidasi trigliserida menjadi asetil koenzim A dan penurunan benda keton;
4. Penurunan pembentukan atau sintesis protein akseptor lipid.

2.1.3.1 Jejas atau cedera yang *irreversible*

A. Nekrosis

Proses Nekrosis pada sel dapat terjadi secara langsung atau mengikuti proses degenerasi sel (*jejas reversible*). Gambaran mikroskopik pada nekrosis dapat berupa gambaran kariolisis, piknosis, dan karioreksis. Berdasarkan lokasi nekrosis dapat dibagi menjadi 3 yaitu: nekrosis fokal, nekrosis zona, dan nekrosis submasif. Nekrosis pada sel hati yang fokal adalah nekrosis yang terjadi secara acak pada 1 sel hati atau sekelompok kecil sel hati pada seluruh daerah lobulus hati. Nekrosis ini dapat dilihat pada hasil biopsi melalui badan asidofilik (*councilman*) yang merupakan sel-sel hati yang mengalami nekrosis dengan inti lisis atau piknotik dan sitoplasma mengalami koagulasi menjadi warna pink atau merah muda.

Selain itu dapat juga dikenali pada daerah yang mengalami lisis pada sel hati yang dikelilingi oleh kumpulan sel-sel kupffer dan sel-sel radang. Nekrosis zona pada sel hati adalah nekrosis pada sel hati yang terjadi pada regio yang identik di semua lobus hati, sedangkan nekrosis submasif merupakan jenis nekrosis yang terjadi pada sel hati dan meluas melewati

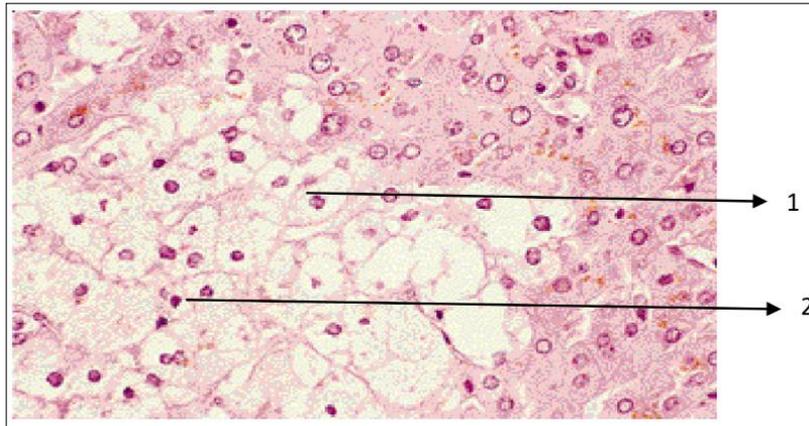
batas lobus, paling sering menghubungkan daerah portal dengan vena sentral (*bridging necrosis*) (Chandrasoma, P., Taylor, 2005).

B. Fibrosis

Proses fibrosis adalah akumulasi matriks ekstraseluler yang merupakan respons terhadap cedera atau kerusakan kronik maupun akut pada organ hati. Pada proses awal, fibrosis bisa terbentuk di sekitar atau di dalam saluran portal atau vena sentral atau mungkin mengendap secara langsung di dalam sinusoid hepatis. Hal ini adalah reaksi penyembuhan terhadap kerusakan atau cedera. Cedera atau kerusakan pada sel hati (hepatosit) akan menimbulkan pelepasan sitokin-sitokin dan faktor soluble lainnya oleh sel-sel kupffer serta sel-sel tipe lainnya di hati. Hal ini akan mengaktifkan sel stelat yang nantinya akan membentuk sebagian besar komponen matriks ekstraseluler (Robbins, 2007).

C. Sirosis

Kelanjutan proses fibrosis dan kerusakan parenkim hati menyebabkan hati terbagi-bagi menjadi nodus hepatosit yang mengalami proses regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan ikat atau parut. Jaringan parut ini yang disebut sirosis (Robbins, 2007).



Gambar 4. Pembengkakan sel disertai vakuolisasi; Ket.: 1. Sel yang Mengalami Vakuolisasi; 2. Inti Sel Menggeser ke Tepi (Robbins, 2007)

2.1.4 Proses Metabolisme Xenobiotik

Secara bahasa xenobiotik berasal dari bahasa Yunani yaitu xenos yang berarti asing dan biotik yang berarti makhluk hidup. Sehingga xenobiotik memiliki arti adalah zat-zat asing yang masuk ke dalam tubuh makhluk hidup atau manusia. Contoh zat atau senyawa asing tersebut antara lain: obat-obatan, insektisida, zat kimia tambahan pada minuman dan makanan (pemanis, pewarna, dan pengawet), dan zat-zat karsinogen lain (Poedjiadi and Supriyanti, 2006).

Senyawa xenobiotik secara umum tidak dapat larut dalam air, sehingga jika masuk ke dalam tubuh manusia tidak dapat dikeluarkan atau diekskresi. Untuk dapat dikeluarkan melalui proses ekskresi, senyawa xenobiotik harus melalui proses metabolisme terlebih dahulu menjadi zat yang bisa larut sehingga bisa dikeluarkan dari tubuh. Organ yang memiliki peran penting dalam proses metabolisme xenobiotik adalah hepar atau hati.

Senyawa xenobiotik akan dikeluarkan melalui urin dan empedu (Toha, 2001).

Proses metabolisme xenobiotik terbagi atas dua fase yaitu: fase hidroksilasi dan fase konjugasi dengan rincian sebagai berikut: (Murray, Granner and Rodwell, 2009)

1. Fase hidroksilasi.

Fase hidroksilasi adalah fase yang mengubah senyawa xenobiotik yang aktif menjadi tidak aktif (inaktif) oleh enzim Sitokrom P₄₅₀ atau Monooksidase. Enzim Monooksidase atau Sitokrom P₄₅₀ banyak terdapat di dalam retikulum endoplasma. Fungsi utama enzim ini sebagai katalisator perubahan hidrogen pada senyawa xenobiotik menjadi gugus hidroksil.

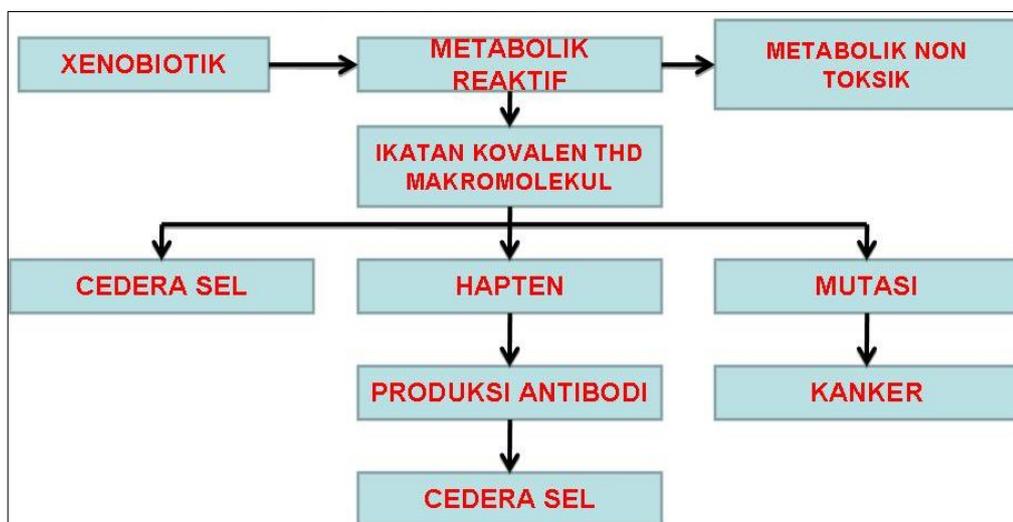
Sitokrom P₄₅₀ adalah hemoprotein yang mirip seperti hemoglobin, sitokrom P₄₅₀ banyak terdapat di membran retikulum endoplasma pada sel hati. Pada keadaan tertentu beberapa produk hasil hidroksilasi dapat bersifat karsinogenik atau mutagenik (Murray, Granner and Rodwell, 2009).

2. Fase konjugasi.

Fase konjugasi adalah fase yang mereaksikan senyawa xenobiotic yang inaktif dengan zat-zat kimia tertentu di dalam tubuh menjadi zat yang bisa larut, sehingga mudah diekresikan melalui urin dan empedu (Murray, Granner and Rodwell, 2009).

Zat-zat di dalam tubuh yang sering digunakan untuk proses konjugasi antarlain: sulfat, asam glukoronat, acetat, glutation atau asam amino tertentu lainnya (Murray, Granner and Rodwell, 2009b).

Proses metabolisme xenobiotik biasa juga disebut proses detoksifikasi, tetapi istilah ini kurang tepat, karena tidak semua senyawa xenobiotik bersifat toksik atau racun (Murray, Granner and Rodwell, 2009b). Pada proses metabolisme obat-obatan, pada obat-obatan yang sudah aktif akan langsung mengalami proses metabolisme xenobiotik fase satu yang bertujuan mengubah obat yang aktif menjadi tidak aktif, sedangkan pada obat-obatan yang belum aktif akan mengalami terlebih dahulu metabolisme xenobiotik fase satu yang bertujuan mengubah obat yang tidak aktif menjadi aktif. Respons terhadap metabolisme xenobiotik bisa menguntungkan karena metabolit yang terbentuk menjadi zat yang bersifat polar sehingga dapat dikeluarkan dari dalam tubuh melalui proses ekskresi. Respons metabolisme xenobiotik bisa merugikan karena beberapa hal seperti penjelasan pada gambar 5 (Murray, Granner and Rodwell, 2009).



Gambar 5. Respons metabolisme xenobiotik (Murray, Granner and Rodwell, 2009)

2.2 Hepatitis Imbas Obat (*Drug Induced Hepatitis*)

2.2.1 Definisi

Drug Induced Hepatitis (DIH) atau hepatitis imbas obat adalah peradangan atau inflamasi yang terjadi akibat mengonsumsi obat, bahan kimia, atau jamur yang beracun (Mayo Clinic, 2019a) (Mehta, Ozick and Gbadehan, 2010).

Kerusakan hati sebagian besar disebabkan oleh senyawa xenobotik (zat asing) dan *Drug Induced Hepatitis* (DIH) atau hepatitis imbas obat adalah komplikasi yang sering muncul pada setiap pemberian obat. Hal ini disebabkan karena organ hati adalah pusat penyimpanan senyawa metabolik dari semua obat-obatan dan benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Kerusakan hepar atau hati bisa disebabkan melalui proses pencernaan, inhalasi, dan pemberian secara intravena atau parenteral beberapa obat dan zat-zat kimia lainnya (Bass and Ockner, 1990; Dienstag and Isselbacher, 2005).

2.2.2 Etiologi

Drug Induced Hepatitis (DIH) atau hepatitis imbas obat adalah alasan yang paling sering digunakan untuk menarik obat-obatan dari pasaran di negara Amerika Serikat, termasuk diantaranya dikarenakan lebih 50 persen menyebabkan gagal hati akut. Sekitar 2000 kasus gagal hati akut yang terjadi di Amerika Serikat dan 50 persen diantaranya akibat obat-obatan dengan rincian 39 persen oleh obat acetaminophen atau paracetamol dan 13 persen merupakan reaksi idiosinkrasi karena obat-obatan lainnya.

Sekitar 2-5 persen pasien yang dirawat inap dengan keluhan ikterus ada sekitar 10 persen kasus hepatitis akut akibat penggunaan obat-obatan. Ada sekitar 75 persen reaksi idiosinkrasi yang menyebabkan transplantasi organ hati atau bahkan kematian. (Bayupurnama P, 2006a; Mehta, Ozick and Gbadehan, 2010).

Tabel 1. Beberapa karakteristik dari kerusakan hati karena obat (Dienstag and Isselbacher, 2005)

Karakteristik	Efek toksik langsung		Efek idiosinkrasi			Lain-lain (Zat Kontrasepsi Oral)
	Karbon tetraklorida	Asetaminofen	Halotan	Isoniazid	Klorpromazin	
Toksitasitas bergantung dosis	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Ada
Periode laten	Pendek	Pendek	Bervariasi	Bervariasi	Bervariasi	Bervariasi
Atralgia, demam, rash, eosinophilia	Tidak ada	Tidak ada	Ada	Tidak ada	Ada	Tidak ada
Morfologi hati	Nekrosis, infiltrasi lemak	Nekrosis sentrilobuler	Mirip dengan hepatitis virus	Mirip dengan hepatitis virus	Kolestasis dengan inflamasi portal	Kolestasis tanpa infamasi portal, lesi vaskuler

2.2.3 Patomekanisme

Banyak patomekanisme yang terjadi sehingga metabolit yang bersifat toksik bisa merusak sel-sel hati. Ada dua patomekanisme paling umum yang terjadi yaitu mekanisme ikatan kovalen dan stres oksidatif. Mitokondria merupakan target utama dari metabolit reaktif tersebut (Park *et al.*, 2005; Mayo Clinic, 2019b).

1. Ikatan Kovalen

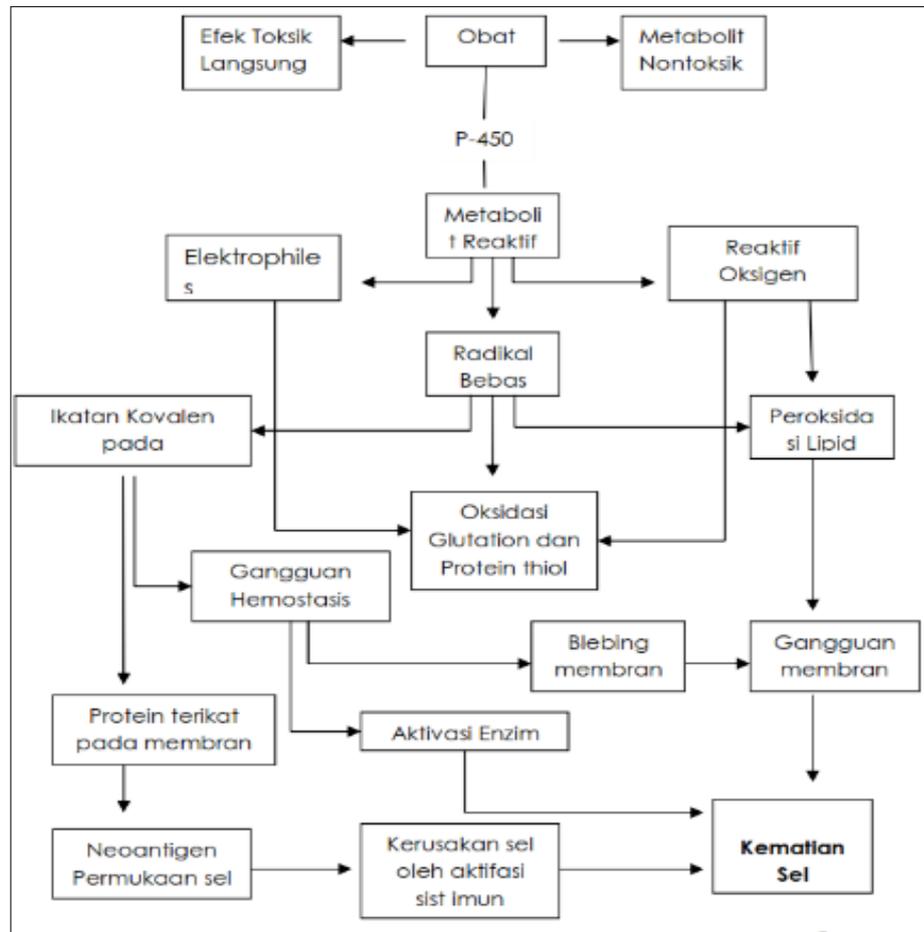
Telah banyak hasil penelitian yang mendukung teori bahwa ikatan kovalen dari senyawa metabolit reaktif ke beberapa protein tertentu dapat mengganggu fungsi protein tersebut. Salah satu contoh adalah lokasi

protein yang memiliki ikatan kovalen masuk ke dalam asinus hepatik memiliki hubungan dengan lokasi kerusakan sel hati karena penggunaan acetaminophen dan kokain (Bartolone, Cohen and Khairallah, 1989; Roth *et al.*, 1992). Contoh lain yaitu perubahan lingkungan yang dapat menurunkan atau meningkatkan rasio ikatan kovalen secara proporsional bisa menurunkan atau meningkatkan sensitivitas hati terhadap kerusakan (Cohen *et al.*, 1997; Boelsterli, 2002).

2. Stres Oksidatif

Hati atau hepar merupakan salah satu organ padat paling besar di dalam tubuh dengan beberapa fungsi metabolime yang membutuhkan energi dalam jumlah banyak. Energi secara umum dihasilkan oleh ATP (*Adenosine Triphosphate*) yang bersumber dari proses reduksi molekul O_2 menjadi H_2O . Hal ini dinamakan proses fosforilasi oksidatif, yang terjadi di dalam mitokondria. Pada proses pembentukan air dan ATP, sekitar 5 persen O_2 akan dikonversi menjadi O_2^- atau anion superoksida yang dikenal sebagai Spesies Reaktif Oksigen (SRO) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS). SRO tersebut bisa dihasilkan di luar mitokondria yang merupakan produk lanjutan hasil metabolime oksidatif oleh sitokrom P_{450} , terutama CYP 3A4 dan CYP 2E1. ROS ini bisa berbahaya bagi sel-sel di dalam tubuh karena bisa bereaksi dengan senyawa protein, lemak, atau DNA (*Deoksiribonukleat Acid*) yang mengakibatkan kerusakan atau kematian sel-sel. (Sies, 1991; Puntarulo and Cederbaum, 1998; Sakurai and Cederbaum, 1998; Ray *et al.*, 2004).

SRO umumnya tidak menumpuk di dalam sel hati atau hepatosit karena organ hati memiliki banyak mekanisme untuk melakukan deaktivasi menjadi bentuk yang tidak bisa merusak atau toksik. Namun ketika SRO sudah mulai menumpuk, sel akan memberikan respons yang disebut “antioksidan respons”, respons ini meliputi mulai dari aktivasi *Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2* (Nrf2) yang merupakan faktor transkripsi yang berfungsi meningkatkan transkripsi berbagai enzim-enzim detoksifikasi dan antioksidan. Suatu keadaan stres oksidatif merupakan keadaan dimana produksi SRO telah melewati kemampuan pertahanan antioksidan oleh sel sehingga mengakibatkan penimbunan SRO dan kerusakan sel. Stres oksidatif bisa menyebabkan apoptosis (kematian sel yang terprogram) dan nekrosis (Sies, 1991; Czaja, 2002; Motohashi and Yamamoto, 2004). Secara umum patomekanisme dijelaskan pada gambar 6.



Gambar 6. Mekanisme Kerusakan pada Hepatitis Imbas Obat (Watkins B, 2007)

2.2.4 Faktor risiko *Drug Induced Hepatitis* (DIH)

Risiko untuk terjadinya DIH adalah kompleks dan melibatkan beberapa faktor yang saling terkait. Telah diketahui bahwa DIH lebih mungkin terjadi pada perempuan dibandingkan laki-laki dan orang tua serta pada pasien dengan penyakit hati yang kronis, HIV, dan obesitas. Banyak dari kemungkinan ini telah diteliti, dan hanya ada sedikit data empiris yang tersedia untuk mendukung validitas faktor-faktor ini (Leise, Poterucha and Talwalkar, 2014).

Usia telah diketahui sebagai faktor risiko untuk DIH, tetapi kelompok usia berisiko berbeda sesuai dengan obat tertentu. Meningkatnya risiko atau kejadian DIH pada lansia disebabkan oleh beberapa hal yang masuk akal secara biologis karena faktor kritis seperti penyerapan, distribusi, metabolisme, dan eliminasi mungkin berbeda pada subkelompok ini (Leise, Poterucha and Talwalkar, 2014).

Telah dikemukakan bahwa perempuan memiliki risiko lebih tinggi terhadap idiosinkrasi DIH daripada laki-laki. Banyak penelitian retrospektif dan studi prospektif telah melaporkan dominan pada perempuan (Leise, Poterucha and Talwalkar, 2014).

Variasi genetik telah dieksplorasi sebagai faktor risiko yang mungkin untuk DIH. Sejumlah besar kasus DIH karena obat amoksisilin / klavulanat telah menjadi sasaran penelitian terkait genomewide yang menunjukkan bahwa human leukocyte antigen (HLA)-I dan genotipe HLA-II memberikan kerentanan (Leise, Poterucha and Talwalkar, 2014).

2.2.5 Parameter Kerusakan Hati

Tes atau pemeriksaan yang umum dilakukan untuk mengetahui kerusakan organ hati adalah dengan mendeteksi kebocoran zat-zat tertentu dari sel-sel hati ke dalam aliran darah. Sebagian besar dari tes atau pemeriksaan tersebut adalah pemeriksaan yang mengukur kadar enzim dalam plasma atau serum. Kadar enzim yang paling sering diukur adalah kadar enzim transaminase. Peningkatan kadar enzim transaminase dalam plasma atau serum diakibatkan oleh sel-sel yang kaya enzim transaminase

mengalami lisis atau nekrosis. Enzim tersebut kemudian akan masuk ke dalam aliran darah (Sulaiman, 1990).

Dua jenis enzim transaminase yang paling sering digunakan untuk menilai kerusakan atau penyakit organ hati adalah SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*) dan (Sulaiman, 1990).

1. Enzim SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*)

Enzim SGPT atau biasa juga disebut ALT (*Alanin Aminotransferase*) memiliki fungsi dimana alanin mengkatalisis reaksi pemindahan gugus amina (NH_2) dari asam amino alanin ke alfa-ketoglutarat. Hasilnya akan membentuk 2 asam amino yaitu: asam piruvat yang berasal dari alanin dan asam glutamat yang berasal dari alfa-ketoglutarat (Moh, 2002). Dengan adanya NADH (*Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen*) dan LDH (*Laktat Dehidrogenase*) maka asam piruvat akan mengalami reduksi menjadi asam laktat dan NAD (*Nikotinamida Adenosin Dinukleotida*) (Moh, 2002).

ALT banyak terdapat di dalam seluruh sel-sel jaringan tubuh manusia, tetapi yang paling banyak dan merupakan sumber utama adalah di dalam sel-sel hati (hepatosit). ALT sebagian besar terikat di dalam sitoplasma. Peningkatan jumlah ALT atau SGPT di dalam darah memiliki hubungan dengan kerusakan yang terjadi di sel-sel hati. Jumlah ALT atau SGPT yang normal pada tikus *Rattus norvegicus* berada diantara 20-60 U/l. Pada

kerusakan yang terjadi di membran sel-sel hati, peningkatan jumlah ALT atau SGPT lebih tampak (Szmidt *et al.*, 2013).

Ketika terjadi kerusakan pada sel-sel hati (baik oleh senyawa obat-obatan yang toksik terhadap hepar atau hati, mikroorganisme, dan lainnya) maka akan terjadi perubahan pada permeabilitas membran sel-sel hati sehingga enzim yang seharusnya berada di dalam sel akhirnya akan keluar dari dalam sel dan masuk ke dalam aliran darah, hal ini disebut serum transaminase karena enzim tersebut terdeteksi saat berada di dalam serum darah (Suciningtyas, 2015).

2. Enzim SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*)

SGOT atau biasa juga disebut AST (*Aspartat Aminotransferase*) terdapat di dalam sel organ tubuh manusia terutama di otot jantung, hati, otot rangka, ginjal, dan pankreas. AST hampir sebagian besar terikat di dalam organel sel dan sisanya hanya sebagian kecil berada di dalam sitoplasma. AST memiliki fungsi dimana aspartat mengkatalisis reaksi pemindahan gugus amina (NH_2) dari asam amino aspartat dan alfa-ketoglutarat menjadi asam amino oksaloasetat dan glutamat. AST memiliki 2 isoenzim yaitu AST-1 yang berada di dalam sitosol (cairan sel) terutama sel darah merah dan jantung. Sedangkan AST-2 merupakan isoenzim yang berada di dalam mitokondria yang lebih dominan berada di dalam sel-sel hati (Gaze 2007). Jumlah AST atau SGOT yang normal pada tikus *Rattus norvegicus* berada diantara 39-111 U/l (Szmidt *et al.*, 2013).

Jumlah serum enzim transaminase adalah indikator yang sensitif pada kerusakan di sel hati. ALT atau SGPT adalah enzim mikrosomal, sedangkan AST atau SGOT adalah enzim sitosolik. Peningkatan jumlah enzim-enzim tersebut bisa diakibatkan karena kerusakan di sel-sel hati oleh virus, obat-obatan, atau toksin yang bisa menyebabkan terjadinya hepatitis. Peningkatan kembali atau tetap tingginya jumlah enzim transaminase biasanya menunjukkan perkembangan penyakit dan nekrosis sel hati. Oleh karena itu diperlukan pemeriksaan atau tes secara berurutan untuk melakukan evaluasi terhadap proses perjalanan penyakit pada hati. Jumlah enzim transaminase di dalam serum dapat diukur dengan metode kolorimetrik atau yang lebih teliti dengan menggunakan metode spektrofotometrik (Bayupurnama P, 2006)

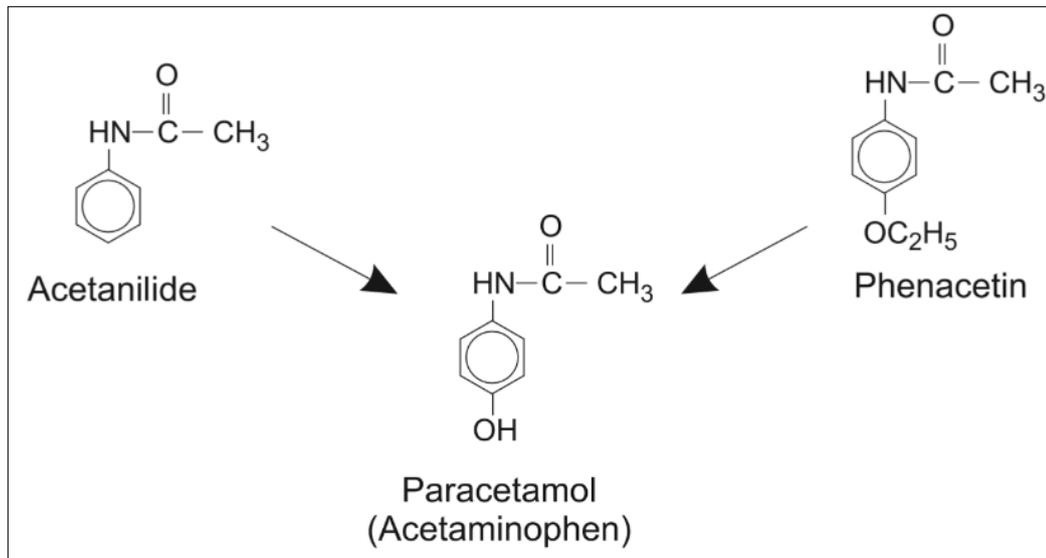
2.3 Acetaminophen (Paracetamol)

2.3.1 Sejarah penemuan dan struktur kimia Acetaminophen (Paracetamol)

Paracetamol adalah nama internasional yang sering digunakan di Eropa sedangkan acetaminophen adalah nama internasional yang lebih sering digunakan di Amerika Serikat. Keduanya merupakan nama resmi dari senyawa kimia yang sama. Nama ini berasal dari nama kimianya yaitu: N-acetyl-para-aminophenol (segmen "cet" yang disisipkan di antara "para" dan "amino") dan **Nacetyl-para-aminophenol**.

Obat ini memiliki sejarah panjang dan seperti yang sering terjadi pada penemuan-penemuan penting, obat ini ditemukan secara kebetulan. Pada tahun 80-an abad ke-19, dua dokter muda di University of Strasburg, untuk memberantas cacing secara tidak sengaja memberikan acetanilide kepada pasien yang mestinya naftalena. Mereka memperhatikan bahwa obat itu berdampak kecil pada parasit usus, namun, secara signifikan menurunkan suhu tinggi.

Dokter muda Arnold Chan dan Paul Heppa dengan cepat mempublikasikan penemuan mereka dan acetanilide diperkenalkan ke dalam praktik medis pada tahun 1886 dengan nama antifebrin. Segera terlihat bahwa walaupun produksi obat ini sangat murah, acetanilide tidak dapat digunakan sebagai obat antipiretik karena toksisitasnya yang tinggi, yang paling mengkhawatirkan adalah methemoglobinemia. Ini menghasilkan banyak penelitian tentang turunan yang kurang toksik dari acetanilide. Phenacetin dan N-acetyl-p-aminophenol tampaknya merupakan senyawa yang paling memuaskan, yang sebelumnya telah disintesis oleh Harmon Northrop Morse pada tahun 1878 (Morse, 1878; Von Mering, 1893; Singh, Kumar and Mishra, 2019).



Gambar 7. Struktur kimia analgesik - turunan anilin (Morse, 1878).

Uji klinis pertama dengan dua turunan acetanilide dilakukan oleh seorang farmakologis Jerman Joseph von Mering. Atas dasar hasil yang diperoleh, kesimpulan yang salah diambil bahwa parasetamol ditandai dengan toksisitas tinggi mirip dengan asetanilid, oleh karena itu fenacetin adalah turunan pertama yang diperkenalkan ke dalam praktik medis pada tahun 1887. Fenacetin banyak digunakan dalam campuran analgesik sampai saat ketika itu dikaitkan dengan pengembangan nefropati analgesik setelah penggunaan yang lama (Von Mering, 1893).

Di Polandia, fenacetin digunakan sebagai komponen analgesik yang sangat populer dan tersedia di mana saja dengan tablet silang. Faktanya, acetaminophen / paracetamol menjadi populer setengah tahun kemudian pada tahun 1948 ketika Bernard Brodie dan Julius Axelrod menunjukkan bahwa parasetamol adalah metabolit aktif utama dari acetanilide dan phenacetin yang bertanggung jawab atas aksi analgesik dan antipiretiknya

dan methemoglobinemia diinduksi oleh metabolit lain, fenilhidroksilamin (Brodie and Axelrod, 1948). Penemuan itu merevolusi pasar farmasi obat analgesik dan sejak itu parasetamol telah memulai karirnya yang mengejutkan.

2.3.2 Penggunaan acetaminophen (paracetamol)

Ditematkannya parasetamol pada tangga analgesik WHO, yang secara tepat mendefinisikan aturan untuk penerapan obat analgesik. Obat ini telah ditempatkan pada ketiga langkah intensitas perawatan nyeri. Ketika rasa sakit bertahan atau meningkat, parasetamol digunakan sebagai analgesik tambahan dengan opioid lemah (Kafein, tramadol) atau kuat (Morfin, phentanyl) dari langkah kedua dan ketiga dari tangga analgesik. Paracetamol jika digunakan secara efisien adalah analgesik oral yang direkomendasikan dari pilihan pertama yang akan digunakan untuk waktu yang lama, misalnya, dalam pengobatan simptomatik dari nyeri ringan dan sedang yang terjadi pada osteoarthritis serta nyeri otot atau tendon (Ji *et al.*, 2012; Leung, 2012).

Penggunaan parasetamol pada anak-anak memerlukan perawatan khusus dan mempertahankan dosis yang memadai (berdasarkan usia), yang berbeda secara signifikan dari orang dewasa standar. Sebagai perbandingan, pada orang dewasa, parasetamol dimetabolisme terutama di hati melalui glukuronidasi (50-60%), sulfasi (25-30%) dan oksidasi (<10%) . Karena itu, menurut Ji *et al.*, dosis yang diusulkan parasetamol

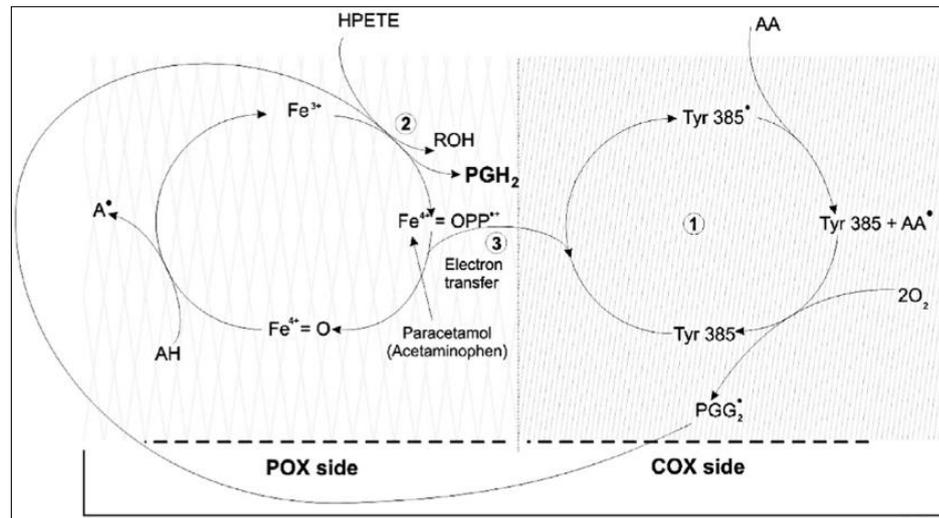
pada anak-anak hingga 12 tahun berbeda-beda (Ji *et al.*, 2012; Leung, 2012).

Menurut edisi ke-20 dari Obat Terapi Kontemporer (Polandia), dosis pemberian acetaminophen pada pasien anak harus sebagai berikut: dosis oral 10-15 mg per kg berat badan dan dosis dubur 15-20 mg per kg berat badan setiap 4-6 jam, maksimal 5 dosis per hari; pada bayi baru lahir secara oral atau rektal 10 mg per kg berat badan setiap 4 jam atau 15 mg per kg berat badan setiap 6 jam (dosis harian maksimal pada bayi baru lahir adalah 60 mg per kg berat badan) (Ji *et al.*, 2012).

2.3.3 Mekanisme aksi

Acetaminophen memiliki sifat analgesik dan antipiretik mirip dengan NSAID, tetapi sebaliknya, tidak memiliki aktivitas anti-inflamasi. Ketika digunakan dalam dosis yang direkomendasikan, acetaminophen tidak menginduksi secara spesifik efek samping gastrointestinal seperti NSAID. Namun, acetaminophen juga menekan produksi prostaglandin seperti NSAID (Smith, 2009).

Karena kurangnya komponen anti-inflamasi, acetaminophen belum dianggap sebagai anggota keluarga NSAID dalam buku teks farmakologis, meskipun yang menarik, selalu dibahas bersama dengan obat-obatan ini. Oleh karena itu, diskusi tentang mekanisme aksi parasetamol harus dimulai dari analisis aksi NSAID (Smith, 2009).



Gambar 8. Kompleks prostaglandin H synthase (PGHS) (Ouellet and Percival, 2001).

Kompleks prostaglandin H synthase (PGHS) termasuk dua komponen: cyclooxygenase (COX) dan hydroperoxidase (POX) adalah enzim bifunctional yang bertanggung jawab untuk metabolisme asam arakidonat (AA) menjadi prostaglandin PGH_2 . Reaksi terjadi melalui dua tahap:

1. Oksidasi AA menjadi PGG_2 tergantung pada radikal tirosin ($\text{Tyr}385^*$) di situs COX.
2. PGG_2 mengalami reduksi menjadi PGH_2 di situs POX, yang menghasilkan oksidasi radikal heme peroksidase.

Acetaminophen mengurangi kation besi dalam radikal protoporphyrin IX ($\text{Fe}^{4+}=\text{OPP}^{*+}$) di bagian POX, yang berkontribusi pada jumlah yang lebih rendah dari pembentukan radikal $\text{Tyr}385^*$.

2.3.4 Efek samping acetaminophen

Ketika dosis yang tepat dari obat-obatan yang mengandung acetaminophen digunakan, yaitu dosis maksimum 4 g/24 jam, maka tidak ada efek samping serius yang muncul, selain kemungkinan reaksi alergi pada kulit. Selama minum obat, beberapa efek samping dapat terjadi, terutama di hati (Graham, Scott and Day, 2005).

Setelah mengkonsumsi acetaminophen, sekitar 90 persen senyawanya akan mengalami metabolisme di organ hati yang berkonjugasi dengan asam glukuronat (50-60 persen), asam sulfat (25-35 persen), dan sistin (sekitar 3 persen) untuk menghasilkan metabolit yang tidak aktif secara farmakologis, yang dieliminasi melalui urin. Sejumlah kecil acetaminophen (sekitar 5 persen) dieliminasi dalam bentuk yang tidak berubah oleh ginjal. Sekitar 5 persen acetaminophen selanjutnya mengalami N-hidroksilasi di dalam hati dengan keterlibatan enzim sitokrom P450 (terutama CYP2E1) untuk membentuk metabolit toksik N-asetilbenzoquinon imin (NAPQI) yang sangat cepat dinonaktifkan oleh kelompok glutathione sulfhidril dan diekskresikan dengan urin sebagai asam merkapturat (Bertolini *et al.*, 2006).

Kerusakan hati yang parah setelah pemberian acetaminophen yang overdosis dilaporkan untuk pertama kalinya di Inggris pada tahun 1966. Sejak saat itu, terjadi peningkatan terus-menerus. Penyebab utama dari kejadian tersebut adalah sejumlah besar obat yang mengandung acetaminophen, yang tersedia di pasar farmasi tanpa resep apa pun.

Overdosis acetaminophen yang disengaja maupun tidak disengaja jika mengkonsumsi lebih dari 4 gram per 24 jam, contoh lebih dari 8 tablet dengan sediaan tablet 500 mg. Dalam situasi seperti itu, acetaminophen menjadi obat yang berbahaya dan mengancam jiwa karena metabolit NAPQI yang sangat reaktif secara kovalen berikatan dengan makromolekul hepatosit yang menyebabkan pemiskinan sistem enzimatik dan kerusakan struktural dan metabolik pada hati (nekrosis hepatic hati yang potensial).

Pada tahap akhir, nekrosis tubular ginjal dan koma hipoglikemik dapat muncul. Perlu disebutkan bahwa fungsi hati yang melemah akibat penggunaan alkohol berlebihan atau penggunaan acetaminophen yang dikombinasikan dengan obat-obatan yang menginduksi sitokrom P450 (rifampicin, barbiturate, carbamazepine) dapat menyebabkan kerusakan hati lebih mudah, bahkan ketika senyawa tersebut digunakan dalam dosis terapi. Perkembangan gagal hati akut akibat penggunaan acetaminophen yang berlebihan (7,5-15 gram per 24 jam) serta metode pengobatannya telah dibahas secara tepat dalam banyak penelitian selama sepuluh tahun terakhir (Davidson and Eastham, 1966a; Mour *et al.*, 2005).

2.4 Madu Kelulut (*Trigona spp.*)

2.4.1 Pendahuluan

Madu adalah produk makanan alami yang penting sejak zaman kuno dan dikenal karena nilai gizi dan terapeutiknya. Ini dihasilkan dari eksudat tanaman cair yang dikumpulkan, dimodifikasi, dan disimpan oleh berbagai

jenis lebah (Namias, 2003). Lebah kelulut berasal yang dari genus *Trigona* yang merupakan genus terbesar dari *stingless bee* atau lebah madu yang tidak menyengat yang berasal dari Neotropik dan kawasan Indo-Australia. Lebah madu yang tidak menyengat atau *stingless bee honey* (SBH) dapat diklasifikasikan menjadi dua genus, yaitu *Melipona* dan *Trigona* (Michener, 2000). Keduanya memiliki peran penting dalam penyerbukan bunga. Madu yang diproduksi oleh lebah yang tidak menyengat (*stingless bee*) dikenal dengan berbagai nama seperti madu Meliponine, madu pot SBH (*stingless bee honey*), dan juga madu Kelulut (di Malaysia). Ini adalah salah satu produk lebah yang berharga dan digunakan sebagai pengobatan oleh masyarakat kuno (Heard, 1999; Souza *et al.*, 2006; Gallai *et al.*, 2009; Knapp, Shaw and Osborne, 2019).



Gambar 9. (a) Lebah tidak menyengat (*stingless bee*), (b) Madu lebah yang tidak menyengat di dalam sarang (Michener, 2000).

Sejak abad ke-20, berbagai penelitian tentang sifat kimia dan biologis madu telah dilakukan karena antibakteri, bakteriostatik, anti peradangan,

luka, dan efek penyembuhan luka bakar akibat sinar matahari yang luar biasa. Madu menunjukkan aktivitas antioksidan, antikanker, dan antiatherogenik yang signifikan yang mungkin sebagian disebabkan oleh senyawa-senyawa terkandung didalamnya (M Alvarez-Suarez, Giampieri and Battino, 2013).

2.4.2 Sifat fisikokimia dan kandungan gizi

Madu telah dilaporkan memiliki lebih dari 200 senyawa dengan gula sebagai komponen utamanya. Asam fenolik, flavonoid dan karotenoid adalah senyawa bioaktif yang ditemukan dalam madu dengan sifat antioksidan yang sangat baik. Namun, senyawa ini dipengaruhi oleh asal bunga, sehingga menyebabkan aneka sifat anti oksidatif yang luas dari madu yang berbeda. Kapasitas anti oksidatif dari madu diyakini dapat meringankan kondisi patologis seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan diabetes. Sebagai contoh, Madu kelulut (*Trigona spp.*) telah memiliki bukti yang memperlihatkan aktivitas antioksidan yang spesifik dan memperlihatkan kemampuan yang luar biasa dalam hal mengurangi proses infeksi dan peradangan (Escudero *et al.*, 2013).

Di samping air dan gula sebagai kandungan utama, kita juga mengetahui madu kaya akan vitamin, enzim, asam amino, dan mineral, dengan hampir 200 senyawa yang berbeda dilaporkan. Biasanya, madu bersifat asam karena pH rendah (pH 4), dan terdiri dari 80% gula dan 17% air, sedangkan 3% sisanya disumbangkan oleh berbagai enzim, asam, dan mineral. Namun, komposisi madu berbeda sesuai dengan sumber dan asal

usul floranya (Lusby, Coombes and Wilkinson, 2002; Kahraman *et al.*, 2010). Fruktosa dilaporkan sebagai gula paling banyak ditemukan pada madu dengan sekitar 31-39% dari berbagai gula dalam madu. Mineral atau elemen yang terkandung dalam madu adalah kalium, seng, fosfor, kalsium, natrium, magnesium, belerang, tembaga, besi, dan mangan (Rao *et al.*, 2016).

Karena memiliki rasa yang unik serta nilai gizi tinggi, harga madu relatif lebih tinggi daripada pemanis lainnya. Pemalsuan madu adalah masalah serius yang saat ini memiliki dampak yang signifikan terhadap ekonomi yang tak terbantahkan. Kurangnya pengetahuan tentang komposisi dan karakteristik fisikokimia madu kelulut (*Trigona spp.*) di seluruh dunia telah menyebabkan proses pemalsuan terjadi (Fuenmayor *et al.*, 2013).

Tabel 2. Karakteristik fisikokimia dari madu lebah yang tidak menyengat (*Trigona spp.*) (Fuenmayor *et al.*, 2013)

No.	Sifat fisikokimia	Madu lebah yang tidak menyengat (<i>Trigona spp.</i>)
1.	Penampilan	Kuning kecoklatan
2.	Kadar kelembaban (%)	25,00–31,00
3.	pH	3,15–4,66
4.	Total gula pereduksi (%)	54,90–87,00
5.	Glukosa	8,10–31,00
6.	Fruktosa	31,11–40,20
7.	Sukrosa	0,31–1,26
8.	Maltosa	tidak terdeteksi
9.	Kalsium	0,017
10.	Kalium	0,07
11.	Natrium	0,012
12.	Magnesium	0,004
13.	Berat jenis	tidak terdeteksi
14.	Konduktivitas listrik (mS/cm)	0,49–8,77
15.	HMF/Hydroxymethylfurfural (mg/kg)	8,80–69,00
16.	Kadar abu (g/100g)	0,01–0,12

Nilai gizi dan terapi yang tinggi dari madu telah didokumentasikan dengan baik sejak dulu. Sebelum gula tebu digunakan secara luas, madu selalu menjadi pilihan pemanis alami. Madu adalah solusi terkonsentrasi untuk mengurangi gula seperti fruktosa dan glukosa dan gula yang tidak berkurang seperti sukrosa dan maltosa. Hasilnya, madu terasa lebih manis daripada sukrosa karena daya pemanis fruktosa adalah 1,3 sedangkan sukrosa yang diturunkan dari tebu hanya 1, menjadikannya pengganti yang lebih baik sebagai pemanis, dengan nilai gizi lebih tinggi dibandingkan dengan gula komersial (Feller-Demalsy, Vincent and Beaulieu, 1989).

Madu adalah salah satu sumber energi yang luar biasa karena konsentrasinya yang tinggi. Input energi yang dihasilkan oleh madu adalah sekitar 300 kkal per 100 g. Nilai kalori yang tinggi dari madu membuatnya cocok untuk atlet karena mengandung glukosa yang mudah diserap yang akan diubah menjadi energi dalam waktu singkat. Selain digunakan sebagai sumber energi, madu juga penting untuk tulang dan gigi. Ini membantu dalam penyerapan retensi kalsium dan magnesium yang dapat berkontribusi pada tulang yang lebih kuat dan kalsifikasi gigi lebih baik. Hal ini dikarenakan kandungan karbohidrat yang tidak bisa dicerna seperti *raffinosa* akan menghasilkan *Short Chain Fatty Acids* (SCFA) atau asam lemak rantai pendek sebagai produk sampingan dari proses fermentasi dalam sekum dan usus besar. SCFA membantu menurunkan pH usus dan menciptakan lingkungan yang menguntungkan yang meningkatkan mineral

seperti kelarutan dan penyerapan kalsium (Feller-Demalsy, Vincent and Beaulieu, 1989b; Ariefdjohan *et al.*, 2008).

2.4.3 Kandungan polyphenol

Flavonoid dan asam fenolik adalah kelompok polifenol yang paling umum yang sebelumnya terdeteksi di madu. Sedangkan untuk kelompok flavonoid seperti flavonol, flavon, dan flavanon telah terdeteksi di dalam madu. Polifenol umum yang terdeteksi di madu, masing-masing dengan efek terapi potensial yang berbeda (Hossen *et al.*, 2017).

Tabel 3. Senyawa fenolik umum dengan potensi manfaat kesehatannya yang terkandung di dalam madu lebah yang tidak menyengat (*Trigona spp.*) (Hossen *et al.*, 2017)

No.	Senyawa	Formula molekul	Potensi manfaat kesehatan
1.	Asam galat (<i>Gallic acid</i>)	C ₇ H ₆ O ₅	Antioksidan, antiperadangan, aktivitas kardioprotektif, antimutagenik, dan antikanker
2.	Asam caffeic (<i>Caffeic acid</i>)	C ₉ H ₈ O ₄	Pengobatan penyakit kardiovaskular, efek anti-inflamasi, antikanker, dan antidiabetes
3.	Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Pengobatan penyakit kardiovaskular, potensi antidiabetes, dan anti-inflamasi
4.	Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	Anti-inflamasi, antimutagenik, dan mengobati penyakit kardiovaskular
5.	Chrysin	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	Memperbaiki defisit kognitif dan kerusakan otak serta antikanker
6.	Asam sinamat (<i>Cinnamic acid</i>)	C ₉ H ₈ O ₂	Memperbaiki defisit kognitif dan kerusakan otak serta efek antimikroba
7.	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	Mengobati penyakit kardiovaskular
8.	Asam p-Coumaric (<i>p-Coumaric acid</i>)	C ₉ H ₈ O ₃	Aktivitas antikanker, memperbaiki defisit kognitif dan kerusakan otak
9.	Quercetin-3-O-rutinoside (rutin)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Antialergi, anti-inflamasi, antiproliferatif, dan antitumor

2.4.4 Manfaat tradisional dan efek terapeutik

Madu secara alami telah digunakan untuk mengobati dan mencegah berbagai jenis penyakit sejak bertahun-tahun yang lalu. Sebagai contoh, bayi baru lahir diberi makan dengan madu *Trigona spp.* sebagai suplemen, sementara itu madu *Trigona spp.* juga telah digunakan oleh dokter Ayurvedic sebagai alternatif untuk obat-obatan, dan direkomendasikan untuk memenuhi kebutuhan kalori langsung untuk pasien (Basualdo *et al.*, 2007; Ajibola, Chamunorwa and Erlwanger, 2012).

Madu sering dikonsumsi bersamaan dengan minuman panas, atau bahkan sendiri. Sebagai obat, madu *Trigona spp.* digunakan untuk mengobati berbagai penyakit dengan menggabungkan madu ini dengan bahan-bahan yang berbeda seperti lemon, agave mezcacal, dan pulp dari *Crescentia alata*. Kombinasi itu digunakan untuk mengobati pilek, batuk, dan penyakit pernapasan seperti bronkitis. Selain itu, madu *Trigona spp.* secara luas digunakan sebagai bagian mendasar dari pengobatan oleh dokter tradisional suku Maya sebagai obat untuk demam tinggi, perawatan untuk luka dan luka bakar, dan juga obat untuk sengatan beracun (Rosales, 2013).

Meskipun penggunaan tradisional madu sebagai agen terapi, madu baru-baru ini diakui dalam pengembangan obat modern karena kualitas gizinya yang berharga. Ini juga menggambarkan sifat potensial terhadap spesies oksigen reaktif (ROS), bertindak efektif sebagai agen anti-peradangan dan antibakteri terhadap bakteri dan jamur dan pengganti

potensial dalam mengurangi batuk dan menyembuhkan luka. Madu mengandung berbagai polifenol, yang berbeda menurut asal dan spesies lebah. Berbagai polifenol, yang beberapa di antaranya juga terdeteksi dalam madu, telah terbukti menghambat perkembangan banyak penyakit. Mereka melakukan tindakan ini melalui beberapa mekanisme spesifik seperti pengaturan ekspresi gen spesifik atau mengubah jalur metabolisme dengan cara mempromosikan atau memblokir jalur tertentu (Meo *et al.*, 2017).

2.4.5 Dosis pemberian Madu Trigona

Mengonsumsi madu selama dua minggu secara terus menerus dengan dosis 1,2 g/kg pada subjek sehat telah menunjukkan peningkatan status antioksidan (Al-Waili, 2003). Selain itu, uji klinis telah membuktikan bahwa konsumsi makanan yang ditambah dengan 1,5 g/kg meningkatkan tingkat antioksidan (Schramm *et al.*, 2003). Meskipun demikian, terdapat berbagai percobaan *in vivo* yang merancang dosis perawatan madu berdasarkan skala isometrik (ekstrapolasi langsung berbasis g/kg) . Madu Trigona diberikan secara oral ke hewan pengerat dengan dosis berkisar dari 1 hingga 2 g/kg/hari yang digunakan sebelumnya dalam uji klinis (Hussein *et al.*, 2012; Kadir *et al.*, 2013). Dalam penelitian saat ini, kami menghitung dosis SBH sesuai dengan pedoman Food and Drug Administration (FDA). Berdasarkan uji klinis sebelumnya (Schramm *et al.*, 2003).

Madu yang dikonsumsi dengan dosis 1,5 g/kg diubah secara matematis menjadi dosis setara hewan menggunakan penskalaan alometrik. Dosis setara hewan dari senyawa biologis dihitung menggunakan rumus berikut:

$$AED \left(\frac{mg}{kg} \right) = HED \left(\frac{mg}{kg} \right) \times Km \text{ ratio}$$

Keterangan: AED (*Animal Equivalent Dose*), HED (*Human Equivalent Dose*), dan Km ratio adalah faktor koreksi yang diperkirakan dengan membagi berat badan rata-rata (kg) spesies dengan luas permukaan tubuhnya (mm²).

Dengan demikian faktor koreksi tikus sama dengan 6,2. Panduan ini adalah yang paling dapat diterima untuk konversi dosis manusia ke hewan untuk agen aktif biologis (Wojcikowski and Gobe, 2014; Nair and Jacob, 2016). Berdasarkan persamaan ini, AED adalah 9,3 mg/gr.

2.5 Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza rhizoma extract*)

Tumbuhan temulawak atau *Curcuma xanthorrhiza rhizoma* merupakan tanaman herbal yang sudah dikenal sejak dahulu kala. Terutama di Indonesia tumbuhan temulawak sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. *Curcuma xanthorrhiza rhizoma* tergolong ke dalam suku temu-temuan atau Zingiberaceae.

Ekstrak temulawak atau *Curcuma xanthorrhiza rhizoma extract* adalah salah satu bahan alami yang paling sering digunakan sebagai pelindung

bagi tubuh, salah satunya melindungi organ hati (Farzaei *et al.*, 2018). Ekstrak temulawak atau biasa disebut ekstrak curcuma memiliki kandungan kurkumin yang mampu melindungi dan mengobati penyakit hati dengan cara mengubah jalur intra seluler yang berbeda. Kurkumin menghambat aktivasi dan proliferasi sel punca hematopoietik sehingga menyebabkan penurunan produksi kolagen matriks ekstraseluler dan melindungi hati dari proses terbentuknya jaringan parut atau fibrogenesis (Motterlini *et al.*, 2000; Fu *et al.*, 2008).

Kandungan kurkumin dalam ekstrak curcuma memiliki sifat antioksidan yang kuat dan efek hepatoprotektif yang signifikan terhadap kerusakan hati yang diinduksi acetaminophen atau paracetamol. Hal ini berguna dalam mengurangi efek toksisitas obat tersebut terhadap hati (Motterlini *et al.*, 2000; Fu *et al.*, 2008).

2.6 Uraian Hewan Uji

2.6.1 Klasifikasi hewan coba

Berdasarkan *The Integrated Taxonomic Information System* tahun 2018 tikus putih memiliki nama spesies *Rattus norvegicus* yang berasal dari genus *Rattus*, familiia Muridae, subordo Odontoceti, ordo Rodentia , kelas Mamalia , Fflum Chordata, dan kingdom Animalia.

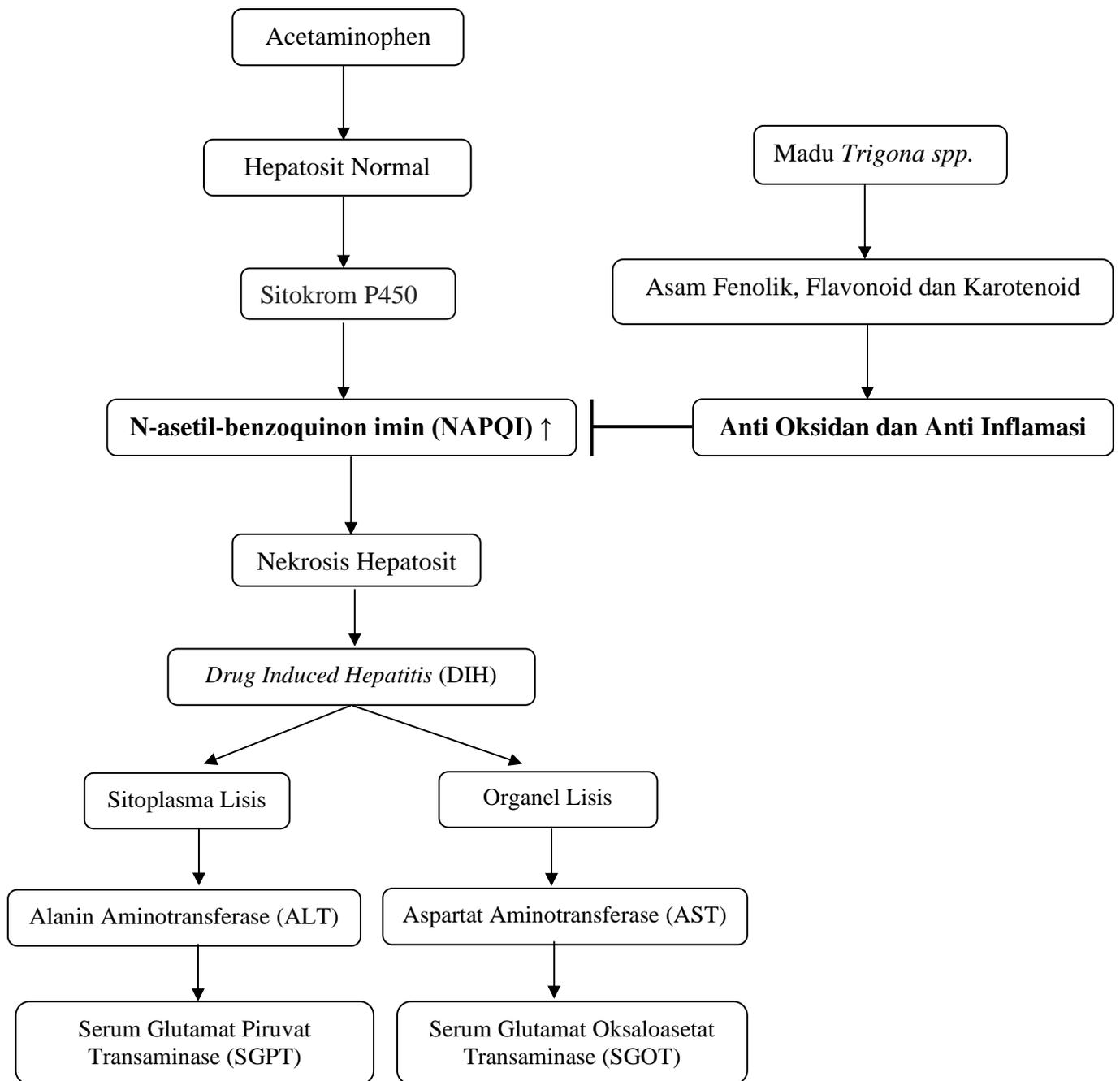
2.6.2 Karakteristik tikus putih

Tikus putih atau spesies *Rattus norvegicus* memiliki karakteristik antara lain: umur 2-3 tahun, berat badan 450-520 gram untuk jantan dan

250-300 gram untuk betina, berat lahir 5-6 gram, luas permukaan tubuh 130 cm², suhu tubuh 35,9⁰ – 37,5⁰ C, siklus birahi 60-110 hari, jumlah pernapasan normal 94-163/menit, dan sifat yang aktif (Malole and Pramono, 1989).

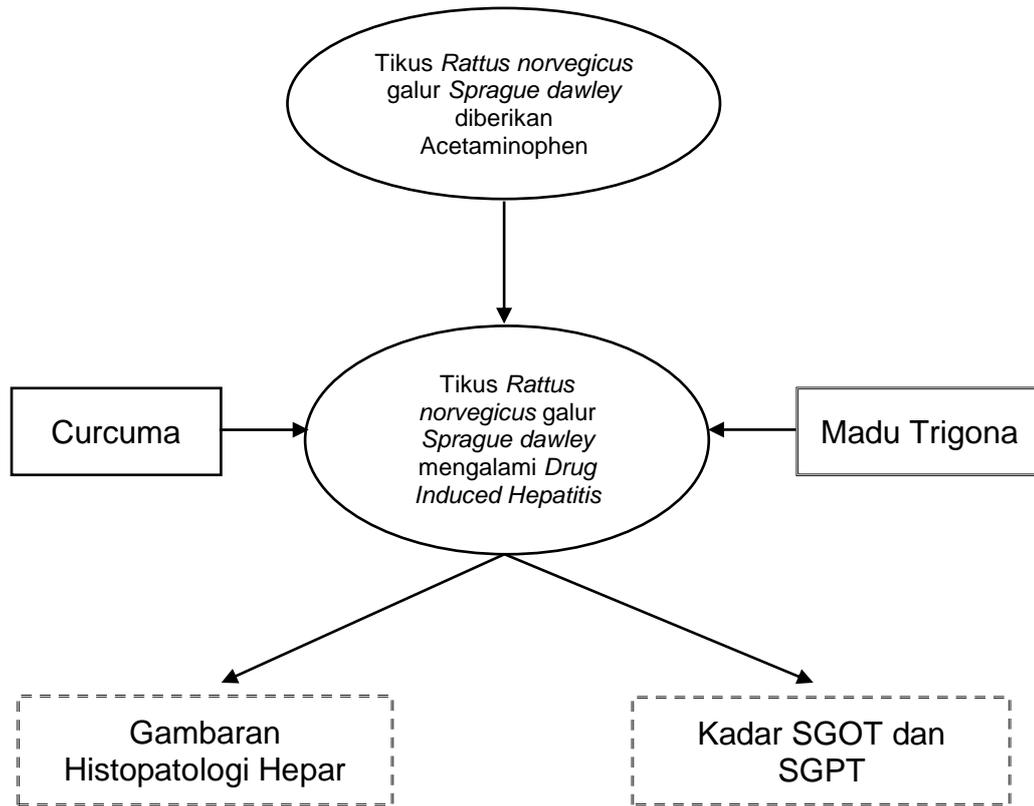
Tikus putih atau *Rattus norvegicus* merupakan jenis hewan pengerat yang sering digunakan sebagai hewan uji untuk penelitian. Hal ini disebabkan karena *Rattus norvegicus* adalah hewan yang bisa mewakili dari kelas mamalia dengan kelengkapan organ, metabolisme biokimia, kebutuhan nutrisi serta sistem reproduksi, peredaran darah, pernafasan, dan ekskresi yang menyerupai manusia. Tikus putih atau *Rattus norvegicus* dengan galur *Sprague dawley* adalah hewan uji yang paling sering digunakan untuk penelitian karena memiliki berbagai sifat yang menguntungkan (Wolfensohn and Lloyd, 2008).

2.7 Kerangka Teori



Gambar 10. Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Keterangan:

□ : Variabel Independen atau Bebas

○ : Variabel Antara

□ (dashed) : Variabel Dependen atau Terikat

Gambar 11. Kerangka konsep

2.9 Hipotesis

1. **H0:** Pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) tidak memiliki efek sebagai hepatoprotektor pada tikus *Sprague dawley* yang mengalami telah diinduksi acetaminophen.
2. **H1:** Pemberian madu kelulut (*Trigona spp.*) memiliki efek sebagai hepatoprotektor pada tikus *Sprague dawley* yang telah diinduksi acetaminophen.