

**UJI EFEKTIVITAS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*  
L.) DALAM MELINDUNGI HEPATOTOKSISITAS PADA  
TIKUS (*Rattus novergicus*) AKIBAT PEMBERIAN  
LEVOFLOKSASIN SECARA SUBKRONIK**

*THE EFFECT OF BLACK SEED OIL (*Nigella sativa*) AGAINST  
LEVOFLOXACIN-INDUCED HEPATOTOXICITY DUE TO  
SUBCHRONIC ADMINISTRATION IN RATS  
*Rattus novergicus**

**NURFADILAH**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**UJI EFEKTIVITAS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*  
L.) DALAM MELINDUNGI HEPATOTOKSISITAS PADA  
TIKUS (*Rattus novergicus*) AKIBAT PEMBERIAN  
LEVOFLOKSASIN SECARA SUBKRONIK**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

**NURFADILAH**

kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

## TESIS

# UJI EFEKTIVITAS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) DALAM MELINDUNGI HEPATOTOKSISITAS PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) AKIBAT PEMBERIAN LEVOFLOKSASIN SECARA SUBKRONIK

Disusun dan diajukan oleh

NURFADILAH


Nomor Pokok N012181009

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 26 November 2020

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui  
Komisi Penasihat,

  
Yulia Yuetri Digher, M.Si, MBM Sc., Ph.D., Apt  
Ketua

  
Dr. Ari Santosa, Sc., Ph.D., FAPOR  
Anggota

Ketua Program Studi Magister  
Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi

  
Mubammad Awwad, S.Si, M.Si, Ph.D., Apt

Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanudin

  
Prof. Subehan, M.Pharm Sc., Ph.D., Apt



## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertandatangan di bawah ini

Nama : Nurfadilah  
Nomor Mahasiswa : N012181009  
Program studi : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 26 November 2020

Yang Menyatakan



  
Nurfadilah

## PRAKATA

Bismillah Alhamdulillah puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah *subhanahu wa ta'ala* dengan selesainya tesis ini. Gagasan yang melatarbelakangi penulis mengambil permasalahan ini untuk memanfaatkan sumber daya keanekaragaman hayati dalam meminimalisir efek samping penggunaan obat terhadap organ khususnya pada penggunaan obat jangka panjang.

Banyak kendala yang dihadapi selama penelitian dan penyusunan tesis ini, namun alhamdulillah dapat diselesaikan dengan baik berkat bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Yulia Yusrini Djabir, M.Si., MBM.Sc., Ph.D., Apt dan Bapak dr. Arif Santoso, Sp.P., Ph.D., FAPSR selaku Komisi Penasihat yang telah banyak memberi bantuan, masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyelesaian tesis ini. Terima kasih kepada Komisi Penguji Ibu Prof. Dr.rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt., Ibu Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt., dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt. yang telah memberi masukan dalam penyusunan tesis ini.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua penulis yang selalu memberikan dukungan, doa dan semangat. Ucapan terima kasih juga kepada saudara serta rekan-rekan magister pascasarjana farmasi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Semoga Allah *subhanahu wa ta'ala* memberikan balasan atas kebaikan yang telah Bapak/Ibu/Saudara berikan dan semoga tesis ini dapat bermanfaat.

Makassar, November 2020

Nurfadilah

## ABSTRAK

NURFADILAH. *Uji Efektivitas Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa L.) Dalam Melindungi Hepatotoksisitas Pada Tikus (Rattus novergicus) Akibat Pemberian Levofloksasin Secara Subkronik (Dibimbing oleh Yulia Yusrini Djabir dan Arif Santoso)*

Levofloksasin merupakan salah satu antibiotik golongan fluorokuinolon dan digunakan sebagai pilihan pertama dalam terapi multi-drug resistant tuberculosis. Obat ini dapat menginduksi terjadinya hepatotoksisitas yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar biomarker serta adanya kerusakan hepatoseluler.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif dari minyak jintan hitam terhadap organ hati dan biomarker penanda kerusakan hati pada tikus yang diberikan induksi levofloksasin.

Sebanyak 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol sehat diberikan suspensi NaCMC 1%, kelompok II diinduksi suspensi levofloksasin, sementara kelompok III, IV dan V secara berurutan diberikan minyak jintan hitam 1 ml/kgBB, 2 ml/kgBB, 4 ml/kgBB dan setelah 2 jam diinduksi dengan suspensi levofloksasin. Perlakuan dilaksanakan sekali sehari selama 28 hari. Pengambilan sampel darah dilakukan 24 jam sebelum pemberian perlakuan dan 24 jam setelah 28 hari perlakuan kemudian diukur menggunakan humalyzer dan organ hati dianalisis histopatologinya menggunakan parameter mikroskopik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian levofloxacin selama 28 hari meningkatkan nilai AST, ALT dan GGT lebih dari 100% dari nilai awalnya dan menunjukkan signifikansi terhadap kelompok kontrol sehat biomarker hati ( $p < 0.05$ ). Pemberian minyak jintan hitam mampu mengurangi secara signifikan peningkatan biomarker hati, terutama pada dosis 1 ml/kgBB. Kerusakan histologi seperti degenerasi sel, infiltrasi sel inflamasi, kongesti dan hemoragi juga berkurang dengan pemberian minyak jintan hitam dosis 1 ml/kg, 2 ml/kg dan 4 ml/kg BB. Dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak jintan hitam dapat memberikan efek protektif terhadap hepatotoksisitas akibat induksi levofloxacin pada tikus.

Kata Kunci : Levofloksasin, Minyak jintan hitam, AST, ALT, GGT, Histopatologi, Hepatotoksik

## ABSTRACT

NURFADILAH. *The Effect Of Black Seed Oil (Nigella Sativa) Against Levofloxacin-Induced Hepatotoxicity Due To Subchronic Administration In Rats Rattus novergicus* (Supervised by Yulia Yusrini Djabir and Arif Santoso)

Levofloxacin is a fluoroquinolone antibiotic that has become the first choice of multi-drug resistant tuberculosis therapy. The drug can induce hepatotoxicity, characterized by an increase in biomarker levels as well as the presence of hepatocellular damage.

This study aimed to determine the effects of black seed oil on liver function biomarkers and histopathology changes after subacute administration of levofloxacin in rats.

Twenty five rats were divided into 5 groups. Group I served as healthy control was only given 1% NaCMC suspension, group II was given levofloxacin suspension, while groups III, IV and V were given black seed oil 1 ml, 2 ml, 4 ml/kg body weight, respectively, and after 2 hours, rats were induced with levofloxacin suspension. Treatment was given for 28 days orally. Blood samples were taken before treatment and 24 hours after 28 days treatment then analyzed with a humalyzer, while liver histopathology was analyzed with microscopic parameters.

The results showed that the administration of levofloxacin for 28 days increased the AST, ALT and GGT levels more than 100% from the initial values and showed statistical significance compared to the normal group ( $p < 0.05$ ). The administration of black seed oil significantly reduced the increase of liver biomarkers, especially at a dose of 1 ml/kg body weight. Histopathological damage such as cell degeneration, infiltration of inflammatory cells, congestion and hemorrhage were also reduced with black seed oil administration at a dose of 1 ml / kg, 2 ml / kg and 4 ml / kg BW. It can be concluded that the administration of black seed oil can protect the liver from hepatotoxicity due to levofloxacin induce in rats.

Keywords: Levofloxacin, Black seed oil, AST, ALT, GGT, Histopathology, Hepatotoxicity

## DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Jintan Hitam	5
B. Levofloksasin	11
C. Hati	18
D. Tikus	32
E. Kerangka Konseptual	36
F. Hipotesis	38
BAB III METODE PENELITIAN	39
A. Rancangan Penelitian	39



B. Waktu dan Tempat Penelitian	39
C. Populasi dan Sampel	40
D. Bahan dan Alat Penelitian	40
E. Cara Kerja	41
F. Defenisi Operasional	48
G. Analisis Data	48
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>49</b>
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	<b>66</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>67</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>74</b>

## DAFTAR TABEL

<b>nomor</b>		<b>halaman</b>
1.	Nilai referensi pemeriksaan Biomarker fungsi hati	28
2.	Grade biomarker kerusakan hati	29
3.	Konversi dosis manusia ke hewan berdasarkan luas permukaan tubuh	35
4.	Nilai referensi biomarker fungsi hati pada tikus jantan usia $\pm$ 17 minggu	35
5.	Pengaturan waktu pada tahap processing dan embedding	46
6.	Tahap pewarnaan Mayer Hematoxylin Eosin	46
7.	Kriteria dan tingkat kerusakan histologi pada jaringan hati dan ginjal	47
8.	Hasil pemeriksaan biomarker AST sebelum dan setelah Treatment	53
9.	Hasil pemeriksaan biomarker ALT sebelum dan setelah Treatment	55
10.	Hasil pemeriksaan biomarker GGT sebelum dan setelah treatment	57
11.	Hasil pemeriksaan kerusakan jaringan hati	59
12.	Data hasil pengukuran biomarker sebelum perlakuan	76
13.	Data hasil pengukuran biomarker setelah perlakuan	77
14.	Hasil Uji statistik One way Anova	78
15.	Uji Tukey	79

## DAFTAR GAMBAR

<b>nomor</b>		<b>halaman</b>
1.	Biji minyak dan tanaman jintan hitam	5
2.	Struktur Timokuinon	7
3.	Struktur Levofloksasin	11
4.	Anatomi hati	18
5.	Lobulus Hati	22
6.	Kerangka teori	36
7.	Kerangka konsep	37
8.	Grafik perubahan nilai pada biomarker fungsi hati ( AST, ALT, dan GGT) pada penggunaan dosis terapi levofloksasin selama 28 hari	52
9.	Grafik perbandingan kadar AST setiap kelompok setelah perlakuan selama 28 hari	53
10.	Grafik perbandingan kadar ALT setiap kelompok setelah perlakuan selama 28 hari.	55
11.	Grafik perbandingan kadar GGT setiap kelompok setelah perlakuan selama 28 hari.	58
12.	Gambaran histologi hati klp I dengan pemberian NaCMC 1%	60
13.	Gambaran histopatologi hati kelompok II dengan pemberian suspensi levofloksasin	61
14.	Gambaran histopatologi hati kelompok III dengan pemberian minyak jintan hitam 1 ml/kg BB dan suspensi levofloksasin	62
15.	Gambaran histopatologi hati kelompok IV dengan pemberian minyak jintan hitam 2 ml/kg BB dan suspensi levofloksasin	63
16.	Gambaran histopatologi hati kelompok V dengan pemberian minyak jintan hitam 4 ml/kg BB dan suspensi levofloksasin	64

17. Skema kerja penelitian	74
18. Adaptasi hewan uji	84
19. Penimbangan hewan uji	84
20. Penimbangan tablet levofloksasin	84
21. Penimbangan NaCMC	84
22. Penimbangan serbuk tablet levofloksasin	84
23. Pemberian oral suspensi levofloksasin	84
24. Pengambilan darah melalui vena ekor	84
25. Sampel darah dalam vacutainer EDTA	85
26. Alat sentrifugasi	85
27. sampel serum hasil sentrifugasi dalam eppendorf	85
28. Penyimpanan serum dalam freezer	85
29. Pengukuran biomarker fungsi hati	85
30. Proses pembiusan dan euthanasia hewan uji	85
31. Proses pembedahan hewan uji	86
32. Larutan NaCl 0,9% untuk pembilasan organ bedah	86
33. Organ dalam rendaman formalin 10%	86
34. Proses embedding	86
35. Pemotongan jaringan	86
36. Pencelupan pita jaringan dalam waterbath	86

37. Tahap pewarnaan	87
38. Penyiapan preparat	87
39. Pengecekan preparat menggunakan mikroskop	87
40. Pengamatan dan pengambilan gambar histopatologi	87
41. Surat persetujuan etik	88
42. Hasil analisis kandungan timokuinon	89

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>nomor</b>		<b>halaman</b>
1.	Skema Kerja	74
2.	Perhitungan Dosis	75
3.	Hasil pemeriksaan Biomarker	78
4.	Data Statistik	80
5.	Dokumentasi Penelitian	84
6.	Persetujuan etik	88
7.	Hasil Analisis GC-MS kandungan minyak jintan hitam	89

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Levofloksasin merupakan antibakteri golongan florokuinolon dan merupakan pilihan pertama florokuinolon dalam paduan terapi TB-MDR jangka panjang. Florokuinolon menginduksi terjadinya hepatotoksisitas yang ditandai oleh peningkatan kadar *alanine transferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST) serta *alkaline phosphatase* (ALP) dan dalam beberapa kasus hasil biopsi hati menunjukkan adanya kerusakan hepatoseluler, nekrosis dan degenerasi (Adikwu, 2012). Kasus hepatotoksisitas levofloksasin telah dilaporkan pada sejumlah pasien yang menerima levofloksasin dalam penanganan tuberkulosis multi drug resisten (Kang *et al.*, 2016).

Beberapa tahun belakangan ini, terapi dalam mengatasi hepatotoksisitas masih jarang ditemukan. Mengingat kurangnya obat yang disetujui dengan potensi hepatoprotektif, herbal dapat menawarkan alternatif dalam mencegah cedera akibat induksi obat (Chaudhary *et al.*, 2010). Studi ekstensif tentang *Nigella sativa* telah dilakukan oleh banyak peneliti dan spektrum farmakologisnya yang luas telah dieksplorasi termasuk sebagai antidiabetes, antikanker, imunomodulator, analgesik, antimikroba, antiinflamasi, spasmolitik,

bronkodilator, hepatoprotektor, renal protektif, gastroprotektif, antioksidan, dll. Penelitian oleh Zinesha (2012) menunjukkan ekstrak minyak jintan hitam tidak bersifat toksik. Toksisitas kronis dipelajari pada tikus yang diberikan dosis oral 2ml/kg BB selama 12 hari dan tidak menyebabkan perubahan pada level enzim hepatic (ALT, AST dan GSH) dan modifikasi histopatologi pada tikus yang diberi *N. sativa* selama 12 minggu (Zaoui *et al.*, 2002).

Minyak Jintan hitam mengandung *timokuinon* yang merupakan komponen utama (Ebrahim *et al.*, 2019). *Timokuinon* merupakan suatu zat aktif yang memiliki fungsi proteksi melawan hepatotoksisitas, selain itu juga mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, dan antineoplastik (Ahmad *et al.*, 2013 dan Sivaraj *et al.*, 2018).

Penelitian oleh Susianti (2013) yang menggunakan minyak jintan hitam dengan dosis 500, 1000 dan 1500 mg/kg/BB menunjukkan adanya perbaikan terhadap gambaran histopatologi hati, paru dan testis tikus yang diinduksi gentamisin. Penelitian Oktaria (2017) menunjukkan efek protektif minyak jintan hitam terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang diinduksi rifampisin. Selanjutnya oleh Paul *et al* (2019), melalui penelitian terhadap hepatotoksisitas akibat induksi isoniazid pada tikus juga menunjukkan adanya aktivitas hepatoprotektif dengan menggunakan minyak jintan hitam dan Alkadri



(2019) juga melaporkan adanya efek hepatoprotektif dari minyak jintan hitam dengan konsentrasi 1 dan 2 ml/kgbb terhadap hepatotoksisitas yang disebabkan oleh sisplatin.

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas dari pemberian minyak Jintan hitam dalam melindungi dan mengurangi hepatotoksisitas yang dapat disebabkan oleh efek samping penggunaan jangka panjang salah satu obat TB-MDR lini kedua yaitu levofloksasin.

### **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dapat mencegah peningkatan biomarker fungsi hati tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi levofloksasin?
2. Apakah pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dapat mencegah kerusakan histologi hati tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi levofloksasin?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui efek protektif minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap pemberian dosis terapi levofloksasin selama 28 hari dibanding standar berdasarkan pemeriksaan biomarker fungsi organ hati tikus (*Rattus novergicus*).
2. Mengetahui efek protektif minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap pemberian dosis terapi levofloksasin selama 28 hari dibanding standar berdasarkan kerusakan pada histologi hati tikus (*Rattus novergicus*).

### **D. Manfaat Penelitian**

Sebagai informasi terkait penggunaan minyak jintan hitam dalam menangani hepatotoksisitas yang disebabkan oleh obat-obatan khususnya levofloksasin.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)



**Gambar 1.** Biji minyak dan tanaman jintan hitam

#### 1. Klasifikasi tanaman Jintan hitam

Klasifikasi ilmiah jintan hitam (Sultana *et al.*, 2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i> L.

## 2. Nama Lain

*Nigella sativa* (*N. Sativa*) di Indonesia dikenal sebagai jintan hitam sedangkan di Arab Saudi *N. Sativa* dikenal dengan nama Al-Habbah Al Sawda, Habbet El Baraka, Kamoun Aswad, Schuniz dan Khodria. Dalam bahasa Inggris tanaman ini dikenal dengan nama black seed, black cumin, black caraway, cinnamon flower, nutmeg flower dan love-in-a-mist (Salama and Raaga, 2010).

## 3. Morfologi Tanaman Jintan Hitam

Tanaman jintan hitam merupakan tanaman semak dengan ketinggian lebih kurang 30 cm. Penyebaran tanaman ini tumbuh mulai dari daerah Levant di Mediterania Timur Samudra Indonesia sebagai gulma semusim dengan keanekaragaman yang kecil. Budi daya perbanyakan tanaman dilakukan dengan biji (Hutapea,1994). Jintan hitam memiliki 5 kelopak bunga kecil, berbentuk bulat telur, ujungnya agak meruncing sampai agak tumpul, pangkal mengecil membentuk sudut yang pendek dan besar. Bunganya merupakan bunga majemuk dan berbentuk karang. Mahkota bunga pada umumnya berjumlah delapan, berwarna putih kekuningan, agak memanjang, lebih kecil daripada kelopak bunga, berbulu jarang dan pendek. Tanaman ini berdaun lonjong dengan panjang 1.5-2 cm, berdaun tunggal dengan ujung dan pangkalnya runcing dan berwarna hijau. Kelopak bunga berjumlah lima dengan ukuran kecil, berbentuk bulat dan ujungnya agak meruncing. Buah jintan hitam seperti polong, bulat panjang, dan coklat kehitaman. Bijinya kecil, bulat, hitam,

orong bersusut tiga tidak beraturan dan sedikit berbentuk kerucut, panjang 3 mm, serta berkelenjar (Hutapea,1994).

#### 4. Kandungan Tanaman jintan hitam

Biji dan daun jintan hitam mengandung saponin dan polifenol (Hutapea, 1994). Kandungan kimia yang ada dalam biji jintan hitam yaitu minyak yang terdiri dari fixed oil sebanyak 22 – 38% (asam linoleat, asam oleat, tocopherols, Retinol/ Vitamin A, Carotenoids, Timokuinon) dan volatile oil sebanyak 0,40 – 1,50% (Timokuinon, p-cymene, carvacol, thymol, thymohydroquinone), Protein (20,8 – 31,2%), karbohidrat (24,9 – 10%), mineral (3,7 – 7%), saponin (0,13%), alkaloid (0,01%), dan vitamin lain (1 – 4%) (Amin and Hossein, 2016).



**Gambar 2.** Struktur Thymoquinon (TQ)

Minyak Jintan hitam mengandung timokuinon yang merupakan komponen utama (Ebrahim *et al.*, 2019). Timokuinon berikatan dengan protein sebanyak 99% dengan t<sub>1/2</sub> adalah 217 menit, dan dimetabolisme di hati (Alkharfy *et al.*, 2014). Timokuinon merupakan suatu zat aktif yang

memiliki fungsi proteksi melawan nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas (Mabrouk and Cheikh, 2016).

#### 5. Manfaat Jintan Hitam

Jintan hitam dikenal sebagai obat-obatan herbal sejak ribuan tahun yang lalu dan sering digunakan sebagai obat-obatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti flu, demam, sakit kepala, asma, rematik, infeksi oleh mikroba, untuk mengatasi cacing pada saluran pencernaan dan juga untuk meningkatkan status kesehatan (Salama and Raaga, 2010).

Secara tradisional, jintan hitam digunakan untuk mengobati beberapa gangguan, penyakit dan kondisi yang berkaitan dengan masalah pada sistem pernafasan, pencernaan, fungsi hati dan ginjal, jantung dan sistem imun (Sharma *et al.*, 2005; Goreja, 2003). Jintan hitam di Timur Tengah digunakan sebagai obat tradisional untuk memperbaiki berbagai kondisi kesehatan manusia. Berdasarkan berbagai penelitian yang telah dilakukan jintan hitam memiliki banyak kegunaan yaitu sebagai antibakteri (Bakathir and Abbas, 2011), antioksidan dan anti kanker (Bourgou S, 2012), antidiabetes, analgesik dan antiinflamasi (El-Gazzar *et al.*, 2006), imunomodulator, cardioprotektif, gastroprotektif, hepatoprotektif (Michel CG *et al.*, 2010; Susianti, 2013; Paul J *et al.*, 2019), nefroprotektif (Ali, 2004; Oktaria, 2017), anti asma, pulmonary-protektif, neuroprotektif, dan antikonvulsan. (Ahmad A *et al.*, 2013).

Konsentrasi minyak jintan hitam dengan dosis 500, 1000 dan 1500 mg/kg/BB menunjukkan pengaruh terhadap gambaran histopatologi hati, paru dan testis tikus yang diinduksi gentamisin (Susianti, 2013). Penelitian oleh Ahmad A (2018), penggunaan minyak jintan hitam 2 ml/kg peroral dapat menurunkan nilai AST, ALT, ALP, GGT, T-bilirubin, D-bilirubin dan mencegah toksisitas hepato-renal pada tikus yang diinduksi Thioacetamide (TAA).

Pengujian yang dilakukan Alkadri (2019), hasil pengamatan histopatologi minyak jintan hitam dengan pemberian dosis 1 ml/kgBB dan 2 ml/kgBB mampu mengurangi kerusakan jaringan hati akibat pemberian cisplatin. Selanjutnya oleh Paul (2019), melalui penelitian terhadap hepatoksisitas akibat induksi isoniazid pada tikus menunjukkan adanya aktivitas hepatoprotektif dengan menggunakan minyak jintan hitam.

## 6. Toksisitas

Uji Toksisitas minyak jintan hitam yang dilakukan oleh Zaoui *et al*, (2002) pada mencit dan tikus menunjukkan nilai LD<sub>50</sub> pada tikus diperoleh 28,8 ml/kg peroral dan 2,06 ml/kg intraperitoneal. Sedangkan LD<sub>50</sub> timokuinon untuk tikus adalah 57,5 mg/kg IP dan 794,3 mg/kg peroral (Al-Ali *et al.*, 2008).

## 7. Jintan hitam sebagai hepatoprotektor

Timokuinon sebagai bahan aktif utama jintan hitam, bertanggung jawab sebagai hepatoprotektor melalui sifat antioksidan dan antiinflamasi dalam mencegah dan melindungi hati dari kerusakan. Beberapa studi

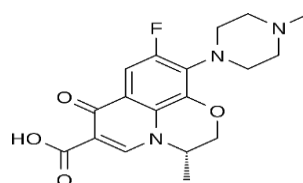
telah menunjukkan efek perlindungan dari kerusakan hati yang dihasilkan oleh *reaksi oksidatif spesies* (ROS) dengan sifat pembersih radikal bebas dan meningkatkan pertahanan antioksidan dalam tubuh. Timokuinon memiliki kemampuan untuk menghambat iron-dependent peroksidasi lipid dengan cara concentrations-dependent. Dengan karakteristik ini, timokuinon dapat mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan pertahanan antioksidan dalam tubuh. Penurunan malondialdehid dan biomarker lain dari stres oksidatif secara paralel dengan peningkatan total kandungan thiol dan tingkat glutathione adalah hasil dari pengobatan timokuinon. Kandungan glutathione dalam hati ditemukan tinggi konsentrasinya terutama di dalam hati dan dikenal memiliki fungsi penting dalam mekanisme pelindung seluler (Mollazadeh & Hosseinzadeh, 2014).

Minyak jintan hitam mengandung senyawa timokuinon yang berperan utama dalam memberikan efek protektif. Pemberian minyak jintan hitam yang mengandung timokuinon sebagai bahan aktifnya mencegah penurunan aktivitas antioksidan enzimatik yaitu SOD, CAT, GSH-Px dan antioksidan nonenzimatik yaitu GSH serta menekan aktivitas enzim CYP2E1. Timokuinon dapat berperan langsung dalam eliminasi radikal bebas. Timokuinon juga berperan dalam pemeliharaan fungsi dan integritas membran mitokondria sehingga dapat menekan disfungsi mitokondria. Perbaikan fungsi mitokondria meningkatkan aktivitas MDH dan G6PDH yang berdampak pada peningkatan aktivitas enzim TR dan GR yang membutuhkan NADPH untuk aktivitasnya (Alkadri *et al.*, 2019).



Modifikasi oksidatif oleh radikal bebas akan diikuti inaktivasi enzim sedangkan aktivitas peroksidasi lipid antara radikal bebas dan PUFA akan merusak membran sel dan membran organel. Inaktivasi enzim dan kerusakan membran akan mengganggu struktur dan fungsi sel. Aktivitas enzim membran sel juga dapat menurun karena inaktivasi enzim tersebut. Selain itu metabolisme energi yang terganggu menyebabkan sel tidak dapat memproduksi bahan-bahan yang dibutuhkan untuk perbaikan membran sel yang rusak. Peningkatan status pertahanan antioksidan dan eliminasi radikal bebas oleh timokuinon mencegah modifikasi oksidatif dan peroksidasi lipid oleh radikal bebas. Sementara itu, perannya dalam mencegah disfungsi mitokondria berdampak pada perbaikan metabolisme energi sehingga sel mampu memproduksi bahan untuk pembentukan membran sel. Minyak jintan hitam sebagai sumber yang baik dari asam lemak esensial dapat menggantikan komponen PUFA membran sel yang telah diserang radikal bebas sehingga mempercepat proses perbaikan. Oleh karena itu, minyak jintan hitam menekan kerusakan yang disebabkan levofloksasin dengan menekan proses kerusakan dan mempercepat perbaikan sel (Alkadri *et al*, 2019).

### B. Levofloksasin



**Gambar 3.** Struktur Levofloksasin

Levofloksasin adalah antibakteri sintetik golongan fluorokuinolon yang merupakan S-(-) isomer dari ofloksasin dan memiliki aktivitas antibakteri dua kali lebih besar daripada ofloksasin. Levofloksasin memiliki efek antibakterial dengan spektrum luas, aktif terhadap bakteri gram-positif dan gram-negatif termasuk bakteri anaerob. Levofloksasin telah menunjukkan aktivitas antibakterial terhadap *Chlamydia pneumoniae* dan *Mycoplasma pneumoniae*. Levofloksasin secara in vitro lebih aktif melawan bakteri gram-positif, termasuk *Streptococcus pneumoniae* dan bakteri anaerob dibandingkan fluorokuinolon yang lain. Antibiotik golongan fluorokuinolon mempunyai potensi efek samping yang paling serius dibandingkan dengan antibiotik lain karena dapat menyebabkan kerusakan permanen dan bahkan kematian terutama dalam pemakaian yang lama (Boomer, 2007 dan Davis *et al.*, 2015). Oleh karena itu, penggunaan fluorokuinolon hanya dianjurkan bila tidak ada antibiotik lain dan pada pengobatan infeksi multi drug resisten. Fluorokuinolon yang digunakan dalam terapi TB yaitu generasi kedua dan ketiga, yaitu ciprofloksasin (Cfx), ofloksasin (Ofx), dan levofloksasin (Lfx), serta generasi ke empat yaitu moksifloksasin (Mfx) dan gatifloksasin (Gfx). Obat golongan fluorokuinolon seperti moxifloxacin, gatifloksasin dan levofloksasin merupakan second line agen anti TB yang paling direkomendasikan guidelines WHO (Falzon *et al.*, 2017).

Paduan pengobatan obat antituberkulosis pada pasien TB multi drug resisten yaitu 8-12 bulan menggunakan kanamisin (km),

levofloksasin (lfx), etionamid (eto), sikloserin (cs) , pirazinamid (z), etambutol (e), dan Isoniazid (h) atau selama 12-14 bulan menggunakan levofloksasin, etionamid, sikloserin, pirazinamid, etambutol dan isoniazid (Kemenkes RI, 2016).

Dosis terapi levofloksasin untuk penanganan penyakit tuberkulosis untuk anak >5 tahun dan orang dewasa berada pada range 10-15 mg/kg sekali dalam sehari (pemberian obat berdasarkan bobot badan perlu dipertimbangkan) sedangkan dosis pada anak 5 tahun ke bawah adalah 15-20 mg/kg dalam dosis terbagi (pagi dan malam) (WHO, 2014).

#### a. Mekanisme kerja

Fluorokuinolon bekerja menghambat sintesis DNA melalui peningkatan pembelahan DNA bakteri dalam kompleks sintesis DNA topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV yang mengakibatkan kematian bakteri yang cepat (Iannini *et al*, 2001) 2 enzim ini penting untuk kemampuan bertahan bakteri. Protein tersebut dikode masing-masing oleh gen *gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE*. *Mycobacterium tuberculosis* hanya memiliki topoisomerase II sebagai target dari fluoroquinolon (Aubry *et al*, 2004).

#### b. Efek samping

Levofloksasin menyebabkan efek samping hepatotoksisitas (Kang *et al*, 2016). Efek samping paling umum dari fluorokuinolon melibatkan saluran pencernaan seperti mual dan diare, sistem saraf pusat (SSP) seperti sakit kepala dan pusing. Efek samping yang tidak lazim dan

berpotensi serius terkait dengan penggunaan florokuinolon melibatkan sistem kardiovaskular (perpanjangan interval QT elektrokardiografi), sistem muskuloskeletal (tendinitis dan ruptur tendon), sistem endokrin (disregulasi homeostasis glukosa), sistem ginjal (kristalisasi, nefritis interstitial, dan gagal ginjal akut), dan Sistem saraf pusat (kejang) (Owens, 2005). Fluoroquinolones dilaporkan menginduksi hepatotoksisitas yang bermanifestasi sebagai hepatitis, pankreatis, jaundice, liver injury dan kegagalan fungsi hati (Adikwu and Deo, 2012).

#### c. Farmakokinetik

##### 1) Absorpsi

Levofloxacin diabsorpsi sepenuhnya setelah pemberian oral. Konsentrasi maksimum dalam plasma dicapai dalam 1 sampai 2 jam setelah pemberian oral. Bioavailabilitas dari tablet levofloksasin 500 mg dan 750 mg adalah sekitar 99% (Sweetman, 2009).

##### 2) Distribusi

Volume distribusi levofloksasin umumnya berkisar dari 74 hingga 112 L setelah pemberian dosis tunggal dan multipel 500 mg atau 750 mg serta secara luas didistribusikan ke jaringan tubuh. Levofloksasin mencapai puncaknya di jaringan kulit dan dalam cairan lepuh subyek sehat sekitar 3 jam setelah pemberian dosis. Levofloxacin juga berpenetrasi ke dalam jaringan paru-paru. Konsentrasi dalam jaringan paru-paru umumnya 2-5 kali lipat lebih tinggi dari konsentrasi dalam

plasma dan berkisar antara 2,4 hingga 11,3 µg/g selama 24 jam setelah dosis tunggal 500 mg oral (Sweetman, 2009).

### 3) Metabolisme

Levofloxacin secara konsisten dan stabil dimetabolisme sebagai D-ofloxacin. Levofloxacin dimetabolisme dan diekskresikan di urin dalam keadaan yang sama. Pada administrasi oral, 87% ditemukan di urin dalam waktu 48 jam, dan ditemukan di feses <4% dalam waktu 72 jam. Kurang dari 5% dari dosis yang diberikan ditemukan dalam urin sebagai metabolit desmethyl dan N-oksida, satu-satunya metabolit yang diidentifikasi pada manusia (Sweetman, 2009).

### 4) Ekskresi

Levofloxacin dieskresikan sebagian besar sebagai obat yang tidak berubah dalam urin. Waktu paruh eliminasi plasma berkisar antara 6 hingga 8 jam setelah pemberian dosis secara oral atau intravena. Rata-rata kecepatan waktu pembersihan levofloxacin dalam tubuh manusia adalah 144-226 mL/min, sedangkan pembersihan pada renal berkisar antara 96-142 mL/min (Sweetman, 2009).

#### d. Hepatotoksisitas Levofloksasin

Kerusakan hati dapat diakibatkan oleh obat, salah satunya adalah obat antituberkulosis yang digunakan dalam terapi tuberkulosis multi drug resisten yaitu levofloksasin. Menurut data surveilans dari seluruh dunia, levofloksasin dapat menyebabkan peningkatan tes fungsi hati pada tingkat 0,3% dan tingkat kegagalan fungsi hati (Coban *et al*, 2005). Dalam sebuah

penelitian yang dilakukan di Jepang, 87 kasus hepatic terlihat di antara 88 juta pasien yang menggunakan levofloxacin (Yagawa, 2001).

Efek samping hepatotoksitas terjadi pada pasien dengan TB-MDR yang menerima terapi pirazinamid dan levofloksasin, dari 17 pasien 5 kasus diantaranya mengalami cedera hepatoseluler (Papastavros *et al*, 2002). Hepatotoksisitas akibat levofloksasin dapat terjadi setelah 6 - 14 hari mulai terapi (Levoquin, 2011). Sebuah studi retrospektif dengan 746 subjek ditemukan peningkatan terjadinya hepatotoksisitas pada pasien yang lebih tua yang diberikan levofloksasin atau moxifloksasin, sifat hepatotoksik muncul setelah penggunaan lebih dari 30 hari pada pasien berumur di atas 66 tahun (Paterson *et al*, 2012). Kasus hepatotoksisitas juga dilaporkan terjadi pada pasien wanita usia 53 tahun setelah menerima dosis tunggal 750 mg levofloksasin tablet (Muge *et al*, 2015). Efek samping hepatotoksitas juga terjadi pada 14 orang dari total 77 pasien TB-MDR yang menggunakan levofloksasin (Kang *et al*, 2016).

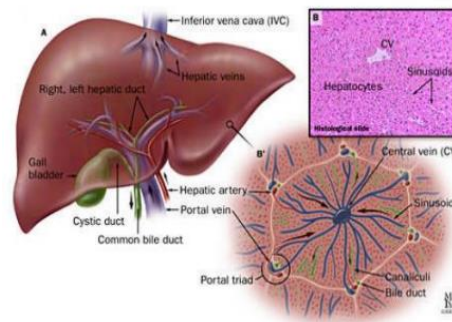
Penelitian oleh Olayinka 2015, levofloxacin pada dosis yang berbeda (5, 10 dan 20 mg/kgbb menginduksi kerusakan ginjal dan hati serta stres oksidatif dan mengubah sistem pertahanan antioksidan enzimatik dan nonenzimatik pada tikus. Pengaruh levofloksasin terhadap biomarker disfungsi hati dan ginjal, lfx meningkatkan nilai kreatinin plasma, urea dan bilirubin pada tikus dengan nilai ( $p < 0,05$ ) serta meningkatkan aktivitas plasma ALP, ALT dan AST (Olayinka *et al*, 2015).

Fluoroquinolones dilaporkan menginduksi hepatotoksisitas yang bermanifestasi sebagai hepatitis, pankreatis, jaundice, liver injury dan kegagalan fungsi hati. Kasus fluoroquinolone yang paling banyak dilaporkan menginduksi hepatotoksisitas ditandai oleh peningkatan kadar *alanine aminotransferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), *alkaline phosphatase* (ALP), dan bilirubin. Dalam beberapa kasus yang dilaporkan, hasil biopsi hati menunjukkan kerusakan hepatoseluler, nekrosis dan degenerasi. Mekanisme fluoroquinolon menginduksi hepatotoksisitas melibatkan pembentukan radikal oksidatif dalam hati selama metabolisme obat yang menginduksi kerusakan DNA, kerusakan mitokondria dan regulasi gen yang mengarah pada kerusakan hepatoseluler (Adikwu and Deo, 2012).

Efek hepatotoksik levofloksasin dikaitkan dengan *reactive oxygen species* (ROS). ROS ini menyebabkan kerusakan parah pada makromolekul, jaringan, dan organ melalui proses peroksidasi lipid (LPO), modifikasi protein, dan kerusakan DNA. Stres oksidatif terjadi ketika ROS ini memenuhi sistem antioksidan. Sel melindungi dirinya dari efek ROS dengan aksi antioksidan primer/ enzimatis yaitu *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* dan *glutathione peroxidase* (GSH) dan sekunder/nonenzimatis seperti Vitamin A, E, dan C. Antioksidan primer adalah senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal bebas yang melepaskan hidrogen. Reaksi antioksidan primer yaitu terjadinya pemutusan rantai radikal bebas yang sangat reaktif yang

kemudian diubah menjadi stabil atau tidak reaktif. Antioksidan sekunder menghambat senyawa oksigen reaktif. Prinsip kerjanya yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak bereaksi dengan komponen dalam sel (Olayinka *et al*, 2015).

### C. Hati



**Gambar 4.** Anatomi hati

#### 1. Anatomi dan Fisiologi Hati

Hepar atau hati merupakan kelenjar paling besar dalam tubuh setelah kulit dengan berat sekitar 1500 g dan mencakup sekitar 2,5% berat tubuh orang dewasa. Hati memanjang ke dalam hipokondrium kiri di sebelah inferior diafragma, yang memisahkannya dari pleura, paru, perikardium, dan jantung. Semua zat gizi (kecuali lemak) yang diabsorpsi dari saluran pencernaan pada awalnya dibawa pertama kali ke hati oleh sistem vena porta. Selain aktivitas metaboliknya yang banyak, hati menyimpan glikogen dan mensekresikan empedu. Empedu merupakan



zat yang berperan penting dalam pencernaan dan absorpsi lemak. Selain itu empedu bekerja sebagai alat untuk mengeluarkan beberapa produk buangan yang penting dari darah, terutama bilirubin dan kelebihan kolesterol (Guyton and Hall, 2012; Moore and Dalley, 2013).

Hati adalah organ viseral terbesar dan terletak di bawah kerangka iga. Beratnya 1500 g dan pada kondisi hidup berwarna merah tua karena kaya persediaan darah. Hati menerima darah teroksigenasi dari arteri hepatica dan darah yang tidak teroksigenasi tetapi kaya akan nutrisi dari vena hepatica. Hati terbagi menjadi lobus kanan dan lobus kiri. 1) Lobus kanan lebih besar dari lobus kiri dan memiliki tiga bagian utama; lobus kanan atas, lobus kaudatus dan lobus kuadratus. 2) Ligamen falsiform memisahkan lobus kanan dari lobus kiri. Diantaranya terdapat porta hepatis, jalur masuk dan keluar pembuluh darah, saraf dan duktus. 3) dalam lobus lempeng sel-sel hati bercabang dan beranastomosis untuk membentuk jaringan tiga dimensi. Ruang-ruang darah sinusoid terletak antara lempeng-lempeng sel. Saluran portal masing-masing berisi sebuah cabang vena portal, arteri hepatica dan duktus empedu, membentuk sebuah lobulus portal (Sloane, 2003).

Hati terbungkus oleh sebuah kapsul fibroelastik yang disebut kapsul *glisson* dan secara makroskopik dipisahkan menjadi lobus kiri dan kanan. Kapsul *glisson* berisi pembuluh darah, pembuluh limfe dan saraf. Kedua lobus hati tersusun oleh unit-unit yang lebih kecil disebut *lobulus* yang terdiri atas sel-sel hati (hepatosit), yang menyatu dalam suatu lempeng.

Hepatosit dianggap sebagai unit fungsional hati. Sel-sel hati dapat melakukan pembelahan sel dan mudah diproduksi kembali saat dibutuhkan untuk mengganti jaringan yang rusak (Corwin, 2009).

Hati menerima suplai darahnya dari dua sumber yang berbeda. Sebagian besar aliran darah hati, sekitar 1000 ml/menit adalah darah vena yang berasal dari lambung, usus halus dan usus besar, pankreas dan limpa. Darah mengalir ke hati melalui vena porta. Darah vena kurang mengandung oksigen tetapi kaya zat-zat gizi termasuk glukosa yang dapat diubah oleh hati menjadi glikogen dan disimpan dengan cepat. Darah tersebut juga mungkin mengandung bakteri usus, racun dan obat yang dicerna. Sumber darah hati yang lain adalah arteri hepatika yang mengalirkan darah sekitar 500 ml/menit dan memiliki saturasi oksigen yang tinggi. Setelah mengalir hati, kedua sumber darah tersebut mengalir ke dalam kapiler hati yang disebut *sinusoid*, dari *sinusoid* darah mengalir ke sebuah vena sentralis disetiap lobulus dan dari semua lobulus ke vena hepatika. Vena hepatika mngosongkan isinya ke dalam vena kava inferior (Corwin, 2009).

Sebagian besar hati terisi oleh sel hati (*hepatosit*). Sel hati tersusun dalam kelompok yang dikelilingi oleh sinusoid vaskuler, tempat mengalirnya darah arteri hepatika dan vena porta. Aliran darah yang melalui sinusoid vaskuler dipisahkan dari sel hati oleh penyekat tipis yang renggang (terdiri atas sel endotel dan sel fagosit Kupffer) dan rongga Disse. Sel hati mensintesis albumin, faktor pembekuan yaitu fibrinogen,

komponen beberapa komplemen, alfa-1 antitripsin. Hati mengeluarkan berbagai sisa buangan produk tubuh serta bahan yang berpotensi toksik (Underwood, 1999).

Fungsi utama hati yaitu (Sloane, 2003);

1) Sekresi

Hati memproduksi empedu yang berperan dalam emulsifikasi dan absorpsi lemak.

2) Metabolisme

Hati memetabolisme protein, lemak dan karbohidrat tercerna. Hati berperan penting dalam mempertahankan homeostatik gula darah, mengurai protein, menyintesis lemak.

3) Penyimpanan

Hati menyimpan mineral, seperti zat besi dan tembaga serta vitamin larut lemak (A,D, E dan K) dan hati menyimpan toksin tertentu contohnya pestisida serta obat yang tidak dapat diuraikan atau dieksresikan.

4) Detoksifikasi

Hati melakukan inaktivasi hormon dan detoksifikasi toksin dan obat. Hati memfagosit eritrosit dan zat asing yang terintegrasi dalam darah.

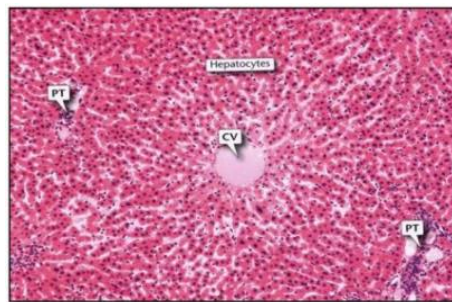
5) Produksi panas

Berbagai aktivitas kimia kimia dalam hati dalam hati menjadikan hati sebagai sumber utama panas, terutama saat tidur.

## 6) Penyimpanan Darah

Hati merupakan reservoir untuk sekitar 30% curah jantung dan bersama dengan limpa, mengatur volume darah yang diperlukan tubuh.

## 2. Histologi Hati



**Gambar 5.** Lobulus Hati. Keterangan : CV = vena sentralis, PT =saluran portal. Pewarnaan HE, Pembesaran 60x

Unsur utama struktur hati adalah sel-hepatosit atau hepatosit. Hepatosit saling bertumpukan dan membentuk lapisan sel, mempunyai satu atau dua inti yang bulat dengan satu atau lebih nukleolus. Hepatosit berkelompok dalam susunan-susunan saling berhubungan sedemikian rupa sehingga membentuk suatu unit struktural, yang dinamakan lobulus hati. Struktur lobulus dapat dikelompokkan dalam 3 golongan yang berbeda. Pertama yaitu lobulus klasik yang merupakan suatu bangun berbentuk heksagonal dengan vena sentralis sebagai pusat. Kedua, saluran portal, merupakan bangunan berbentuk segitiga dengan vena sentralis sebagai sudut sudutnya dan segitiga Kiernan atau saluran portal sebagai pusat. Ketiga, asinus hati yang merupakan unit terkecil hati (Junquiera and Carneiro, 2012).

### 3. Pemeriksaan fungsi hati

Pengukuran aktivitas enzim hati direkomendasikan sebagai investigasi awal untuk mendeteksi kerusakan jaringan pada hati (Newsome *et al.*, 2017).

*Alanine aminotransferase* (ALT) atau *Serum Glutamic Pyruvic transaminase* (SGPT) dan *Aspartate aminotransferase* (AST) atau *Serum Glutamic Oxsaloasetic transaminase* (SGOT), merupakan enzim yang keberadaan dan kadarnya dalam darah dijadikan penanda terjadinya gangguan fungsi hati. Enzim tersebut normalnya berada pada sel-sel hati. Kerusakan pada hati akan menyebabkan enzim-enzim hati tersebut lepas ke dalam aliran darah sehingga kadarnya dalam darah meningkat dan menandakan adanya gangguan fungsi hati (Tsani *et al.*, 2017).

Pemeriksaan kimia darah digunakan untuk mendeteksi kelainan hati, menentukan diagnosis, mengetahui berat ringannya penyakit, mengikuti perjalanan penyakit dan penilaian hasil pengobatan. Pengukuran kadar bilirubin serum, aminotransferase, alkali fosfatase,  $\gamma$ GT dan albumin sering disebut sebagai tes fungsi hati atau LFTs. Pada banyak kasus, tes-tes ini dapat mendeteksi penyakit hati dan empedu asimtomatik sebelum munculnya manifestasi klinis. Tes-tes ini dapat dikelompokkan dalam 3 kategori utama, antara lain : (1) Peningkatan enzim aminotransferase (juga dikenal sebagai transaminase), SGPT dan SGOT, biasanya mengarah pada perlukaan hepatoseluler atau inflamasi; (2) Keadaan patologis yang memengaruhi sistem empedu intra dan

ekstrahepatik dapat menyebabkan peningkatan fosfatase alkali dan  $\gamma$ GT (3) Kelompok ketiga merupakan kelompok yang mewakili fungsi sintesis hati, seperti produksi albumin, urea dan faktor pembekuan (Tsani *et al*, 2017).

Golongan aminotransferase, AST dan ALT, merupakan indikator yang paling sering digunakan pada kerusakan hati serta petanda nekrosis sel hati. Enzim tersebut mengkatalisa transfer gugus  $\alpha$ -amino dari aspartat dan alanine ke gugus  $\alpha$ -keto dari asam ketoglutarat, membentuk asam oksaloasetat dan asam piruvat. Enzim tersebut berperan pada proses glukoneogenesis dengan memfasilitasi sintesis glukosa dari bahan non karbohidrat (Tsani *et al*, 2017).

a) ALT/SGPT

*Alanine aminotransferase* (ALT) atau *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) adalah petanda yang paling sering digunakan pada toksisitas hati. SGPT merupakan suatu enzim hati yang berperan penting dalam metabolisme asam amino dan glukoneogenesis. Enzim ini mengkatalisa pemindahan suatu gugus amino dari alanin ke  $\alpha$ -ketoglutarat untuk menghasilkan glutamat dan piruvat. Kadar normal berada pada kisaran 5-10 U/L. Peningkatan kadar enzim terjadi pada kerusakan hati. Pengukuran kadar enzim ini merupakan tes yang lebih spesifik untuk mendeteksi kelainan hati karena terutama ditemukan dalam hati. Enzim ini juga ditemukan pada otot skelet dan jantung, namun aktifitasnya lebih rendah. Enzim ini mendeteksi nekrosis sel hati.

b) AST/SGOT

*Aspartate aminotransferase* (AST) atau *serum glutamic oxaloacetate transaminase* (SGOT) adalah enzim hati yang membantu produksi protein. Enzim ini mengkatalisa transfer suatu gugus amino dari aspartat ke  $\alpha$ -ketoglutarat menghasilkan oksaloasetat dan glutamat. Selain di hati, enzim ini juga ditemukan pada organ lain seperti jantung, otot rangka, otak, dan ginjal. Kerusakan pada salah satu dari beberapa organ tersebut bisa menyebabkan peningkatan kadar pada enzim dalam darah. Kadar normal ada pada kisaran 7-40 U/L. Enzim ini juga membantu dalam mendeteksi nekrosis sel hati, tapi dianggap petanda yang kurang spesifik untuk kerusakan sel hati sebab enzim ini juga bisa menggambarkan kelainan pada jantung, otot rangka, otak, dan ginjal.

c) Alkaline Phosphatase

*Alkaline phosphatase* (ALP) diproduksi terutama di hati (dari epitel bilier) selain itu juga ditemukan dalam jumlah banyak di tulang dan dalam jumlah yang lebih kecil di usus, ginjal, dan sel darah putih. Kadar fisiologis lebih tinggi pada masa kanak-kanak, terkait dengan pertumbuhan tulang, dan pada kehamilan karena produksi plasenta. Peningkatan kadar terjadi terutama pada penyakit tulang (mis. Penyakit tulang metastatik dan patah tulang) dan penyakit kolestatik hati, misalnya, kolangitis bilier primer, kolangitis sklerosis primer, obstruksi saluran empedu umum, obstruksi saluran empedu, obstruksi duktus intrahepatik (metastasis) dan kolestasis yang diinduksi oleh obat .

#### d) Bilirubin

Bilirubin sebagian besar merupakan produk sampingan dari pemecahan komponen haem hemoglobin oleh sistem retikuloendotelial. Terdapat dalam bentuk tidak terkonjugasi dan terkonjugasi. Bilirubin diangkut ke hati dalam bentuk tak terkonjugasi yang tidak larut, lalu diubah menjadi bilirubin terkonjugasi yang larut untuk diekskresikan. Hiperbilirubinemia tak terkonjugasi biasanya karena hemolisis atau gangguan konjugasi sedangkan hiperbilirubinemia terkonjugasi biasanya karena penyakit hati parenkim atau penyumbatan sistem empedu. Penyebab paling umum dari peningkatan konsentrasi bilirubin yang terisolasi adalah sindrom Gilbert, yang merupakan kelainan metabolisme yang diturunkan dan mengarah pada gangguan konjugasi melalui berkurangnya aktivitas enzim glukuronil transferase. bahkan pada individu dengan penyakit hati yang signifikan (Newsome *et al.*, 2017).

#### e) GGT

*γ-Glutamyltransferase* (GGT) berlimpah di hati dan juga ada di ginjal, usus, prostat dan pankreas tetapi tidak di tulang. GGT paling sering meningkat karena obesitas, konsumsi alkohol berlebih atau dapat diinduksi oleh obat-obatan. Meskipun peningkatan GGT memiliki spesifisitas yang rendah untuk penyakit hati namun merupakan salah satu prediktor terbaik dari adanya kerusakan hati. GGT berguna pada anak-anak dalam menentukan kemungkinan penyakit bilier jika ALP bukan indikator yang dapat digunakan (Newsome *et al.*, 2017).



f) Albumin

Albumin adalah protein yang diproduksi hanya di hati dan memiliki beberapa aksi biologis, termasuk pemeliharaan tekanan onkotik, pengikatan zat lain (seperti asam lemak, bilirubin, hormon tiroid dan obat-obatan), metabolisme senyawa, termasuk lipid, dan antioksidan properti. Karena albumin hanya diproduksi oleh hati, konsentrasi albumin serum sering dianggap sebagai penanda fungsi sintetis hati. Konsentrasi albumin berkurang dalam banyak situasi klinis, termasuk sepsis, gangguan inflamasi sistemik, sindrom nefrotik, malabsorpsi, dan kehilangan protein gastrointestinal (Newsome *et al.*, 2017).

g) Protrombin time dan INR

Waktu Prothrombin (PT) dan INR adalah penilaian pembekuan darah, yang digunakan untuk mengukur fungsi hati, karena faktor pembekuan protein yang mendasarinya (II, V, VII, IX dan X) dibuat di hati. Jika ada cedera hati yang signifikan (biasanya kehilangan > 70% fungsi sintetis), ini menghasilkan pengurangan produksi faktor pembekuan dan koagulopati selanjutnya, seperti yang dikonfirmasi oleh PT atau INR yang berkepanjangan. Sementara PT / INR yang berkepanjangan dapat menunjukkan disfungsi hati akut atau kronis, tetapi juga dapat disebabkan oleh kekurangan vitamin K seperti yang terlihat pada malabsorpsi lemak dan kolestasis kronis. Penurunan trombosit, disebut trombositopenia, adalah kelainan hematologis yang paling umum ditemukan pada pasien

dengan penyakit hati kronis dan merupakan indikator penyakit lanjut (Newsome *et al.*, 2017).

Tabel 1. Nilai referensi pemeriksaan ALT, AST dan ALP (Harriet, 2020)

<b>Pemeriksaan</b>	<b>Nilai Referensi</b>
<i>Alanine aminotransferase (ALT)</i>	Wanita 5–35 U/L Pria 10–40 U/L
<i>Aspartate aminotransferase (AST)</i>	Wanita 13–35 U/L Pria 15–40 U/L
<i>Alkaline phosphatase (ALP)</i>	Adult 30–120 U/L
<i>Gamma glutamyl transferase (GGT)</i>	Pria 11 – 49 U/L Wanita 7 – 32 U/L
<i>Bilirubin</i>	Dewasa <1,5 mg/dL

Pemeriksaan fungsi hati yang sering dilakukan yaitu (Corwin, 2009):

1. Pengukuran bilirubin total serta pengukuran terpisah kadar bilirubin terkonjugasi dan tidak terkonjugasi. Kadar bilirubin meningkat pada berbagai penyakit hati.
2. Pengukuran enzim-enzim hati termasuk serum glutamat piruvat transaminase (SGPT), serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT) dan alkaline fosfatase. Kadar meningkat apabila terdapat penyakit hati.
3. Pengukuran konsentrasi protein plasma
4. Pengukuran masa protrombin (suatu pemeriksaan koagulasi)
5. Ultrasound, scan computed tomography (CT) dan magnetic resonance (MRI) dapat menunjukkan cacat struktural atau batu dalam duktus biliaris atau kantong empedu.

6. Biopsi hati dilakukan untuk mengamati jaringan secara langsung untuk memastikan adanya infeksi, infiltrasi atau fibrosis lemak dan kanker.

Tabel 2. Grade kerusakan hati (European Association for the Study of Liver /EASL, 2019)

No	Grade	ALT	AST	ALP	Bilirubin
1	Mild	≤3 x ULN	≤3 x ULN	≤2,5 x ULN	≤1,5 x ULN
2	Moderate	3 – 5 x ULN	3 – 5 x ULN	2,5 – 5,0 x ULN	1,5 – 3,0 x ULN
3	Severe	5 – 20 x ULN	5 – 20 x ULN	5 – 20 x ULN	3- 10 x ULN
4	Fatal	>20 x ULN	>20 x ULN	>20 x ULN	>10 x ULN

Keterangan:

ALT : *Alanine aminotransferase*  
 AST : *Aspartate aminotransferase*  
 ALP : *Alkaline Phosphate*  
 ULN : Upper Limit Normal

Hepatotoksisitas biasanya terjadi ditandai dengan adanya peningkatan aktivitas enzim pada hati termasuk enzim transaminase ALT (Alanine Transminase), AST (Aspartate Transminase) dan ALP (Alkaline Phosphate) dengan atau tanpa peningkatan bilirubin. Hepatoksisitas didefinisikan peningkatan ALT dan AST 5 kali di atas batas nilai normal; peningkatan ALP 2 kali di atas batas normal; atau kombinasi antara ALT-bilirubin dimana nilai ALT 3 kali di atas batas normal dan bilirubin 2 kali di atas batas nilai normal (Shehu et al., 2017). Peningkatan kadar enzim seperti AST dan ALT berkorelasi dengan terjadinya nekrosis pada hati tikus.

#### 4. Histopatologi Hati

Kerusakan hati secara histologi ditandai dengan adanya perubahan seluler, berupa perubahan reversibel dan ireversibel. Pola kerusakan sel reversibel dapat diamati melalui pemeriksaan mikroskopik berupa pembengkakan sel (degenerasi hidropik) dan perlemakan (steatosis). Degenerasi hidropik merupakan manifestasi awal pada kerusakan hepatosit. Degenerasi hidropik muncul karena sel tidak mampu mempertahankan homeostasis ion dan cairan, sehingga mengakibatkan hilangnya fungsi pompa-pompa ion dependen-energi pada membran plasma. Perubahan morfologi ini lebih mudah diamati bila terjadi kerusakan yang menyeluruh pada hati yang dapat menyebabkan kepuatan, peningkatan turgor dan peningkatan berat hati. Degenerasi hidropik pada pemeriksaan mikroskopik terlihat berupa vakuola-vakuola jernih kecil di dalam sitoplasma. Pembentukan vakuola ini disebabkan oleh adanya segmen-segmen retikulum endoplasma (RE) yang teregang dan tercabik (Kumar *et al.*, 2007). Kerusakan reversibel meliputi 1) perubahan membran plasma seperti bula (pembengkakan), penumpukan atau distorsi mikrovili dan longgarnya perlekatan intersel. 2) perubahan mitokondrial seperti pembengkakan dan munculnya densitas amorf fosfolipid. 3) dilatasi retikulum endoplasma dengan kerusakan ribosom dan disosiasi polisom dan perubahan nuklear dengan disagregasi unsur granular granular dan fibrilar.

Hati sering menjadi organ sasaran, sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal dan setelah diserap,

toksikan dibawa oleh vena portahati ke hati. Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hati, diantaranya:

#### 1. Steatosis (perlemakan hati)

Steatosis adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5%. Adanya kelebihan lemak dalam hati dapat dibuktikan secara histokimia. Lesi dapat bersifat akut, seperti yang disebabkan oleh etionin, fosfor atau tetrasiklin. Mekanisme yang mendasari adalah rusaknya pelepasan trigliserida hati ke plasma, karena trigliserida hati hanya disekresi bila dalam keadaan tergabung dengan lipoprotein membentuk lipoprotein berdensitas rendah (VLDL). Penimbunan lipid hati dapat terjadi melalui beberapa mekanisme: 1) penghambatan sintesis satuan protein dan lipoprotein. 2) penekanan konjugasi trigliserida dengan lipoprotein. 3) hilangnya kalium dari hepatosit mengakibatkan gangguan transfer VLDL melalui membran sel. 4) rusaknya oksidasi lipid oleh mitokondria dan 5) penghambatan sintesis fosfolipid (Lu, 2010).

Perlemakan menunjukkan setiap akumulasi abnormal trigliserida dalam sel parenkim. Asam lemak bebas dari jaringan adiposa atau makanan yang ditelan normalnya diangkut ke dalam hepaatosit, kemudian dihepatosit makanan diesterifikasi menjadi trigliserida, diubah menjadi kolesterol atau fosfolipid atau dioksidasi menjadi badan keton. Keluarnya trigliserida dari hepatosit harus berikatan dengan apoprotein untuk membentuk lipoprotein yang kemudian melintasi sirkulasi. Akumulasi

berlebihan trigliserida dapat disebabkan oleh defek pada setiap tahapan dari masuknya asam lemak sampai keluarnya lipoprotein sehingga menyebabkan kejadian perlemakan hati dan berbagai gangguan hati. Perlemakan tampak dengan mikroskop cahaya sebagai vakuola lemak dalam sitoplasma di sekitar nukleus. Pada stadium akhir vakuola bergabung untuk membentuk ruang jernih yang mendorong nukleus ke tepi sel (Kumar et al., 2007).

## 2. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian hepatosit, dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau masif. Biasanya merupakan kerusakan akut (Lu, 2010).

## 3. Sirosis

Ditandai dengan adanya septa kolagen yang tersebar di sebagian besar hati. Kumpulan hepatosit muncul sebagai nodul yang dipisahkan oleh lapisan berserat (Lu, 2010).

## **D. Tikus Putih**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan percobaan yang sering digunakan pada penelitian biomedis, pengujian, dan pendidikan. Hal ini dikarenakan genetik yang terkarakteristik dengan baik, galur yang bervariasi dan tersedia dalam jumlah yang banyak. Tikus dan mencit yang digunakan untuk kepentingan penelitian atau laboratorium merupakan

jenis albino yang kehilangan pigmen melaninnya (Barnett and Anthony, 2002).

Taksonomi dari tikus putih adalah sebagai berikut (Maley and Komasa, 2003):

Kingdom : Animalia  
Divisi : Chordata  
Kelas : Mammalia  
Ordo : Rodentia  
Famili : Muridae  
Subfamili : Murinae  
Genus : Rattus  
Spesies : *Rattus norvegicus*

Jenis tikus yang paling umum digunakan adalah jenis albino galur Sprague Dawley (SD), Wistar, dan Long Evans. Galur SD dan Wistar merupakan outbred stocks yang merujuk pada hewan yang secara genetik tidak identik atau tidak seragam. Perkawinan antara tikus dilakukan secara acak atau dengan cara menerapkan skema rancangan perkawinan. Hal ini dilakukan untuk menghindari akibat dari inbreeding yaitu menjaga keragaman genetik dan mencegah terjadinya stres. Beberapa keuntungan dari penggunaan outbred stocks antara lain rentang hidup yang panjang, resistensi terhadap penyakit yang tinggi, ukuran yang besar, pertumbuhan dan fertilitas yang cepat (Suckow *et al.*, 2006).

Tikus Wistar merupakan salah satu galur tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium yaitu sebagai model dalam penelitian biomedik (Johnson, 2012). Tikus Wistar (albino) dikembangkan pertama kali di Wistar Institute Philadelphia pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTARAT® (Wistar Institute, 2016) dengan karakteristik kepala tikus yang lebar, telinga panjang, dan memiliki panjang ekor yang kurang dari panjang tubuhnya. Tikus Wistar lebih aktif (agresif) dari pada jenis lain seperti tikus Sprague-Dawley (Sirois, 2005).

Galur tikus Sprague-Dawley (SD) dan Long-Evans dikembangkan dari tikus galur Wistar. Galur ini berasal dari peternakan Sprague-Dawley, Madison, Wisconsin. Ciri-cirinya bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga yang tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata tikus putih berwarna merah dan ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang lebih panjang dari tubuhnya. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325 gram (Sirois, 2005). Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian karena perkembangbiakannya yang cepat, memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan mencit, mudah dipelihara dalam jumlah banyak dan tempramennya yang baik (Sharp *et al.*, 2012).

Tikus laboratorium hidup sekitar 2-3 tahun (rata-rata 3 tahun) sedangkan harapan hidup manusia di seluruh dunia adalah 80 tahun. Masa hidup tikus dengan manusia dapat dihitung dengan  $(80 \times 365) \div (3 \times$



365) = 26,7 hari manusia = 1 hari tikus; dan  $365 \div 26,7 = 13,8$  hari tikus = 1 tahun manusia. Dengan demikian, satu tahun manusia hampir sama dengan dua minggu tikus (13,8 hari tikus) (Sengupta, 2013).

Volume dosis pemberian oral pada tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) idealnya adalah <10 ml/kg dan maksimal 20 ml/kg/hari. Contoh: untuk tikus dengan bobot 250 g volume maksimal yang dapat diberikan adalah 2,5 ml (CCAC, 2015).

Tabel 3. Konversi dosis manusia ke hewan berdasarkan luas permukaan tubuh

Spesies	Berat badan (kg)	Rentang Berat badan (kg)	Luas permukaan tubuh (m <sup>2</sup> )	Faktor km	Faktor konversi
Manusia	60	-	1,6	37	1,00
Tikus	0,15	0,080 – 0,270	0,025	6	6,17
Mencit	0,02	0,011-0,034	0,007	3	12,33
Hamster	0,08	0,047-0,157	0,02	5	7,40
Kelinci	1,8	0,9-3,0	0,15	12	3,08
Anjing	10	5 – 17	0,5	20	1,85
Monyet	3	1,4 – 4,9	0,24	12	3,08
Baboon	12	7 – 23	0,6	20	1,85

(Shin, J.W., 2010; Nair and Jacob 2016)

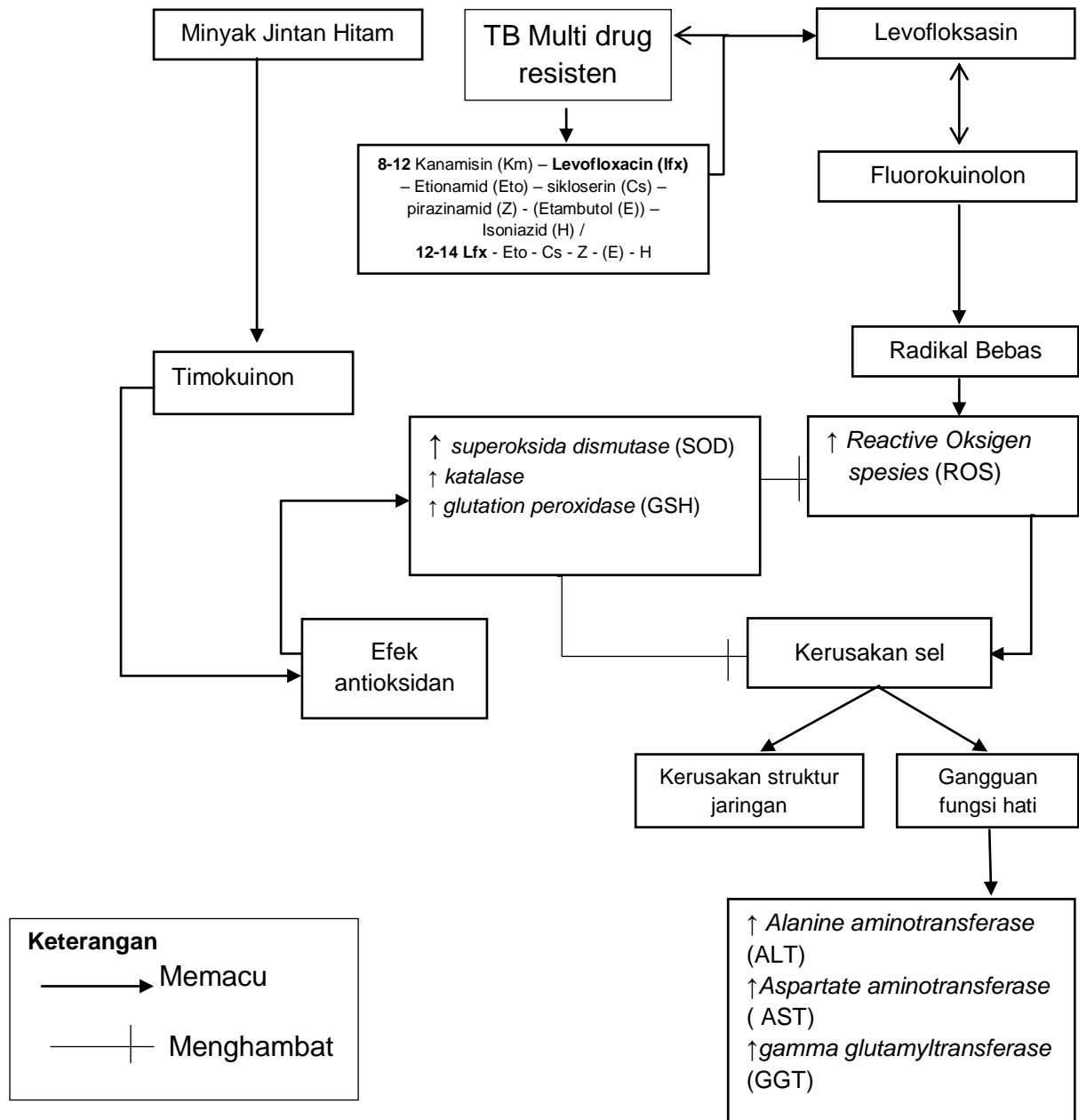
Tabel 4. Nilai referensi pemeriksaan ALT, AST dan GGT pada tikus

Pemeriksaan	Nilai Referensi
<i>Alanine Aminotransferase</i> (ALT)	19 – 48 U/L
<i>Aspartate Aminotransferase</i> (AST)	63 – 175 U/L
<i>Gamma Glutamyltransferase</i> (GGT)	Undetectable*

(Giknis and Clifford, 2008); \*belum dilihat sebagai indikator efektif disfungsi hati atau cedera pada tikus (Caisey, 1980)

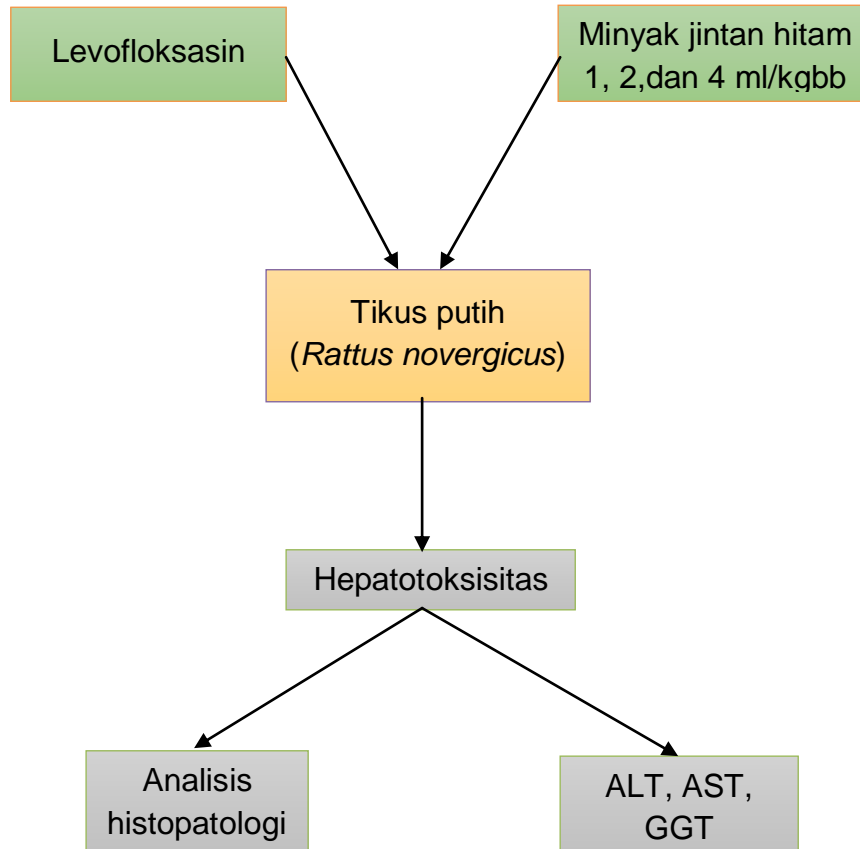
## E. Kerangka Konseptual

### 1. Kerangka Teori



**Gambar 6.** Kerangka Teori Penelitian

## 2. Kerangka Konsep



### Keterangan

Variabel bebas

variabel antara

Variabel tergantung

**Gambar 7.** Kerangka Konsep Penelitian

## **F. Hipotesis**

1. Terdapat efek protektif minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap biomarker fungsi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi levofloksasin dosis terapi selama 28 hari.
2. Terdapat efek protektif minyak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap gambaran histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi levofloksasin dosis terapi selama 28 hari.