

MIANA

Mencegah Efek Samping Pengobatan Tuberkulosis

Kerusakan fungsi hati merupakan penyebab tersering penderita atau dokter menghentikan pengobatan. Hepatotoksisitas yang diinduksi obat anti tuberkulosis (OAT) terutama disebabkan oleh stres oksidatif akibat obat - obatan dan metabolit. Toksisitas subkronik merupakan salah satu syarat pengujian obat - obatan yang digunakan jangka panjang seperti OAT.

Penelitian bertujuan menentukan potensi ekstrak daun miana (EDM) sebagai hepatoprotektor dan pencegahan toksisitas ginjal akibat pemberian OAT. Penelitian ini menunjang penelitian - penelitian sebelumnya yang telah membuktikan potensi EDM untuk pencegahan dan pengobatan komplementer tuberkulosis.

Penelitian ini membuktikan potensi daun miana sebagai OAT komplementer yang aman dan dapat mencegah efek samping pengobatan tuberkulosis, sehingga menjadi rujukan ilmiah untuk penggunaan di klinik dan masyarakat.

Penerbit :

Unit Penelitian Poltekkes Kemenkes Makassar
Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 46
Makassar 90222
Telp (0411) 869826, Fax (0411) 869742
Email : info@poltekkes-mks.ac.id



MONOGRAF MIANA

Mencegah Efek Samping Pengobatan Tuberkulosis



Penerbit :

Unit Penelitian Poltekkes Kemenkes Makassar
Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 46
Makassar 90222
Telp (0411) 869826, Fax (0411) 869742
Email : info@poltekkes-mks.ac.id



ISBN 978-602-6566-87-6



MONOGRAF

MIANA
Mencegah efek samping pengobatan tuberkulosis

penulis
SESILIA RANTE PAKADANG

UNIT PENELITIAN
POLTEKKES KEMENKES MAKASSAR
2019

MONOGRAF

MIANA

Mencegah efek samping pengobatan tuberkulosis

Penulis : Sesilia Rante Pakadang
ISBN : 9786026568878

Editor : Sesilia Rante Pakadang
Penyunting : Sesilia Rante Pakadang
Desain Sampul dan Tata Letak : Hafisah dan Sesilia

Penerbit :

Unit Penelitian Poltekkes Kemenkes Makassar
Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 46
Makassar 90222
Telp (0411) 869826, fax (0411) 869742
Email : info@poltekkes-mks.ac.id

Redaksi :

Jl. Wijaya Kusuma Raya No. 46
Makassar 90222
Telp (0411) 869826, fax (0411) 869742

Distributor Tunggal :

Unit Penelitian Poltekkes Kemenkes Makassar

Cetakan Pertama, September 2019

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
Dilarang memperbanyak karya tulisan dalam bentuk dan dengan
apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit
No. 000159493, 17 Oktober 2019

PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa yang selalu melimpahkan segala berkat, anugerah, perlindungan dan rahmatNya, sehingga monograf ini dapat diselesaikan.

Masalah utama dalam pengobatan tuberkulosis adalah efek samping dan lamanya masa pengobatan yang menyebabkan penderita menghentikan pengobatan. Sehingga perlu pengobatan komplementer yang bersifat pencegahan efek samping pengobatan tuberkulosis.

Monograf ini membahas tentang pembuktian ilmiah tentang potensi daun miana sebagai hepatoprotektor, keamanan penggunaan jangka panjang daun miana dan kemampuan daun miana dalam mencegah toksisitas obat-obatan terhadap ginjal. Diharapkan monograf ini menjadi rujukan dalam pengobatan tuberkulosis.

Akhirnya dengan segala rendah hati penulis haturkan terima kasih untuk siapa saja yang telah membantu penulis, semoga Tuhan melimpahkan rahmatNya kepada kita semua. Semoga monograf ini memberikan faedah kepada pembacanya. Amin.

Makassar, September 2019
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL		1
IDENTITAS MODUL		2
PENGANTAR		3
DAFTAR ISI		4
BAB 1	PENDAHULUAN	1
	Latar belakang	1
	Rumusan Masalah	5
	Tujuan	6
	Manfaat	6
BAB 2	TINJAUAN PUSTAKA	7
	Kerusakan hati akibat pengobatan	7
	Klasifikasi Hepatitis Imbas Obat	10
	Pola Klinis dan Morfologis Hepatitis Imbas Obat	11
	Pemeriksaan Kerusakan Hati Berbasis Laboratorium	12
	Toksisitas Ginjal Akibat pengobatan Miana	14
	Hewan uji tikus	17
BAB 3	METODE PENELITIAN	21
	Jenis dan rancangan penelitian	24
	Lokasi dan waktu penelitian	24
	Bahan uji dan Sampel uji	24
	Prosedur pelaksanaan penelitian	24
	Sampel	24
	Teknik pengumpulan dan analisis data	33
	Skema kerja	36
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	37
	Penyiapan tanaman miana dan proses ekstraksi daun miana (EDM)	38
	Standarisasi ekstrak daun miana	40

Aktivitas antioksidan (EDM)	42
Aktivitas EDM terhadap SGOT tikus terinduksi obat anti tuberkulosis	44
Aktivitas EDM terhadap SGPT tikus terinduksi obat anti tuberkulosis	46
Aktivitas EDM terhadap gambaran histopatologi hati tikus terinduksi OAT	48
Aktivitas EDM terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus terinduksi OAT	51
Aktivitas EDM terhadap bilirubin total tikus terinduksi OAT	54
Aktivitas EDM terhadap kreatinin tikus terinduksi obat anti tuberkulosis	57
Aktivitas EDM sebagai maintenance kesehatan selama pengobatan tuberkulosis	59
Pembahasan	61
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	70
DAFTAR PUSTAKA	71

BAB 1

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Tuberkulosis merupakan salah satu jenis penyakit infeksi yang menyerang saluran napas dan disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Penderita tuberkulosis paru dapat menyerang siapa saja termasuk penduduk urban. Dewasa ini pemerintah telah mencanangkan berbagai program untuk membasmi penyakit tuberkulosis, namun kasus tuberkulosis tetap ada setiap tahunnya.

Pengobatan lini pertama tuberkulosis menurut pedoman penanggulangan tuberkulosis (2011) adalah penggunaan obat anti tuberkulosis (OAT) seperti isoniazid, rifampisin, pyrazinamide, streptomisin dan etambutol (yang dikenal dengan HRZSE). Kendala yang dihadapi dalam proses pengobatan ini adalah penderita menghentikan pengobatan akibat berbagai factor. Factor yang paling sering terjadi adalah efek samping OAT terhadap kerusakan fungsi hati dengan gejala paling umum seperti peningkatan SGPT dan SGOT. Pengobatan untuk penyembuhan penyakit tuberkulosis senantiasa berkembang, namun obat-obatan anti tuberkulosis diketahui dapat menyebabkan efek samping seperti hepatitis, reaksi hipersensitif, mual, dan muntah (Gautam, 2012). Kerusakan fungsi hati merupakan penyebab tersering penderita atau dokter menghentikan pengobatan (Isbaniah, 2011). Hepatotoksisitas yang diinduksi OAT terutama disebabkan oleh stres oksidatif yang disebabkan oleh obat-obatan dan metabolit (Singh, 2012).

Kerusakan hati dapat pula disebabkan oleh obat-obat lain seperti Acetaminophen; NSAID (non steroid anti inflamasi) seperti aspirin, ibuprofen, naproxen dan diclofenac); antibiotika seperti OAT, klindamisin, eritromisin, nitrofurantoin, sulfonamide, tetrasiklin, trimethoprim/ sulfametoksazol, metrotrexat, amiodarone; obat-obat anti kejang (fenitoin, valproate dan lain-lain). Beberapa obat tersebut digunakan dalam

waktu yang lama sehingga sangat berpotensi menimbulkan penyakit baru bagi penderita. Oleh sebab itu pencegahan toksisitas subkronik dari tiap obat mendapat perhatian penting dalam proses pengobatan (Quamila dan Firdaus, 2016).

Pencegahan *drug induced liver injury* (DILI) telah dilakukan dengan menggunakan bahan kimia dan bahan alam. Baniyadi dkk (2010) telah melaporkan efek hepatoprotektor n-asetilsistein dalam mencegah kerusakan fungsi hati akibat pemberian OAT. Singh dkk (2012) telah membandingkan efek hepatoprotektor n-asetilsistein, silymarin dan curcumin. Hasil menunjukkan obat-obat hepatoprotektif dapat menurunkan hepatotoksik selama pengobatan sel HepG2 dengan OAT. Kondisi sel yang dimonitor adalah kelangsungan hidup, morfologi, respiring mitokondria dan siklus sel. Febriana (2015) melaporkan pengaruh meniran sebagai hepatoprotektor terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih jantan akibat pemberian terapi rifampisin dan isoniazid. Hasil penelitian menunjukkan pemberian meniran 3,4mg/kgbb memberikan gambaran histologi hepar yang tidak berubah.

Potensi hepatoprotektor bahan propolis terhadap tikus putih yang diinduksi oleh CCl₄ (carbon tetra chloride) juga telah dibuktikan oleh Krisnansari dkk (2014). Hasil menunjukkan pemberian propolis memberikan perbedaan signifikan pada *IL-6*, *superoxide dismutase*, berat badan dan histopatologi hati tikus. Penelitian sejenis juga dilakukan oleh Huda dan Mosaddik (2018) menunjukkan formulasi polih herbal sharbat chylosin (mengandung 11 jenis tanaman). Aktivitas hepatoprotektor ditentukan oleh kadar total bilirubin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline fosfatase (ALP) dan gambaran histopatologi hati tikus. Fungsi tanaman sebagai pencegah efek samping obat juga ditunjukkan oleh penelitian Sunarni, 2013 menyimpulkan bahwa kombinasi ekstrak buah mengkudu 20mg/200 g bb dan daun pepaya 120mg/200 g bb secara signifikan dapat menurunkan aktivitas ALT, AST dan kadar bilirubin serum. Studi histologi hati juga menunjukkan dosis kombinasi tersebut dapat mencegah kerusakan hati dengan

persentasi nekrosis yang lebih rendah (27,83%) daripada control negative (47,47%).

Penelitian yang menghubungkan efek hepatoprotektif berhubungan dengan sifat antioksidan dari ekstrak tanaman juga telah dilakukan. Shehab dkk (2015) telah meneliti pengaruh pemberian beberapa ekstrak tanaman sebagai hepatoprotektor terhadap mencit yang diinduksi karbon tetraklorida. Hasil menunjukkan bahwa *Fagonia indica* Burn, *Calotropis procera* RBr dan *Salsola imbricate* Forssk efektif mencegah toksisitas hati mencit (hepatotoksitas mencit) karena kapasitas antioksidan yang melindungi hati. Komposisi fenolik seperti *quercetine* dan *rosmarinic acid contents* dalam tanaman tersebut memberikan aktivitas antioksidan yang dibutuhkan untuk menangkal *stress oksidatif* sebagai salah satu mekanisme patofisiologi terjadinya DILI (Yani dan Singh, 2015).

Fungsi hepatoprotektor dari tanaman penting diberikan sebagai komplementer dalam pengobatan tuberkulosis. Beberapa tanaman yang telah terbukti sebagai komplementer dalam pengobatan tuberkulosis antara lain; meniran, miana, manggis, temulawak, rosella, kencur, kedondong hutan, bawang putih, brotowali. Tanaman-tanaman tersebut juga berpotensi sebagai antioksidan (Zulkifli, 2005; Maryani dan Kristiana, 2005; Garmana dan Sukendar, 2011; Ramsif et al, 2012; Ramayati, Ariantari, Dwija, 2013; Pakadang, 2015; Ramadhani, 2015).

Kemampuan antioksidan dari ekstrak tanaman terbukti menjadi dasar potensi terapeutik tanaman obat. Snafi (2015) telah mengidentifikasi 45 tanaman di Irak yang berpotensi sebagai obat karena mengandung metabolit sekunder yang bersifat antioksidan. Di India ditemukan 4167 spesies tanaman obat yang telah digunakan untuk perawatan gangguan hati, filariasis dan diabetes mellitus (Satyapal dan Singh, 2017). Verma (2018) telah mereview 15 tanaman yang terbukti berpotensi sebagai hepatoprotektif dan telah digunakan untuk pengobatan gangguan hati di kedokteran rakyat Iran. Kumar dkk (2011) mengidentifikasi sifat antioksidan makanan (herbal) yang dapat membantu melindungi hati dari kerusakan akibat mekanisme

oksidatif bahan kimia beracun. Tanaman yang dimaksud adalah *Picrorrhiza kurroa*, *Andrographis paniculata*, *Eclipta alba*, *Silibum marianum*, *Phyllanthus maderaspatensis* dan *Trichopus zeylanicus* (potensi cukup aktif); *P.kurroa*, *E. alba*, *Glycyrrhiza glabra*, *A. paniculata* dan *P. amarus* (cenderung aktif). Kombinasi herbal dikembangkan untuk mendapat hasil yang memuaskan mengobati penyakit hati yang parah. Rachmawati dan Ulfa (2017) meneliti tentang toksisitas ekstrak kayu kuning terhadap hati dan ginjal dengan parameter kadar SGOT, SGPT, histopatologi hati dan ginjal. Penggunaan tanaman sebagai obat termasuk hepatoprotektor perlu mempertimbangkan sifat toksisitas subkronik yang ditimbulkan. Terutama untuk penggunaan obat jangka panjang seperti komplementer pengobatan tuberkulosis.

Daun miana adalah salah satu herbal yang sejak dahulu telah digunakan secara empiris oleh masyarakat Toraja Sulawesi Selatan sebagai obat tuberkulosis (Pakadang, 2015). Ekstrak daun miana (EDM) telah terbukti sebagai imunomodulator untuk mencegah dan komplementer pengobatan tuberkulosis dengan peningkatan limfosit, sel T CD4, IFN , TNF dan menurunkan jumlah koloni M.tb (Pakadang, 2015). Pembuktian daun miana sebagai antituberkulosis juga diteliti oleh Palette (2017) yang membuktikan EDM dapat meningkatkan ekspresi mRNA IL-6 dan menurunkan ekspresi mRNA IL-10. Meskipun EDM telah terbukti berpotensi sebagai obat anti tuberkulosis namun penggunaan jangka panjang OAT maka keamanan toksisitas EDM harus terjamin. Penggunaan EDM sebagai komplementer pengobatan tuberkulosis juga diharapkan dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor yang ditunjang oleh sifat antioksidan yang dimilikinya.

B. RUMUSAN MASALAH

Penelitian ini berfokus pada toksisitas dan potensi hepatoprotektor dari ekstrak daun miana terhadap hewan uji tikus

putih yang diinduksi dengan OAT sehingga rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh menurunkan jumlah SGOT tikus putih yang terinduksi OAT?
2. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh menurunkan jumlah SGPT tikus putih yang terinduksi OAT?
3. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih yang terinduksi OAT?
4. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih yang terinduksi OAT?
5. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh terhadap jumlah bilirubin tikus putih yang terinduksi OAT?
6. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh terhadap jumlah kreatinin tikus putih yang terinduksi OAT?
7. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan darah lengkap (leukosit, eritrosit, Hb) tikus putih yang terinduksi OAT?
8. Apakah ekstrak daun miana berpengaruh terhadap berat badan tikus putih yang terinduksi OAT?

C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan Umum

Menentukan toksisitas dan potensi hepatoprotektor dari ekstrak daun miana terhadap tikus putih yang diinduksi dengan Obat Anti Tuberkulosis

Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap penurunan jumlah SGOT tikus putih yang terinduksi OAT
2. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap penurunan jumlah SGPT tikus putih yang terinduksi OAT
3. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih

4. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih
5. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah bilirubin tikus putih
6. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah kreatinin tikus putih
7. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap hasil pemeriksaan darah lengkap (leukosit, eritrosit, Hb) tikus putih
8. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap berat badan tikus putih

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Miana

Tanaman miana dikenal dengan nama lain sebagai *Coleus laciniatus* (L) Benth, *Coleus scutellarioides* (L) Benth., *Coleus hybridus*, (L) Hort., *Plectranthus scutellarioides* (L) Benth, *Coleus ingrotus* (L) Benth, *Coleus atropurpureus* (L) Benth, *Coleus blumei* (L) Benth.

Tanaman miana dapat ditanam di halaman rumah, pot atau di kebun sebagai tanaman herba. Bentuk fisik tanaman miana terdiri dari akar, batang, daun, bunga seperti gambar 2.1 berikut;



Sumber : Dokumen peneliti (2019)

Gambar 2.1. Tanaman miana



Sumber: Dokumen peneliti (2013)

Gambar 2.2. Simplisia Daun Miana (*Colei Scutellarioidi Folium*).

Klasifikasi tanaman miana berdasarkan LIPI UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi (2013) adalah;

Kingdom : Plantae (tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Coleus*
Spesies : *Coleus scutellarioides* (L.) Benth

Nama daerah; Adang-adang (Palembang), Si gresing (Batak), , Jawer kotok (Sunda), Dhin-kamandhinan (Madura), Iler, Kentangan (Jawa), Rangon tati, Serewung (Minahasa), Ati-ati, Panci-panci, Saru-saru (Bugis), Sarenakko (Toraja), Majana (Manado) (Sentra informasi IPTEK, 2012).

Penggunaan empiris daun miana berbeda-beda di setiap daerah seperti obat tuberkulosis, batuk, diare, kecacingan, sakit perut, luka, demam dan sebagainya. Berdasarkan etnofarmakologi penggunaan daun miana sebagai obat penyakit infeksi di Sulawesi Selatan dan obat batuk tuberkulosis

masyarakat Toraja (Pakadang dkk, 2015; Pakadang dan Karim, 2016). Data empiris tersebut telah banyak dibuktikan oleh penelitian ilmiah sebagai antibakteri, antioksidan, antidiabetes, antiinflamasi dan imunomodulator (Novanti, 2018). Daun miana sebagai antibakteri telah diteliti terhadap bakteri dan fungi seperti: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumonia*, *Aspergillus flavus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus ochraceus* CFR 221, *Fusarium sp. GF-1019*, *Candida versatilis*, *Penicillium sp*, *Sacharomyces cerevisiae* dan *Mycobacterium tuberculosis* (Yuningsih, 2007; Rahmawati, 2008; Kumala, 2009; Khare *et al.*, 2011; Mpila dkk, 2012; Mpila dkk, 2012; Pakadang, 2013; Pakadang dkk, 2017; Pakadang dkk 2018). Meskipun pembuktian sebagai antibakteri umumnya masih menggunakan ekstrak etanol atau etil asetat sehingga masih perlu pengujian dalam tahap fragmen zat aktif untuk pengembangan produk selanjutnya. Copp dan Pearce (2007), menyatakan bahwa produk alami cenderung kurang dikembangkan untuk optimalisasi karena potensinya yang masih rendah (MIC 1µg/ml) dan selektivitas sitotoksik yang rendah. Potensi produk alami yang dimaksudkan adalah aktivitas antibakteri dari zat aktif atau seyawa kimia hasil isolat murni dari suatu ekstrak tanaman yang masih rendah dan sifat antibakteri masih selektif untuk beberapa jenis bakteri.

Pengujian aktivitas antioksidan daun miana telah dilakukan antara lain oleh Khare *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan miana diberikan oleh asam *rosmarinic*, asam klorogenat dan asam *caffeic*. Carvacrol dan/atau timol dan *-caryophyllene* adalah konstituen aktif utama minyak esensial dari tanaman. Komposisi minyak bervariasi jauh tergantung pada wilayah, musim pengumpulan dan pematangan tanaman. Khattak dan Taher (2010) meneliti ekstrak *Coleus scutellarioides* telah menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 15,9 µg/ml (vitamin C = 2,48 µg/ml sebagai pembanding). Kandungan senyawa kimia dalam ekstrak yang

ditemukan adalah: flavonoid 13,66 mg QE/g ekstrak (QE=*quercetin equivalents*), fenol 85,35mg GAE/g (GAE=*gallic acid equivalents*). Pakadang (2015) menguji aktivitas antioksidan ekstrak daun miana yaitu IC₅₀ 34.407ppm (pembanding vitamin C dengan IC₅₀ 21.09 ppm. Hasil skrining fitokimia dan menyimpulkan daun miana mengandung flavonoid 7.35 mg/g dan polifenol 20.35mg/g ekstrak daun miana.

Lumbessy (2013) telah melakukan uji kualitatif sampel iler dan mengandung flavonoid iler 14,25 mg/ml. Mutiatikum dkk. (2010) menentukan hasil uji karakteristik simplisia miana dari 3 kota (Manado, Kupang dan Papua) hasil penelitian menyimpulkan tannin merupakan identitas dari masing-masing fraksi (misalnya n-heksan, etil asetat dan etanol) memiliki kromatogram yang sama. Khattak dan Taher (2010) menyimpulkan keamana daun miana dimana dosis 5000mg/kg berat badan ternyata tidak ada mencit sebagai hewan coba, tidak toksik dan tidak ada lesi patologis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun miana ditanam di daerah dingin (suhu dingin) seperti Kabupaten Tana Toraja dan (Baumata Kota Kupang) memberikan potensi antioksidan yang lebih baik daripada daun miana yang tumbuh di Kota Makassar (suhu dan polusi lebih tinggi) (Pakadang and Hilaria, 2017).

2.2 Kerusakan Hati Akibat Pengobatan

Banyak penelitian telah dilakukan untuk menilai dampak kerusakan hati akibat pemberian obat tuberkulosis. Umumnya penelitian menemukan penderita yang mengalami kerusakan hati yang ditandai dengan kenaikan AST, ALT dan beberapa parameter lainnya. DILI terjadi pada penderita yang menjalani pengobatan jangka panjang dengan OAT. Awal kejadian kerusakan hati teridentifikasi sebagai DILI dimulai ketika penerita menjalani pengobatn selama 2 bulan hingga berakhirnya masa pengobatan.

Pengembangan idiotinkratik hepatotoksisitas adalah proses yang melibatkan kejadian cedera hati. Pengamatan klinis selama

beberapa dekade telah mengidentifikasi sejumlah faktor terkait obat dan hospes yang dikaitkan dengan peningkatan risiko hepatotoksisitas diinduksi oleh obat antituberkulosis, Meskipun sebagian besar penelitian bersifat retrospektif dengan beragam kasus dan jumlah sampel. Investigasi pada kerentanan genetik terhadap hepatotoksisitas sejauh ini difokuskan pada pembentukan dan akumulasi metabolit reaktif serta faktor-faktor yang berkontribusi pada mekanisme pertahanan antioksidan seluler dan lingkungan yang dapat memodulasi ambang batas untuk kematian hepatosit sekunder akibat stres oksidatif. Kemajuan terbaru dalam farmakogenetika telah menjanjikan pengembangan algoritma yang disempurnakan termasuk faktor risiko obat, inang dan lingkungan yang memungkinkan penyesuaian obat yang lebih baik berdasarkan perkiraan akurat rasio risiko-manfaat. Investigasi masa depan yang mengeksplorasi patogenesis hepatotoksisitas harus dilakukan menggunakan jaringan manusia dan sampel bila memungkinkan, sehingga temuan ini dapat diaplikasikan secara klinis (Ramappa dan Aithal, 2012).

Cidera hati setelah terapi menggunakan obat anti-tuberkulosis (OAT) adalah efek samping umum dan serius dari pengobatan TB. Studi retrospektif telah dilakukan untuk mempelajari prevalensi DILI di antara pasien yang telah menerima obat anti-TB dan mempelajari beberapa faktor risiko penyebab DILI. Pasien dari segala usia, didiagnosis dan diobati untuk TB paru dengan BTA positif dari 1 Januari 2008 hingga 31 Desember 2012. Analisis regresi logistik ganda menjadi acuan untuk menentukan hubungan berbagai faktor risiko dan DILI. Faktor perancu yang dipertimbangkan adalah usia, jenis kelamin, berat badan, indeks massa tubuh, dosis obat (tetap atau per kg), rejimen OAT (harian atau intermiten), dan kategori pengobatan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa 9,48% terjadi DILI. Asosiasi berbagai faktor risiko tidak signifikan; termasuk infeksi hepatitis B, konsumsi alkohol kronis, infeksi hepatitis C, infeksi HIV, dan TB kronis yang ada (Saha et al., 2016).

Cedera hati akibat obat (DILI) adalah masalah yang semakin penting, tetapi telah lama menjadi perhatian dalam pengobatan infeksi TBC. Hati berperan sentral pada proses metabolisme dan detoksifikasi obat sehingga berisiko besar terjadinya cedera hati. Patogenesis dan tipe DILI yang terjadi diawali dengan adaptasi hepatic dan berlanjut terus hingga terjadi cedera hepatoseluler. Pengetahuan tentang metabolisme obat anti-TB dan mekanisme DILI TB tidak lengkap. Pemahaman tentang TB DILI telah terhambat oleh perbedaan dalam populasi penelitian, definisi hepatotoksisitas, dan praktik pemantauan dan pelaporan. Data yang tersedia mengenai kejadian dan tingkat keparahan TB DILI secara keseluruhan, dalam kelompok demografis tertentu, dan pada mereka yang koinfeksi dengan HIV atau virus hepatitis B atau C disajikan. Selama pengobatan infeksi TB laten (LTBI) pemantauan alanine aminotransferase (ALT) direkomendasikan bagi mereka yang secara kronis mengonsumsi alkohol, minum obat hepatotoksik bersamaan, memiliki hepatitis virus atau penyakit hati lain yang sudah ada sebelumnya atau ALT awal yang tidak normal, pernah mengalami hepatitis isoniazid sebelumnya, hamil atau dalam 3 bulan postpartum. Selama pengobatan penyakit TB, selain orang-orang ini, pasien dengan infeksi HIV harus memiliki pemantauan ALT. Pengobatan harus dihentikan dan, secara umum, rejimen yang dimodifikasi atau alternatif yang digunakan untuk mereka dengan peningkatan ALT lebih dari tiga kali batas atas normal (ULN) di hadapan gejala hepatitis dan / atau penyakit kuning, atau lima kali ULN jika tidak ada gejala. Prioritas untuk penelitian di masa depan untuk mengembangkan perawatan yang lebih aman untuk LTBI dan untuk penyakit TB (Saukkanen et al., 2006).

Untuk mempresentasikan hasil pemantauan hepatotoksisitas obat antituberkulosis pada ibu dan anak yang menjalani perawatan khusus akibat infeksi tuberkulosis paru di rumah sakit. Disarankan untuk memantau hepatotoksisitas obat antituberkulosis ini, dengan menentukan aktivitas katalitik aspartat aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT), alkali fosfatase (ALP), gamma glutamyltransferase (GGT), laktat

dehidrogenase (LD) dan bilirubin. Hasil adalah peningkatan tertinggi dalam aktivitas enzim pada ibu tercatat dua minggu sejak lembaga terapi: AST, ALT, ALP, GGT dan aktivitas LD adalah 34 kali lipat, 43 kali lipat, 1,2 kali lipat, 5 kali lipat dan 1,7- lipat lebih tinggi, masing-masing, daripada nilai normal atas. Pada anak, peningkatan aktivitas enzim tertinggi terjadi selama minggu pertama sejak penerapan terapi; dibandingkan dengan nilai rentang referensi atas, AST, ALT, GGT dan LD masing-masing 28,1-, 29,2-, 2,5-, dan 3,3 kali lipat lebih tinggi. Setelah penghentian terapi sementara, tingkat aktivitas katalitik kembali dalam batas kisaran referensi, dan terapi secara bertahap diperkenalkan kembali sampai dosis penuh tercapai. Selama periode berikutnya sampai pemulihan, baik ibu dan anak mentoleransi terapi obat antituberkulosis dengan baik, yaitu tanpa peningkatan aktivitas enzim. Disimpulkan bahwa aktivitas katalitik AST dan ALT yang meningkat secara signifikan pada ibu dan anak selama terapi obat antituberkulosis menunjukkan adanya kemungkinan kecenderungan untuk hepatotoksisitas berat. Selama minggu-minggu awal pemberian obat antituberkulosis, perlu untuk memantau aktivitas enzim hati setiap minggu untuk mendeteksi kemungkinan hepatotoksisitasnya dan melakukan evaluasi terapi segera (Dodig, 2008).

Untuk menilai tingkat keparahan dan frekuensi hepatotoksisitas akibat mengkonsumsi obat antituberkulosis (OAT) yang berbeda dan untuk mengevaluasi faktor risiko mempengaruhi obat antituberkulosis yang diinduksi hepatotoksisitas. Penelitian kohort prospektif ini dilakukan di Unit Medis-V dan departemen OPD Rumah Sakit Sipil Karachi dari Juli 2004 hingga Juli 2005. Sebanyak 339 pasien yang didiagnosis infeksi TB aktif dengan fungsi hati pretreatment normal dipantau secara klinis maupun biokimia. Data mereka dikumpulkan pada proforma dan pasien diobati dengan Isonized, Rifampicin dan Pyrazinamide. Durasi setelah gangguan fungsi, jika ada, terjadi dan waktu yang diambil untuk normalisasi dicatat. Pengobatan diubah sesuai kebutuhan, dengan

pengecualian obat biang kerok. OAT menginduksi hepatotoksisitas terlihat pada 67 (19,76%) dari 339 pasien. Perempuan lebih terpengaruh dibandingkan dengan laki-laki (26,3% vs 19,7%). BMI (kg / m²) dari 91% dari kelompok yang sakit kurang dari 18,5 ($p < 0,01$) kebanyakan dari mereka menderita anemia yang memiliki tingkat albumin rendah yang menunjukkan massa tubuh kurus. Hepatotoksisitas lebih parah pada pasien BTA positif. Penggunaan alkohol, parasetamol, dan kolesterol serum yang rendah secara bersamaan terbukti sebagai faktor predisposisi. Isoniazid [37 pasien (55,21%), $p < 0,01$] adalah penyebab utama diikuti oleh Rifampicin (23 pasien, 34,21%) dan Pyrazinamide (7 pasien, 10,5%). Sebagian besar pasien (61%) mengembangkan hepatotoksisitas dalam dua minggu setelah memulai terapi antituberkulosis dengan perubahan ringan hingga sedang pada ALT dan AST (Mahmood, 2007).

2.3 Toksisitas Ginjal Akibat Pengobatan

Salah satu persyaratan pengembangan obat herbal adalah melaksanakan uji pra klinik. Uji praklinik merupakan rangkaian pengujian toksikologi untuk menentukan standar keamanan suatu sediaan obat tradisional, menentukan spectrum efek toksik serta menentukan standar uji farmakodinamik dalam rangka penetapan informasi standar tentang khasiat obat. Uji toksisitas terdiri atas toksisitas umum (yaitu toksisitas akut, sub akut/ sub kronis dan kronis) serta toksisitas khusus (meliputi uji teratogenic, mutagenic dan karsinogenik). Pengujian toksisitas obat tradisional juga dibedakan berdasarkan lama pemakaian obat (penggunaan waktu singkat dan penggunaan jangka panjang). Untuk jangka panjang dalam hal ini harus dibedakan pula toksisitas subkronis dan kronis uji. Toksisitas akut merupakan uji untuk menetapkan LD₅₀ dari bahan obat dengan mengamati berbagai gejala klinis yang terjadi sehingga dapat menetapkan spectrum efek toksik dan mekanisme kematian (Depkes, 2000).

Penggunaan obat herbal untuk pengobatan tuberkulosis membutuhkan waktu lama seperti halnya obat anti tuberkulosis lainnya, sehingga perlu ditentukan toksisitas subkronis atau toksisitas kronis dari obat herbal tersebut. Uji toksisitas jangka panjang bertujuan untuk mengetahui spectrum efek toksik serta hubungan dosis dan toksisitas pada pemberian berulang dalam jangka waktu lama. Uji toksisitas subkronis dilakukan terhadap bahan obat yang digunakan sekurangnya 1-3 bulan dan uji toksisitas kronis untuk pemakaian minimal 3 – 6 bulan. Uji toksisitas jangka panjang seharusnya melakukan penilaian terhadap perubahan seperti akumulasi obat, system metabolisme, toleransi organ atau system organ dan bahkan kelainan khusus yang terjadi pada organ tertentu. Untuk masa pemakaian obat herbal selama 4 minggu – 3 bulan maka lama pemberian dosis untuk pengujian pada uji preklinis adalah 1-4 minggu (Depkes, 2000).

Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 7 tahun 2014 tentang pedoman uji toksisitas nonklinis secara in vivo telah menetapkan persyaratan pengujian toksisitas untuk sediaan herbal. Uji toksisitas adalah pengujian untuk menilai efek toksik obat terhadap sistem biologi sehingga diperoleh data dosis-respon yang khas dari bahan obat. Data yang diperoleh digunakan untuk memberi informasi tentang dosis penggunaan obat demi keamanan manusia.

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. meskipun hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/ sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk tentang adanya toksisitas relatif dan dapat mengidentifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia. Faktor-faktor yang menentukan kebenaran hasil uji toksisitas secara in vivo adalah: pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji; pemilihan dosis uji; efek samping sediaan uji; teknik

dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan.

A. UJI TOKSISITAS AKUT ORAL

Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang segera terjadi setelah pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral adalah memberikan sediaan uji dalam beberapa dosis pada masing-masing kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok. kemudian melakukan pengamatan terjadinya efek toksik hingga kematian. Hewan yang mati diotopsi untuk mengevaluasi terjadinya gejala toksisitas. Kesimpulan pengujian ini dapat mendeteksi toksisitas intrinsik obat terhadap organ sasaran dan menyimpulkan bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut. Hasil uji juga memberikan informasi awal untuk menetapkan nilai LD50 suatu bahan/ sediaan.

B. UJI TOKSISITAS SUBKRONIS ORAL

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang terjadi setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang secara oral pada hewan uji selama beberapa waktu maksimal 10% masa hidup hewan. Prinsip uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa dosis diberikan setiap hari pada masingmasing kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari. Selama masa pemberian sediaan uji, pengamatan dilakukan setiap hari untuk menentukan terjadinya toksisitas. Bila perlu menggunakan alat recorder untuk memantau proses kejadian toksisitas yang tidak teramati setiap saat.

Hewan yang mati selama masa pengujian segera diotopsi sebelum tubuhnya kaku dan organ atau jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir perlakuan pengujian, semua hewan dieuthanasia dan diotopsi untuk pengamatan

makropatologi dan histopatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi tentang efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut. Juga mengamati terjadinya efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu. Sehingga dapat diperoleh informasi dosis pemberian yang aman (tidak toksik atau No Observed Adverse Effect Level / NOAEL) dan menentukan akibat kumulatif obat dan efek reversibilitas obat tersebut.

C. UJI TOKSISITAS KRONIS ORAL

Uji toksisitas kronis oral adalah pengujian untuk menentukan efek toksik yang terjadi setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka panjang bahkan seumur hidup hewan. Uji toksisitas kronis pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronis, namun lama pemberian bahan uji adalah minimal 12 bulan. Tujuan uji toksisitas kronis oral adalah untuk memperoleh gambaran efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang dalam jangka panjang. Sehingga dapat ditetapkan dosis aman untuk penggunaan obat atau dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL). Uji toksisitas kronis dilaksanakan dengan metode yang tepat sehingga dapat merekam kejadian toksisitas secara komperhensif meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

2.4 Hewan Uji Tikus (*Ratus norvegicus*)

Tikus memiliki imunitas alamiah yang kuat, dibandingkan mamalia lain seperti ikan paus dan hamster yang memiliki sedikit polimorfisma MHC. Sistem imunitas tikus dan sistem imunitas manusia ada kesamaan sehingga tikus transgenic sering digunakan dalam penelitian (Baratawidjaja, 2010).

Klasifikasi Tikus putih galur Wistar berdasarkan (Malole, 1989) adalah ;

Dunia : Animalia
Filum : Chordata
Sub Filum : Vertebrata
Class : Mammalia
Sub class : Theria
Ordo : Rodentia
Sub ordo : Myomorpha
Famili : Muridae
Sub famili : Murinae
Genus : Rattus
Species : *Rattus norvegicus*

Data biologi dari *Rattus norvegicus* Galur Wistar adalah: (Smith dan Mangkoewidjojo, 1987)

Masa hidup : 2-3 tahun, beberap mencapai 4 tahun
Economic production : 1 tahun
Gestation : 20-22 hari
Usia disapih : 21 hari
Usia dewasa : 40-60 hari
Usia masa kawin : 10 minggu (jantan dan betina)
Siklus seksual : polyestrus
Siklus estrus : 4-5 hari
Lama estrus : 9-20 jam
Waktu kawin : saat estrus
Ovulasi spontan : 8-11 jam setelah mulai estrus,
Fertilisasi (segmentasi ovum membentuk blastocoele): 7-10 jam setelah kawin
Implantasi : 5-6 hari setelah fertilisasi
Berat dewasa : 300-400 gram jantan, 250-300 gram betina
Berat baru lahir : 5-6 gram
Number born : rata-rata 9, mungkin sampai 20

Suhu rectal	: 36-39 ⁰ C (rata-rata 37)
Kecepatan respirasi	: 65-115/ menit, turun hingga 50 ketika diberi anastesi, naik hingga 150 ketika stress
Denyut jantung	: 330-480/menit, turun hingga 250 ketika diberi anastesi, naik hingga 550 ketika stress
Tekanan darah	: 90-180 sistol; 60-145 diastole. Ketika anastesi 80 sistole dan 55 diastole
Konsumsi oksigen	: 1,29 – 2,68 ml/g/jam
Volume darah	: 57-70 ml/kg
Sel darah merah	: 7.2 – 9.6 x 10 ⁶ / mm ³
Sel darah putih	: 5.0 – 13.0 x 10 ³ / mm ³
Neutrofil	: 9-34%
Limfosit	: 65 – 84%
Monosit	: 0-5%
Eosinophil	: 0 – 6%
PCV	: 45-47%
Trombosit	: 150-460 x 10 ³ / mm ³
Hb	: 15-16 g/100ml
ALT (SGPT)	: 17.5 – 30.2 I.U./ liter
AST (SGOT)	: 45.7 – 80.8 IU/ liter
Kolesterol serum	: 10-54 mg/ 100 ml
Plasma protein	: 4.7 -8.2 g/ 100 ml
Volume urin	: 40 – 60 ml/kg/ hari
Susu (komposisi)	: air 73%, lemak 14-16%, protein 9-10%, karbohidrat 2-3%
Perkawinan	: 3 betina dan 1 jantas
Kecepatan pertumbuhan	: 2.5 g / hari
Imunitas pasif	: terutama melalui salauran cerna (usus) dan juga melalui kelenjar telur (yolk sac).

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Rancangan dan Etik Penelitian

Jenis penelitian adalah *True experiment*
Rancangan Penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap.
Etik penelitian nomor 422/KEPK-PTKMKS/V/2019.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi pengambilan bahan uji di Makassar Sulawesi Selatan dan Kupang Nusa Tenggara Timur.

Standarisasi ekstrak dan pengujian antioksidan dilaksanakan di Laboratorium Biofarmasi dan Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.

Pemeliharaan hewan uji dan pengujian dilaksanakan di Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Jawa Timur

Pengujian toksisitas dan potensi hepatoprotektor terhadap hewan uji dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Anatomi Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan Rumah Sakit Umum Soetomo Surabaya

Waktu penelitian tahun 2019.

3.3 Bahan Uji dan Sampel Uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak daun miana, obat anti tuberkulosis dan Natrium CMC sebagai placebo

Sampel uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar

3.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan 6 tahap yaitu;

- Tahap 1. Penyiapan tanaman miana di Makassar Sulawesi Selatan dan di Kupang Nusa Tenggara Timur
- Tahap 2 Standarisasi ekstrak daun miana
- Tahap 3 Pengujian antioksidan ekstrak daun miana
- Tahap 4. Pengujian toksisitas subkronik ekstrak daun miana terhadap ginjal tikus putih
- Tahap 5. Pengujian potensi hepatoprotektor ekstrak daun miana terhadap tikus putih yang diinduksi obat anti tuberkulosis
- Tahap 6 pengujian potensi maintenance kesehatan dari ekstrak daun miana terhadap tikus yang diinduksi obat anti tuberkulosis

3.4.1 Tahap 1 Penyiapan tanaman miana

Penyiapan tanaman miana di Makassar Sulawesi Selatan dan di Kupang Nusa Tenggara Timur. Pemeliharaan tanaman dilakukan dengan menanam miana secara khusus pada suatu lokasi selama 3-4 bulan. Lokasi penanaman miana untuk Makassar dilakukan di Tanjung Bunga Kelurahan Tanjung Merdeka Kecamatan Tamalate Kota Makassar. Lokasi penanaman miana untuk Kupang dilakukan di Kelurahan Baumata Kecamatan Taebenu Kabupaten Kupang. Tanaman dipanen ketika tanaman telah berbunga.

3.4.2 Tahap 2 Standarisasi ekstrak

Prosedur pembuatan ekstrak

Tanaman miana yang telah siap panen (telah berbunga) diambil daunnya secara terpilih (daun segar dari tiap batang sampai ke lembar daun ke 3 dari pucuk). Daun miana disortasi basah kemudian dikeringkan. Daun kering (simplisia kering) dipotong-potong menjadi ukuran kecil kemudian ditimbang. Simplisia sebanyak 2 kg diekstraksi dengan metode maserasi

dalam bejana maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengadukan dilakukan secara konstan menggunakan shaker. Secara berkala dilakukan penggantian pelarut. Ekstrak cair dipekatkan dengan menguapkan pelarutnya menggunakan evaporator, hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat dikeringkan dengan bantuan waterbath dan eksikator. Ekstrak kering selanjutnya distandarisasi (Kemenkes Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak, 2013). Ekstrak terdiri dari 2 jenis simplisia yaitu daun miana dari Makassar dan daun miana dari Kupang.

Prosedur standarisasi ekstrak

Penetapan standarisasi ekstrak dilakukan dengan menguji semua parameter spesifik dan non spesifik;

Parameter spesifik meliputi: penetapan organoleptik ekstrak dan penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, yaitu; (Depkes Materia Medika VI, 1995 dan Depkes Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional, 2000)

Parameter Non Spesifik meliputi penetapan kadar air, kadar abu, bobot jenis, angka lempeng total bakteri dan kapang/khamir, (Depkes Materia Medika VI, 1995)

3.4.2 Tahap 3 Pengujian antioksidan

Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidra-zil*). Pengujian DPPH sesuai prosedur berikut:

Tambahkan 2 ml larutan DPPH kedalam 100 μ L sample dalam tube. Lalu tambahkan 2 ml methanol kedalam 100 μ L sampel (sampel blank) dalam tube. Tambahkan 2 ml larutan DPPH solution kedalam 100 μ L methanol (kontrol) dalam tube. Setelah itu divortex selama 5 detik dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan dan simpan ditempat gelap. Setelah diinkubasi, ukur panjang gelombang pada 517 nm. Hasilnya dihitung sebagai % scavenging dengan rumus: % Scavenging =

OD kontrol-(OD sampel-OD sampel blank) x 100 OD control (Blois, 1958 dalam Iriani dkk, 2017).

3.4.3 Pengujian toksisitas subkronik terhadap ginjal

Tikus putih dikelompokkan dalam 5 kelompok dengan jumlah tikus 7 ekor setiap kelompok perlakuan. Setiap hari tikus diberi makan dan minum ad libitum. Setiap hari tikus mendapat perlakuan yang berbeda setiap kelompoknya. KLP K 1 (kelompok hewan kontrol diberi placebo (natrium CMC) secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 2 (kelompok control negative diberikan OAT secara oral satu kali sehari selama 30 hari).

KLP K 3 (kelompok perlakuan 1 diberikan OAT dan EDM dari Makassar secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 4 (kelompok perlakuan 2 diberikan OAT dan EDM dari Kupang secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 5 (kelompok control positif diberikan OAT dan silymarin secara oral satu kali sehari selama 30 hari). OAT yang diberikan adalah obat paket DOTS yaitu gabungan rifampisin, INH dan ethambutol. Pemberian OAT dan EDM atau Silymarin dilakukan berselang 1 jam untuk mencegah interaksi obat). Setelah akhir perlakuan tikus dimatikan kemudian dibedah untuk mengambil specimen untuk pengujian. Specimen untuk pengujian toksisitas subkronik bahan uji terhadap ginjal tikus putih meliputi pengujian kerusakan ginjal seperti gambaran histopatologi ginjal tikus putih. (ginjal tikus diambil dan dibuat specimen berupa preparat pewarnaan HE) di laboratorium patologi anatomi FKUA. Sampel darah diambil dari jantung tikus yang dimatikan untuk pengujian ALT dan total bilirubin (sampel darah diukur di laboratorium RS Soetomo Surabaya).

3.4.4 Pengujian potensi hepatoprotektor

Tikus putih dikelompokkan dalam 5 kelompok dengan jumlah tikus 7 ekor setiap kelompok perlakuan. Setiap hari tikus

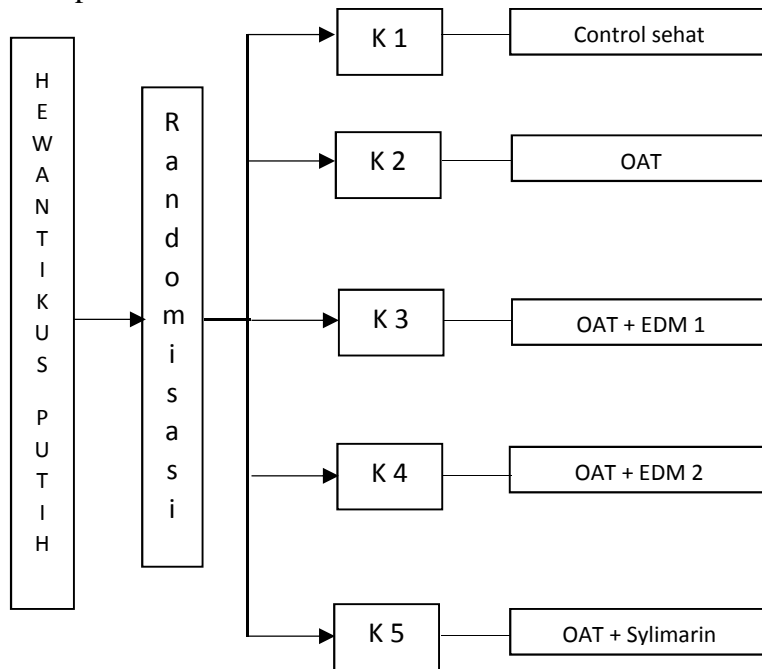
diberi makan dan minum ad libitum. Setiap hari tikus mendapat perlakuan yang berbeda setiap kelompoknya. KLP K 1 (kelompok hewan kontrol diberi placebo (natrium CMC) secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 2 (kelompok control negative diberikan OAT secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 3 (kelompok perlakuan 1 diberikan OAT dan EDM dari Makassar secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 4 (kelompok perlakuan 2 diberikan OAT dan EDM dari Kupang secara oral satu kali sehari selama 30 hari). KLP K 5 (kelompok control positif diberikan OAT dan silymarin secara oral satu kali sehari selama 30 hari). OAT yang diberikan adalah obat paket DOTS yaitu gabungan rifampisin, INH dan ethambutol. Pemberian OAT dan EDM atau Silymarin dilakukan berselang 1 jam untuk mencegah interaksi obat). Setelah akhir perlakuan tikus dimatikan kemudian dibedah untuk mengambil specimen untuk pengujian. Pengujian hepatoprotektor ekstrak daun miana terhadap tikus putih yang diinduksi obat anti tuberkulosis meliputi pengujian SGOT, SGPT dari sampel darah tikus sebanyak 3 ml (sampel darah diukur di laboratorium RS Soetomo Surabaya). Gambaran histologi hati tikus putih hati tikus diambil dan dibuat specimen sebagai preparat pewarnaan HE) di laboratorium patologi anatomi FKUA.

3.4.5 Pengujian potensi maintenance kesehatan

Pengujian potensi maintenance kesehatan dari ekstrak daun miana terhadap tikus yang diinduksi obat anti tuberkulosis meliputi penimbangan berat badan tikus secara berkala 2 x seminggu dan pengujian darah lengkap (Hb, leukosit, basophil, neutrofil, dll). Pengujian darah lengkap diambil darah setelah perlakuan 30 hari. (sampel darah diukur di laboratorium RS Soetomo Surabaya).

3.5 Sampel

Sampel adalah hewan uji tikus putih (*R. norvegicus*) galur Wistar yang diperoleh dari unit hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Kriteria hewan uji yang digunakan adalah jantan, sehat, berumur 2-3 bulan, berat badan 150-200 g. Jumlah kelompok dalam penelitian ini adalah 5 kelompok.



Gambar 3.1 Pembagian kelompok hewan uji

Keterangan gambar

KLP K 1 = kelompok hewan kontrol yaitu tikus putih yang diberi perlakuan placebo (natrium CMC) secara oral satu kali sehari selama 30 hari.

KLP K 2 = kelompok control negative yaitu tikus putih yang diberi OAT secara oral satu kali sehari selama 30 hari

- KLP K 3 = kelompok perlakuan 1 yaitu tikus putih yang diberi OAT dan EDM 1 (dari Makassar) secara oral satu kali sehari selama 30 hari
- KLP K 4 = kelompok perlakuan 2 yaitu tikus putih yang diberi OAT dan EDM 2 (dari Kupang) secara oral satu kali sehari selama 30 hari
- KLP K 5 = kelompok control positif yaitu tikus putih yang diberi OAT dan silymarin secara oral satu kali sehari selama 30 hari

Jumlah replikasi hewan uji berkelompok ditentukan berdasarkan rumus (Lemeshow, 1997).

$$r \geq \frac{2\sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{d^2}$$

keterangan ;

- $Z_{(1-\alpha/2)}$ = nilai distribusi normal baku dari tabel Z pada alfa tertentu ($\alpha = 0,05$) maka nilai $Z_{(0,975)} = 1,96$
- $Z_{(1-\beta)}$ = nilai distribusi normal baku dari tabel Z pada alfa tertentu ($\beta = 0,10$) maka nilai $Z_{(0,9)} = 1,24$
- d = nilai selisih rerata antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol = 11
- σ = simpangan baku = 6,3
- r = replikasi
- f = faktor koreksi 10%

Maka diperoleh replikasi sampel adalah 6,7 atau 7, selanjutnya faktor koreksi 10% maka jumlah replikasi adalah 8 ekor setiap kelompok .

Teknik randomisasi yang digunakan adalah membagi secara acak setiap sampel ke dalam masing-masing kelompok hingga sampel habis terbagi.

3.6 Pengumpulan Data dan Analisis Data

Semua data dari setiap parameter dikumpulkan dan ditabulasi sesuai parameter masing-masing. Analisis data dilakukan dengan one way anova atau Kruskal Wallis

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil penyiapan tanaman miana dan proses ekstraksi daun miana

Penyiapan tanaman miana dilakukan dengan cara budidaya. Bibit tanaman miana diperoleh dari Kabupaten Tana Toraja Sulawesi Selatan dan dikembang biakkan di Kota Makassar Sulawesi Selatan. Bibit tanaman miana di Kupang Nusa Tenggara Timur, berasal dari Dinas Pertanian Provinsi NTT dan dikembangbiakkan dalam wadah polybag di wilayah Kota Kupang.

Tabel 4.1 Hasil rendemen simplisia daun miana

Simplisia daun miana yang berasal dari Makassar dan Kupang diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan diperoleh rendemen seperti tertera dalam tabel 4.1

Sumber daun miana	Berat daun basah	Berat daun kering	Berat simplisia	Ekstrak hasil ekstraksi	Rendemen ekstrak
Makassar	2.415 g	375 g	370 g	54.82 g	14.82%
Kupang	-	250 g	250 g	47.31 g	18.92%

4.2 Hasil standarisasi ekstrak daun miana

Penetapan standarisasi ekstrak daun miana berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik, dengan hasil sesuai tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Standarisasi Ekstrak Daun Miana

No.	Standarisasi	Hasil Pengamatan
1	Organoleptic	Warna Coklat Tua Bau khas

		Rasa sepat Bentuk kental
2	Kadar senyawa terlarut pada pelarut air	71,36 %
	Kadar senyawa terlarut pada pelarut etanol	19,69 %
	Kadar abu total	10,53 %
	Kadar abu tidak larut asam	1,23 %
	Kadar air ekstrak	11,5 %
	Susut pengeringan	33,23%
	Bobot jenis	0,9075
	Identifikasi alkaloid	Positif
	Identifikasi flavonoid	Positif
	Identifikasi saponin	Positif
	Identifikasi steroid	Positif
	Identifikasi tannin	Positif
	Identifikasi triterpenoid	Positif
	Polifenol, menggunakan baku standar asam gallat	20.35mg/g EDM
	Flavonoid, menggunakan baku standar kuersetin	7.35mg/g EDM

Tabel 4.2 menunjukkan hasil pengamatan parameter non spesifik (organoleptik, penetapan kadar, penetapan susut pengeringan, bobot jenis dan cemaran mikroorganisma) dan parameter spesifik (skrining fitokimia, kadar zat aktif, aktivitas antioksidan, anatomi daun miana).

4.3 Hasil pengujian antioksidan ekstrak daun miana

Pengujian aktivitas antioksidan dari EDM dilakukan dengan metode DPPH dengan hasil sesuai tabel 4.3 berikut;

Tabel 4.3 Hasil pengujian antioksidan

No.	Nama bahan uji	Potensi anti oksidan	keterangan
1.	Vitamin C	14.32 ppm	Pembanding
2.	Ekstrak Miana Makassar	122.71 ppm	Bahan uji
3.	Ekstrak Miana Kupang	373.4 ppm	Bahan uji

4.4 Hasil pengujian jumlah SGOT hewan uji tikus putih setelah perlakuan diinduksi obat anti tuberkulosis

Pengamatan jumlah SGOT dari darah hewan uji dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer*. Hasil *Tests of Normality* menunjukkan normalitas data dari 5 kelompok perlakuan terhadap variabel SGOT (lampiran 2), bervariasi dengan nilai sig. 0.042 – 0.620. Hal ini berarti ada data yang tidak normal. Homogenitas data menunjukkan nilai sig. 0.975 > 0.05. , maka pengolahan data menggunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk menentukan perbedaan antar kelompok. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan ada perbedaan data kelompok perlakuan terhadap variabel SGOT dengan nilai sig. 0.001<0.05 (lampiran 2). Hal ini berarti semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan jumlah SGOT, sehingga pengujian dilanjutkan menggunakan uji Mann Whitney dengan hasil sesuai tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Beda Antar Perlakuan Berdasarkan Uji Mann-Whitney terhadap Variabel Jumlah SGOT

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah SGOT (U/L)				
		Mean	SD	Median	Min	Maks
K1	7	118.28	10.4	118 ^a	107	134

K2	7	144.4	13.23	146	125	160
K3	7	115	14.83 2	116 ^{a,b}	99	144
K4	5	112	14.90 9	105 ^{a,b, c}	102	138
K5	5	98	10.22	102 ^{b,c}	84	109

Keterangan :

^{abc} superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (berdasarkan uji Mann-Whitney)

Tabel 4.4 menunjukkan 5 dari 10 data antar perlakuan tidak berbeda pada variabel SGOT dengan nilai sig. $0.051 - 0.337 > 0.05$. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah SGOT antara perlakuan K1-K3; K1-K4; K3-K4; K3-K5; K4-K5.

4.5 Hasil pengujian jumlah SGPT hewan uji tikus putih setelah diinduksi obat anti tuberkulosis

Pengamatan jumlah SGPT dari darah hewan uji dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer*. Hasil *Tests of Normality* menunjukkan normalitas data dari 5 kelompok perlakuan terhadap variabel SGPT (lampiran 2), bervariasi dengan nilai sig. $0.335 - 0.700 > 0.05$. Hal ini berarti data yang normal namun tidak homogen karena homogenitas data menunjukkan nilai sig. $0.029 > 0.05$, maka pengolahan data menggunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk menentukan perbedaan antar kelompok. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan ada perbedaan data kelompok perlakuan terhadap variabel SGPT dengan nilai sig. $0.000 < 0.05$ (lampiran 2). Hal ini berarti semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan jumlah SGPT, sehingga pengujian dilanjutkan menggunakan uji Mann Whitney dengan hasil sesuai tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Uji Beda Antar Perlakuan Berdasarkan Uji Mann-Whitney terhadap Variabel Jumlah SGPT

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah SGPT (U/L)				
		Mean	SD	Median	Min	Maks
K1	7	22.85	6.66	22	15	31
K2	7	52.14	3.43	52	46	57
K3	7	32.42	2.507	32	28	35
K4	5	42.8	3.27	42 ^a	38	48
K5	5	42.8	4.08	41 ^a	39	48

Keterangan :

^a superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (berdasarkan uji Mann-Whitney)

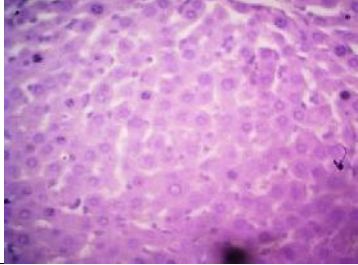
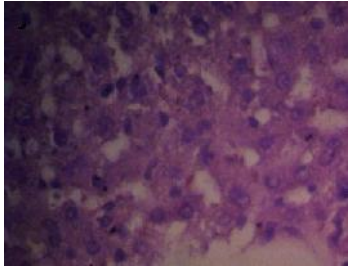
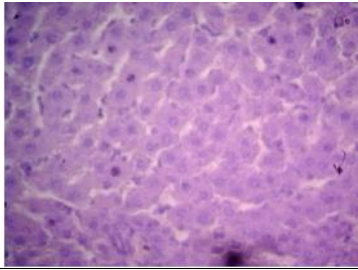
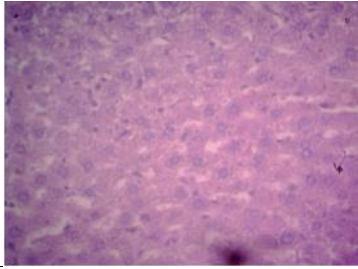
Tabel 4.5 menunjukkan 1 dari 10 data antar perlakuan tidak berbeda pada variabel SGOT dengan nilai sig. $0.673 > 0.05$. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah SGOT antara perlakuan K4-K5.

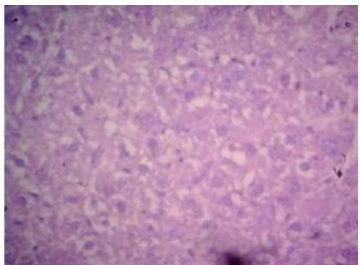
4.6 Hasil pengujian histopatologi hati hewan uji tikus putih setelah diinduksi obat anti tuberkulosis

Hati hewan uji tikus putih dipreparasi hingga dibuat preparat histopatologi. Selanjutnya dilakukan pewarnaan hematosiklin eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop dengan hasil sesuai tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil analisis histopatologi hati tikus setelah pemberian bahan uji dan induksi obat antituberkulosis

SAMPEL HATI	VENA CENTRALIS	PORTAL TRIAD	NEKROSIS
Kelompok 1			
A1H	Tampak	Infiltrasi	Tidak

	kongesti	lymphosit membentuk briging dan perdarahan	terjadi nekrosis
Kelompok 2			
B2H 	Tampak kongesti dan hialinisasi	Infiltrasi lymphosit, perdarahan dan hialinisasi	Terjadi nekrosis piknotis, karioreksis, kariolisis
Kelompok 3			
C3 	Tampak beberapa kongesti	Infiltrasi lymphosit dan beberapa perdarahan	Tidak terjadi nekrosis
Kelompok 4			
D2 	Tampak beberapa kongesti	Infiltrasi lymphosit membentuk briging	Tidak terjadi nekrosis
Kelompok 5			

E3		Tampak beberapa kongesti	Beberapa infiltrasi lymphosit dan peradrahan	Tidak terjadi nekrosis

Ket. Pembacaan hasil histopatologi hati dilakukan oleh tim laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

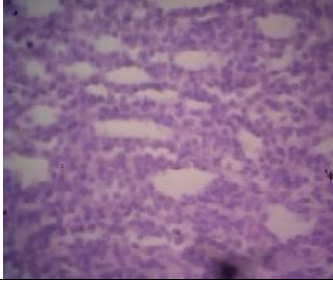
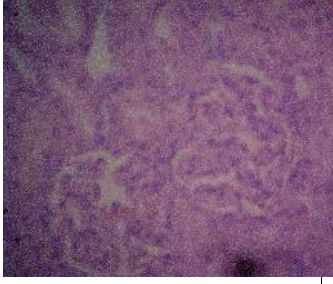
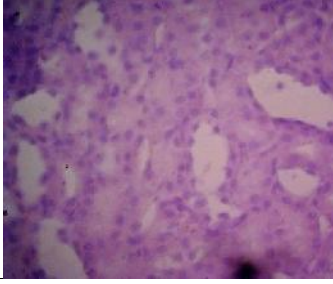
Hasil pengamatan mikroskopik dari slide histopatologi hati selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1

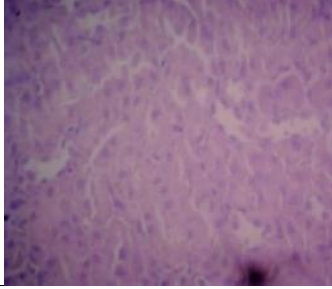
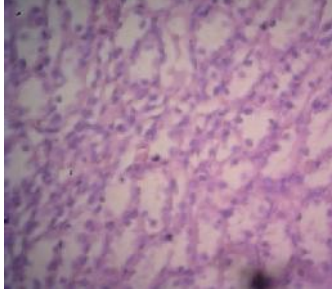
1.7 Hasil pengujian histopatologi ginjal hewan uji tikus putih setelah diinduksi obat anti tuberkulosis

Ginjal hewan uji tikus putih dipreparasi hingga dibuat preparat histopatologi. Selanjutnya dilakukan pewarnaan hematosiklin eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop dengan hasil sesuai tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil analisis histopatologi ginjal tikus setelah pemberian bahan uji dan induksi obat antituberkulosis

SAMPel GINJAL	GLOMERULUS	TUBULUS	INTERSISIAL
Kelompok 1			
K1	Tidak tampak perubahan	Tampak sel2 lymphosit	Tampak sel2 lymphosit, area perdarahan

			
Kelompok 2			
K2 	Tampak sel2 lymphosit	Tampak sel2 lymphos it Dan beberapa sel membes ar dan kongesti	Tampak sel2 lymphosit
Kelompok 3			
K3 	Tidak tampak perubahan	Tampak penuh infiltrasi sel2 lymphos it	Tampak sel2 lymphosit
Kelompok 4			
K4	Tidak tampak perubahan	Tampak sel2 lymphos it	Tampak sel2 lymphosit dan area

			perdarahan
Kelompok 5			
K5 	Tampak sel2 lymphosit	Tampak sel2 lymphosit Tampak kongesti dan sel2 epitel membesar	Tidak tampak perubahan

Ket. Pembacaan hasil histopatologi hati dilakukan oleh tim laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Hasil pengamatan mikroskopik dari slide histopatologi hati selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1

1.8 Hasil pengujian bilirubin total hewan uji tikus putih setelah diinduksi obat anti tuberkulosis

Pengamatan jumlah bilirubin total dari darah hewan uji dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer*. Hasil *Tests of Normality* menunjukkan normalitas data dari 5 kelompok perlakuan terhadap variabel bilirubin (lampiran 1) menunjukkan nilai sig. $0.023 - 0.772 > 0.05$. Homogenitas data menunjukkan nilai sig. $0.1 > 0.05$. Hal ini menunjukkan bahwa data homogen namun ada yang berdistribusi tidak normal, maka pengolahan data berdasarkan uji non parametrik Kruskal-Wallis.

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan data kelompok perlakuan terhadap variabel bilirubin total dengan nilai sig. $0.376 > 0.05$ (lampiran 7). Hal ini berarti semua kelompok perlakuan menghasilkan jumlah bilirubin yang tidak berbeda nyata.

Tabel 4.8 Hasil Uji Beda Antar Perlakuan Berdasarkan Uji LSD terhadap Variabel Jumlah Bilirubin Total

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah Bilirubin Total (mg/dL)				
		Mean	SD	Median	Min	Maks
1	7	0.056	0.019	0.06 ^a	0.03	0.08
2	7	0.081	0.027	0.07 ^{a,b}	0.05	0.13
3	7	0.071	0.017	0.07 ^{a,b,c}	0.04	0.09
4	5	0.076	0.020	0.08 ^{a,b,c,d}	0.04	0.09
5	5	0.07	0.038	0.06 ^{a,b,c,d}	0.03	0.12

Keterangan :

^a superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (berdasarkan uji LSD)

1.9 Hasil pengujian kreatinin hewan uji tikus putih setelah diinduksi obat anti tuberkulosis

Pengamatan jumlah kreatinin dari darah hewan uji dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer*. Hasil *Tests of Normality* menunjukkan normalitas data dari 5 kelompok perlakuan terhadap variabel kreatinin (lampiran 2), bervariasi dengan nilai sig. $0.00 - 0.538$. Hal ini berarti ada data yang tidak normal ($0.000 < 0.05$). Homogenitas data menunjukkan nilai sig. $0.212 > 0.05$, maka pengolahan data menggunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk menentukan perbedaan antar kelompok.

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan ada perbedaan data kelompok perlakuan terhadap variabel kreatinin dengan nilai sig.

0.021<0.05 (lampiran 2). Hal ini berarti semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan jumlah kreatinin, sehingga pengujian dilanjutkan menggunakan uji Mann Whitney dengan hasil sesuai tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil Uji Beda Antar Perlakuan Berdasarkan Uji Mann-Whitney terhadap Variabel Jumlah kreatinin

Kelompok Perlakuan	n	Jumlah kreatinin (mg/dL)				
		Mean	SD	Median	Min	Maks
K1	7	0.457	0.199	0.51 ^a	0.01	0.57
K2	7	0.571	0.068	0.53 ^a	0.49	0.68
K3	7	0.507	0.065	0.52 ^{a,b}	0.42	0.59
K4	5	0.468	0.054	0.5 ^{a,b,c}	0.38	0.51
K5	5	0.434	0.056	0.45 ^{a,b,c}	0.34	0.49

Keterangan :

^{abc} superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (berdasarkan uji Mann-Whitney)

Tabel 4.9 menunjukkan 8 dari 10 data antar perlakuan tidak berbeda pada variabel kreatinin dengan nilai sig. 0.051 – 0.949 > 0.05. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah SGOT antara perlakuan K1-K2; K1-K3;K1-K4; K1-K5; K2-K3; K3-K4; K3-K5; K4-K5.

4.10 Hasil pemeriksaan darah lengkap dari ekstrak daun miana terhadap tikus yang diinduksi obat anti tuberkulosis

Pengujian potensi ekstrak daun miana sebagai komplementer dengan parameter pemeriksaan darah rutin (jumlah sel darah putih, limfosit, sel darah merah dan hemoglobin). Hasil pemeriksaan sesuai tabel 4.10

Tabel 4.10 Hasil pemeriksaan darah tikus

Sampel	Jumlah rata-rata sel darah putih ($10^3/uL$)	Jumlah rata-rata limfosit terhadap sel darah putih (%)	Jumlah rata-rata hemoglobin (g/L)	Jumlah rata-rata sel darah merah ($10^6/uL$)
K1	15.68	82.7	13.99	8.26
K2	15.68	86.03	13.99	8.26
K3	20.62	82.57	13.36	8.06
K4	18.47	80.68	12.62	7.66
K5	19.47	83.76	13.48	8.07
sig.	0.280 ns	0.862 ns	0.077 ns	0.315 ns

Tabel 4.10 menunjukkan bahwa pemberian bahan uji memberikan hasil pengujian (jumlah sel darah putih, limfosit, sel darah merah dan hemoglobin) masing-masing tidak berbeda nyata.

4.11 Hasil pengujian potensi maintenance kesehatan dari ekstrak daun miana terhadap tikus yang diinduksi obat anti tuberkulosis

Potensi ekstrak daun miana sebagai maintenance kesehatan dengan parameter penimbangan berat badan tikus secara berkala seminggu sekali selama pemberian bahan uji. Hasil penimbangan berat badan tikus sesuai pada tabel 4.11 berikut:

Tabel 4.11 Hasil rata-rata penimbangan tikus selama perlakuan

Sampel	Kenaikan BB (gram)	Persentase kenaikan BB (%)
K1	24.85	19.57

K2	43.43	34.50
K3	29.14	23.21
K4	32.20	24.07
K5	19.40	15.45
Anova sig.		0.076 ns

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus putih galur Wistar untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun miana sebagai hepatoprotektor dalam mencegah kerusakan hati akibat induksi obat anti tuberkulosis. Tujuan penelitian ini adalah mencegah efek samping yang paling sering dialami penderita yaitu hepatotoksik. Gejala terjadinya hepatotoksik pada penderita yang mendapat pengobatan tuberkulosis didasarkan pada peningkatan serum alanine aminotransaminase baik jumlah ALT/SGPT dan AST/SGOT yang muncul setelah pemberian obat anti tuberkulosis seperti rifampisin. Peningkatan dapat mencapai tiga hingga lima kali dari nilai normal yang disertai dengan gejala hepatitis (Bihar, 2015).

Tikus dibagi dalam 5 kelompok dengan perlakuan yang berbeda-beda. Kelompok 1 (tikus control tanpa induksi dan tanpa bahan uji); kelompok 2 (tikus yang diinduksi OAT dan diberikan placebo); kelompok 3 (tikus yang diinduksi OAT dan diberikan ekstrak daun miana Makassar/Miana Mks); kelompok 4 (tikus yang diinduksi OAT dan diberikan ekstrak daun miana Makassar/Miana Kpg); kelompok 5 (tikus yang diinduksi OAT dan diberikan silymarin). Potensi hepatoprotektor fungsi hati akibat induksi OAT rifampisin dari bahan uji EDM Mks, EDM Kpg dan silymarin dianalisis berdasarkan parameter jumlah enzim *aspartate transaminase* (AST) atau yang dikenal sebagai serum *glutamate oxaloacetate transferase* (SGOT); enzim *alanin transaminase* (ALT) atau nama lama *serum glutamate pyruvate transferase* (SGPT); bilirubin total; kreatinin dan darh lengkap. Semua analisis dilakukan terhadap darah hewan uji setelah diinduksi OAT dan diberikan perlakuan selama 30 hari.

Beberapa parameter penelitian hepatotoksik yang diuji setelah pemberian obat anti tuberkulosis berdasarkan hasil pemeriksaan fungsi hati yaitu : Peningkatan nilai normal dari serum aspartate aminotransferase (AST) dan/atau alanine aminotransferase (ALT); Peningkatan total bilirubin serum dan adanya perbaikan fungsi hati setelah menghentikan obat anti tuberkulosis (Bihar, 2015). Parameter yang diuji dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian yang menguji pengamatan fungsi ginjal meliputi kreatinin dan BUN, sedangkan fungsi hati meliputi SGOT, SGPT, HDL, LDL, kolesterol total, protein total, albumin, dan trigliserida (Hendriani, 2007).

1. Hasil analisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah AST/ SGOT tikus putih yang terinduksi OAT rifampisin

Analisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap serum *glutamate oxaloacetate transferase* (SGOT) yang dihitung setelah pemberian ekstrak daun miana dan induksi rifampisin. Hasil menunjukkan bahwa dalam darah tikus putih yang telah diinduksi rifampisin mengalami peningkatan SGOT dibandingkan dengan kelompok control. Sedangkan pemberian bahan uji ekstrak daun miana Makassar (EDM Mks), ekstrak daun miana Kupang (EDM Kpg) dan silymarin tidak mengalami peningkatan jumlah SGOT. Berdasarkan analisis menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah SGOT pada tikus kelompok 2 akibat induksi obat anti tuberkulosis rifampisin sebesar 26,12 U/L atau 22% dibandingkan dengan kelompok 1 (control sehat). Pemberian bahan uji EDM Mks, EDM Kpg dan silymarin memberikan pengaruh penurunan jumlah SGOT setelah diinduksi OAT dibandingkan dengan kelompok 2 (OAT-Placebo) masing-masing sebesar 25% (29.4 U/L); 27% (6,28 U/L) dan 39% (20 U/L).

Analisis Mann Whitney menunjukkan bahwa pemberian EDM Mks dan EDM Kpg dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor dalam mencegah kerusakan hati berdasarkan

parameter jumlah SGOT karena tidak berbeda nyata dengan kelompok control (kelompok 1). Hal ini dibuktikan dengan penurunan jumlah SGOT dibandingkan kelompok 2 (tikus yang diinduksi OAT rifampisin dan diberikan placebo). Sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian herbal daun miana berpotensi mencegah kerusakan hati akibat pemberian OAT rifampisin dengan mempertahankan jumlah SGOT sesuai dengan jumlah SGOT pada tikus normal. Penelitian ini sejalan dengan Ahsan et al (2009) yang menguji aktivitas hepatoprotektor dari beberapa herbal dalam mencegah kerusakan hati yang terbukti menurunkan jumlah SGOT darah tikus yang mengalami kenaikan jumlah SGOT setelah diinduksi CCl₄. Kerusakan hati akibat pemberian OAT juga ditemukan oleh pada pasien ibu dan anak dirawat di Rumah Sakit akibat tuberkulosis. Peningkatan tertinggi dalam aktivitas enzim pada ibu tercatat dua minggu sejak lembaga terapi yaitu: aspartat aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT), alkali fosfatase (ALP), gamma glutamyltransferase (GGT), laktat dehidrogenase (LD) dan bilirubin. adalah 34 kali lipat. Pada anak, peningkatan aktivitas enzim tertinggi terjadi selama minggu pertama sejak penerapan terapi; dibandingkan dengan nilai rentang referensi atas, AST, ALT, GGT dan LD. Peningkatan pada AST adalah 28,1. Disimpulkan bahwa aktivitas peningkatan ini menunjukkan adanya kemungkinan kecenderungan untuk hepatotoksitas berat. (Dodig, 2008)

2. Hasil analisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah ALT/ SGPT tikus putih yang terinduksi OAT rifampisin

Analisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah enzim *alanin transaminase* (ALT) yang dikenal sebagai *serum glutamate pyruvate transferase* (SGPT) dihitung setelah pemberian ekstrak daun miana dan induksi rifampisin. Hasil pengujian darah tikus putih yang telah diinduksi rifampisin menunjukkan bahwa terjadi peningkatan SGPT dibandingkan dengan kelompok control. Namun ternyata hasil pemberian bahan

uji ekstrak daun miana Makassar (EDM Mks), ekstrak daun miana Kupang (EDM Kpg) dan silymarin tidak menyebabkan peningkatan jumlah SGPT justru terjadi sebaliknya yaitu penurunan SGPT. Analisis menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah SGPT pada tikus kelompok 2 akibat induksi obat anti tuberkulosis rifampisin sebesar 29,29 U/L atau 128% dibandingkan kelompok 1 (control sehat). Pemberian bahan uji EDM Mks, EDM Kpg dan silymarin ternyata menurunkan jumlah SGPT setelah diinduksi OAT dibandingkan dengan kelompok 2 (OAT-Placebo) masing-masing sebesar 86% (19,72 U/L); 41% (9,34 U/L) dan 41% (9,34 U/L).

Berdasarkan analisis Mann Whitney menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata antara pemberian 3 jenis bahan uji dengan kelompok 2 (OAT-Placebo) dan terhadap kelompok 1 (control). Pemberian EDM Mks dan EDM Kpg dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor dalam mencegah kerusakan hati akibat induksi OAT berdasarkan parameter jumlah SGPT. Dalam pengujian ini hasil terbaik ditunjukkan oleh kelompok 3 (EDM Mks) karena memberikan penurunan SGPT yang terbesar dan signifikan dengan perlakuan lainnya. Namun pemberian EDM Kpg dan silymarin memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Hasil ini membuktikan potensi dari bahan uji EDM sebagai hepatoprotektor dan selayaknya diberikan sebagai komplemen pada pengobatan tuberkulosis. Sehingga pengobatan tuberkulosis tidak perlu dihentikan akibat kejadian DILI atau efek samping obat. Menurut Saha et al. (2013) Pengobatan tuberkulosis harus dihentikan atau pengobatan dimodifikasi atau pemberian alternatif komplemen pengobatan kepada mereka dengan peningkatan ALT lebih dari tiga kali batas atas normal. Sejalan dengan hal tersebut Saukkonen (2006) menganjurkan selama pengobatan infeksi TB laten harus dilakukan pemantauan alanine aminotransferase (ALT) terutama kepada penderita yang secara kronis mengonsumsi alkohol, minum obat hepatotoksik bersamaan, memiliki hepatitis virus atau penyakit hati lain yang sudah ada sebelumnya atau ALT awal yang tidak normal. Hal ini disebabkan karena berdasarkan penelitian Mahmood et al. (2007)

dinyatakan bahwa sebagian besar pasien (61%) mengalami hepatotoksisitas dalam dua minggu setelah memulai terapi antituberkulosis dengan perubahan ringan hingga sedang pada ALT dan AST. Risiko terjadinya hepatotoksisitas imbas obat antituberkulosis semakin tinggi pada penderita dengan riwayat HIV/AIDS sebesar 7.5 kali (Luthariana et al (2017), sehingga penggunaan obat hepatoprotektor sangat dibutuhkan.

3. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap gambaran histopatologi hati tikus putih

Potensi daun miana sebagai hepatoprotektor penting dilakukan untuk mengetahui fungsi lebih jauh dari daun miana sebagai obat antituberkulosis. Efek samping dari pemberian OAT seperti rifampisin sering berdampak pada kerusakan hati yang terindikasi dengan meningkatnya jumlah SGOT dan SGPT sesuai tabel 4.4 dan tabel 4.5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian OAT dengan placebo (kelompok 2) berdampak pada meningkatnya jumlah SGOT dan SGPT. Demikian pula pada analisis gambaran histopatologi hati tikus nampak kerusakan terjadi pada hati tikus kelompok 2 dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Analisis histopatologi menunjukkan bahwa pada hati tikus kelompok 2 (K2) telah terjadi nekrosis dengan ciri ditemukannya piknotis, karioreksis dan kariolisis. Meskipun secara umum pada semua sampel (semua kelompok perlakuan terjadi kongesti pada vena centralis namun perbedaan yang Nampak pada kelompok 2 yaitu terjadinya kongesti disertai hialinisasi. Sedangkan pada kelompok control dan perlakuan bahan uji EDM Mks (K3), EDM Kpg (K4) dan Silymarin (K5) hanya ditemukan beberapa kongesti pada pengamatan seluruh lapangan pandang mikroskopik.

Analisis histopatologi pada portal triad menunjukkan terjadinya infiltrasi limfosit dan perdarahan pada seluruh kelompok perlakuan. Namun dalam penelitian kelompok 2 yang mendapat perlakuan induksi OAT dan Placebo ternyata

mengalami hialinisasi pula sedangkan kelompok lainnya tidak terjadi hialinisasi. Sehingga dapat dinyatakan bahwa perlakuan K3 dan K4 (pemberian EDM Mks dan EDM Kpg) berpotensi sebagai hepatoprotektor dalam mencegah kerusakan hati akibat pemberian OAT berdasarkan gambaran kerusakan hati tikus. Meskipun obat herbal seperti daun miana telah terbukti berpotensi sebagai hepatoprotektor dalam pengobatan tuberkulosis namun perlu pula diuji keamanan setiap obat herbal yang akan digunakan. Sebagai diketahui Kayu Kuning yang telah terbukti potensial digunakan sebagai obat herbal namun Rachmawati dan Ulfa (2018) tetap membuktikan keamanan ekstrak kayu kuning berdasarkan toksisitas subkronik terhadap hati dan ginjal tikus dengan parameter SGOT, SGPT, histopatologi hati dan ginjal.

Selain obat anti tuberkulosis, kerusakan hati dapat pula disebabkan oleh obat lain seperti acetaminophen, CCL₄, CdCl₂, DNPH dan TAA. Potensi herbal sebagai hepatotoksik terhadap obat-obatan penyebab kerusakan hati dipengaruhi oleh kandungan antioksidan dengan mekanisme penghambatan enzim sitokrom, meningkatkan persentase viabilitas sel hati, meningkatkan CAT, GSH dan mengurangi ekspresi protein pJNK, tBid dan Bax (Liem dan Levita, 2017).

Dalam penelitian ini potensi antioksidan ekstrak daun miana diuji pula menggunakan metode DPPH. Hasilnya diperoleh potensi antioksidan pada IC₅₀=0.122 mg/ml (miana Makassar) dan 0.373 mg/ml (miana Kupang). Mekanisme antioksidan juga dapat mencegah kerusakan sel hati yang terbukti dengan penelitian Arifuddin et al. (2016) yang menunjukkan vitamin C berpengaruh dalam melindungi hati tikus yang terpapar oleh timbal asetat secara mikroskopis.

4. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih

Hasil penelitian pengaruh pemberian bahan uji terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus diamati berdasarkan toksisitas

yang terjadi pada glomerulus, tubulus dan intersisial. Analisis terhadap glomerulus memperlihatkan sel-sel limfosit yang terjadi pada ginjal tikus yang diberikan induksi OAT-Plc (K2) dan kelompok yang diinduksi OAT-Silymarin (K5). Sel-sel limfosit merupakan sel imun yang akan diproduksi berlebih ketika terjadi gangguan fungsi pada organ. Dalam penelitian ini ginjal tikus yang diinduksi OAT selama 30 hari mengalami toksisitas sehingga membutuhkan sel-sel imun untuk perbaikan fungsi dan dampak toksisitas. Pada glomerulus dapat dinyatakan bahwa K2 mengalami toksisitas ginjal karena ternyata pada K3 dan K4 tidak mengalami perubahan gambaran histopatologi seperti halnya K1 sebagai kelompok control.

Pemeriksaan toksisitas ginjal juga diamati pada tubulus yang memperlihatkan gambaran kerusakan ginjal terutama pada K2 karena selain ditemukan sel-sel limfosit juga ditemukan beberapa sel yang membesar dan mengalami kongesti. Pada penelitian ini ternyata pemberian silymarin juga menunjukkan hasil kerusakan ginjal yang ditandai dengan ditemukannya sel-sel limfosit, kongesti dan sel epitel yang membesar. Parameter kerusakan seperti kongesti dan pembesaran sel ternyata tidak ditemukan pada kelompok perlakuan K3 dan K4, seperti halnya pada kelompok control K1.

Pemeriksaan ginjal tikus pada intersisial ditemukan sel-sel limfosit untuk semua perlakuan bahkan terjadi pendarahan intersisial pada kelompok perlakuan K1 dan K2. Namun demikian kelompok control positif K5 (OAT-Silymarin) tidak tampak perubahan gambaran intersisial ginjal. Berdasarkan parameter kerusakan histopatologi ginjal pada glomerulus, tubulus dan intersisial maka dapat dinyatakan bahwa OAT dapat menyebabkan toksisitas pada ginjal akibat pemberian yang cukup lama (30 hari). Penelitian ini juga menunjukkan bahwa EDM Mks dan EDM Kpg berpotensi mencegah toksisitas ginjal karena memberikan gambaran kerusakan yang berbeda dengan kelompok terinduksi OAT-Plc (K2), bahkan memberikan ciri yang tidak berbeda dengan kelompok control negative (K1). Hasil ini sejalan dengan penelitian Elisma et al. (2011) yang

menyimpulkan keamanan penggunaan daun jati terhadap fungsi hati dan ginjal mencit.

Meskipun ekstrak daun miana telah berpotensi digunakan sebagai komplementer pengobatan tuberkulosis namun gambaran ginjal tikus yang diberikan daun miana tetap harus dilakukan untuk mengetahui toksisitas sub kronik EDM terhadap ginjal setelah penggunaan jangka panjang. Hal ini sesuai dengan kesimpulan penelitian Liem dan Levita (2017) yang menyatakan bahwa walaupun konsumsi ekstrak calyx *H. Sabdariffa* telah aman namun dapat menyebabkan toksisitas akut, subkronik, dan kronis tergantung pada dosisnya.

Ekstrak daun miana yang digunakan terbukti berpotensi sebagai komplementer pengobatan tuberkulosis (Pakadang, 2015) namun karena penggunaannya jangka panjang maka perlu dilakukan uji toksistas terhadap hati dan ginjal. Hal ini sejalan dengan penelitian Intan et al. (2018) yang menemukan bahwa ada pengaruh terjadinya degenerasi hidrofik dan pembesaran glomerulus akibat pemberian ekstrak etanol daun parang romang (*Boehmeria virgata* Linn (Forst) Guill) pada gambaran kerusakan hati dan ginjal dengan derajat kerusakan ringan sampai sedang, terhadap hewan uji tikus putih jantan dan betina (*Rattus novergicus*).

5. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah bilirubin total tikus putih

Analisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah bilirubin total dalam darah tikus dilakukan setelah pemberian ekstrak daun miana dan induksi rifampisin. Hasil pengujian darah tikus putih yang telah diinduksi rifampisin menunjukkan bahwa terjadi peningkatan bilirubin total dibandingkan dengan kelompok control sebesar 0.0257mg/dL (31.57%). Hal ini menyatakan bahwa terjadi perubahan fungsi hati yang menguatkan data peningkatan jumlah SGOT dan SGPT dari kelompok 1 (control sehat) terhadap kelompok 2 (OAT-Plc). Salah satu tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh

pemberian bahan uji terhadap pencegahan kerusakan hati tikus yang diinduksi OAT rifampisin. Hasil analisis menunjukkan bahwa EDM Mks berhasil menurunkan bilirubin total dari tikus yang terinduksi OAT sebesar 0.0143mg/dL (17.56%); EDM Kpg dapat menurunkan bilirubin total sebanyak 0.0054mg/dL (6.63%). Silymarin sebagai control positif dapat menurunkan bilirubin total sejumlah 0.0114mg/dL (14%). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian bahan uji EDM Mks; EDM Kpg dan silymarin berpotensi sebagai hepatoprotektor dalam mencegah kerusakan hati akibat induksi OAT berdasarkan parameter jumlah bilirubin total. Pemberian bahan uji EDM Mks dan silymarin menghasilkan penurunan bilirubin total setelah induksi yang potensial dan menunjang data penurunan SGOT dan SGPT dari tikus terinduksi OAT. Kerusakan fungsi hati dan ginjal diamati pula oleh Panjaitan et al. (2007) yang disebabkan oleh CCl₄ dengan menilai kerusakan fungsi hati berdasarkan peningkatan kadar ALT, AST, alkali fosfatase, bilirubin total dan protein total dalam serum. Hepatoprotektor lain yang telah terbukti seperti penggunaan N-asetilsistein dalam mencegah drug induced liver injury akibat OAT dengan indikator berupa perbaikan viabilitas sel, mencegah kerusakan DNA, dan menurunkan jumlah enzim hati dan bilirubin plasma (Yani dan Singh, 2015).

6. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah kreatinin tikus putih

Pengaruh ekstrak daun miana terhadap jumlah kreatinin dalam serum darah tikus dianalisis setelah selang waktu 30 hari pemberian ekstrak daun miana dan induksi rifampisin. Hasil pengujian serum tikus putih yang terinduksi rifampisin menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kreatinin karena ada selisih jumlah kreatinin kelompok 2 (OAT-Plc) dengan kelompok 1 (control sehat) sebesar 0.114mg/dL (24.94%). Hal ini menyatakan bahwa terjadi gangguan fungsi ginjal berdasarkan parameter kenaikan jumlah kreatinin.

Salah satu tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh pemberian EDM terhadap pencegahan kerusakan ginjal tikus yang diinduksi OAT rifampisin. Hasil analisis menunjukkan bahwa EDM Mks dapat menurunkan kreatinin serum tikus yang terinduksi OAT sebesar 0.064mg/dL (11.2%); EDM Kpg menurunkan kreatinin sebanyak 0.103mg/dL (22.53%). Silymarin sebagai control positif ternyata menurunkan kreatinin sejumlah 0.137mg/dL (29.97%). Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian bahan uji EDM Mks; EDM Kpg dan silymarin berpotensi mencegah kerusakan ginjal akibat induksi OAT berdasarkan parameter jumlah kreatinin. Berdasarkan analisis Mann Whitney dapat dinyatakan bahwa pemberian ketiga bahan uji EDM Mks, EDM Kpg dan silymarin berpotensi menurunkan kreatinin serum darah tikus yang terinduksi OAT, karena ketiga bahan uji menghasilkan jumlah kreatinin yang tidak berbeda nyata satu dengan lainnya.

Kreatinin adalah salah satu parameter untuk mengukur keadaan fungsi ginjal. Penentuan jumlah kreatinin dalam darah merupakan tes untuk menentukan gangguan fungsi ginjal dan mendeteksi kelainan ginjal. Karena tingkat kreatinin dalam darah meningkat, jika penyakit ginjal sedang berlangsung (Samiadi, 2017). Ginjal tidak selalu dalam kondisi prima untuk melaksanakan tugasnya. Terutama jika memetabolisme obat atau bahan yang berbahaya, sehingga lama-lama kadar kreatinin dalam darah meningkat dan memicu berbagai masalah dalam tubuh. Selain melalui darah pemantauan kadar kreatinin dapat pula mengambil sampel urine untuk mendiagnosis penyakit ginjal kronis dan gangguan pada ginjal. Karena tidak semua gejala penyakit ginjal dapat dideteksi pada semua orang (Setiaputri, 2017).

7. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap hasil pemeriksaan darah lengkap (leukosit, limfosit, eritrosit, Hb) tikus putih

Pengaruh pemberian ekstrak daun miana dan silymarin sebagai bahan uji untuk menguji potensi hepatoprotektor dan toksisitas terhadap ginjal ternyata memberikan hasil yang positif. Data penunjang potensi ekstrak daun miana sebagai maintenance kesehatan penunjang imunitas yaitu komposisi sel darah putih, limfosit, sel darah merah dan hemoglobin juga diamati dalam penelitian ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah rata-rata sel darah putih 15.68 – 20.62 tetapi meskipun nilai bervariasi namun anova menyatakan tidak berbeda nyata. Jumlah limfosit bervariasi dari 80.68 – 86.03 namun anova juga menyatakan tidak berbeda nyata. Jumlah sel darah merah memberikan data 7.66-8.26 dan menurut anova tidak berbeda nyata. Demikian pula jumlah hemoglobin dari sel darah 12.62 – 13.99 dan analisis secara anova memberikan hasil perbedaan tidak bermakna. Hasil pemeriksaan pada kelompok 2 sebagai control hewan uji yang terinduksi OAT menunjukkan jumlah sel darah putih 15.68 yang sama dengan K1 (control hewan normal), namun ternyata jumlah limfosit K2 naik menjadi 86.03 dibandingkan dengan K1 dan K3 yaitu 82.7. Data ini sejalan dengan hasil pemeriksaan histopatologi dari hati tikus pada tabel 4.6 yang menyatakan bahwa terjadi infiltrasi limfosit dan hialinisasi pada portal triad. Meskipun secara umum semua kelompok perlakuan menunjukkan terjadi infiltrasi limfosit namun jumlah limfosit yang berlebihan pada K2 berhubungan dengan terjadinya hialinisasi.

8. Menganalisis pengaruh ekstrak daun miana terhadap berat badan tikus putih

Analisis pengaruh bahan uji ekstrak daun miana terhadap pemeliharaan kesehatan diuji dengan parameter peningkatan berat badan tikus. Berat badan tikus ditimbang secara rutin setiap minggu untuk mengetahui perkembangan kesehatan hewan uji terutama akibat induksi OAT.

Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo dinyatakan

bahwa selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode rigor mortis (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan berat badan tikus secara bermakna sebelum dan setelah perlakuan. Kenaikan berat badan setelah perlakuan yaitu 15.45 – 34.5%. Namun perbedaan persentase kenaikan berat badan tikus setelah perlakuan tidak berbeda nyata antar kelompok perlakuan (anova sig. 0.076). Kenaikan berat badan tikus yang paling besar terjadi pada K2 yaitu 34.5% dibandingkan dengan kelompok normal K1 19.57%. Hendriati (2007) melakukan penelitian serupa untuk menguji toksisitas subkronik dari campuran ekstrak mengkudu dan rimpang jahe gajah. Salah satu pengamatan dalam penelitian ini adalah melakukan penimbangan berat badan tikus setiap hari selama perlakuan untuk kelompok uji dan kelompok sakit. Pertambahan bobot badan dari kelompok uji dan kelompok sakit dibandingkan terhadap kelompok control

Data kenaikan berat badan untuk K2 yang meningkat 76% dari kelompok normal K1 dapat dihubungkan dengan terjadinya kerusakan pada hati tikus dan toksisitas pada ginjal. Dimana jumlah SGOT (tabel 4.4), SGPT (tabel 4.5) dari tikus K2 paling tinggi yang menandakan terjadinya gangguan fungsi hati akibat pemberian OAT. Gangguan fungsi hati ini berhubungan dengan gangguan metabolisme lemak dalam tubuh tikus sehingga berat badan tikus meningkat tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Selain jumlah SGOT dan SGPT terjadi pula peningkatan pada parameter jumlah bilirubin total (tabel 4.8) dan jumlah kreatinin (tabel 4.9) yang menandakan terjadi gangguan fungsi ginjal. Kenaikan berat badan tikus yang disertai dengan kondisi

gangguan fungsi hati dan gangguan fungsi ginjal bukanlah merupakan tanda tikus yang sehat namun sebaliknya secara umum fungsi fisiologisnya juga ikut terganggu.

9. Analisis Potensi Ekstrak Daun Miana sebagai Hepatoprotektor Tikus yang Terinduksi OAT

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian EDM sebagai hepatoprotektor dengan parameter jumlah SGOT (tabel 4.4), jumlah SGPT (tabel 4.5), gambaran histopatologi hati (tabel 4.6) dan jumlah bilirubin total (tabel 4.8) maka hubungan antar variabel tersebut merupakan mekanisme hepatoprotektor yang terjadi pada tikus terinduksi OAT. Dalam penelitian terbukti tikus yang terinduksi OAT tanpa pemberian bahan uji (hanya diberikan placebo) menunjukkan jumlah SGOT, SGPT dan bilirubin total yang meningkat disbanding kelompok normal (K1). Hal ini berarti telah terjadi gangguan fungsi hati pada tikus akibat pemberian OAT. Hal ini sejalan dengan penelitian Prihatini (2005) yang menyatakan bahwa 62.5% subyek yang diberikan rifampisin 450 mg dan 100% subyek yang menerima rifampisin 600 mg terindikasi mengalami hepatotoksik berdasarkan peningkatan kadar AST/SGOT dan ALT/SGPT. Demikian pula Luthariana (2017) telah menemukan bahwa meningkatnya nilai SGPT telah meningkatkan terjadinya hepatotoksisitas imbas obat antituberkulosis sebesar 7,5 kali pada penderita HIV/AIDS.

Pemberian bahan uji herbal ekstrak daun miana Makassar (EDM Mks) dan EDM Kpg dalam penelitian ini terbukti telah mencegah gangguan fungsi dan kerusakan hati berdasarkan data SGOT, SGPT, bilirubin total dan gambar histopatologi hati. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa tikus yang diberikan EDM yaitu K3 dan K4 berhasil menurunkan jumlah SGOT dan SGPT dibandingkan K2. Dalam hal ini jumlah SGOT pada K3, K4 dan K1 (kelompok control normal) tidak berbeda nyata. Demikian pula jumlah SGPT pada K4 dan K1 tidak berbeda nyata. Selaras dengan hasil penelitian potensi EDM sebagai hepatoprotektor Ahsan et al. (2009) juga telah membuktikan potensi beberapa

herbal sebagai hepatoprotektor dengan hasil yang sama yaitu herbal dapat menurunkan jumlah SGOT, SGPT dan bilirubin total serta dapat memperlihatkan perbedaan gambaran histopatologi hati tikus terinduksi CCl₄ (carbon tetrachloride). Selanjutnya Yani dan Singh (2015) juga telah melaporkan efek hepatoprotektif *N-Asetilsistein* dalam mencegah *drug induced liver injury* akibat OAT sehingga dianjurkan untuk menggunakan hepatoprotektor dalam pengobatan OAT untuk menghindari terjadinya peningkatan SGOT, SGPT dan bilirubin pada penderita yang diberikan pengobatan rifampisin dan INH.

Bilirubin total merupakan salah satu factor untuk mendeteksi penyakit hepatobiler, hepatitis, sirosis dan penyakit hati lainnya juga menjadi penanda potensi EDM sebagai hepatoprotektor karena ditemukan jumlah bilirubin total K3, K4 dan K5 (control positif silymarin) tidak berbeda nyata. Sehingga dapat dinyatakan bahwa potensi EDM sebagai hepatoprotektor sebagaimana fungsi silymarin yang telah digunakan dalam pengobatan tuberkulosis. Demikian pula Huda dan Mosaddik (2018) lebih jauh telah membuktikan efek hepatoprotektor dari formula obat herbal dengan pembandingan silymarin sebagai control positif berdasarkan penurunan jumlah ALT/SGPT, AST/SGOT, ALP dan bilirubin total.

Hasil skrining fitokimia dari EDM dan pengujian antioksidan terbukti bahwa EDM mengandung senyawa flavonoid (tabel 4.2) yang berpotensi sebagai antioksidan (tabel 4.3). Kerusakan hati juga disebabkan oleh radikal bebas yang dilepaskan oleh sel-sel yang terinduksi oleh OAT sehingga fungsi antioksidan dari EDM dalam hal ini dapat mencegah terjadinya gangguan fungsi dan kerusakan hati. Dalam hal ini Airaodion et al (2019) telah membuktikan efek hepatoprotektor dari *Parkia biglobosa* pada tikus yang terinduksi stress oksidatif dengan parameter AST, ALT, LDH, LPO, CAT, SOD dan GSH. Maka dapat dinyatakan bahwa EDM yang mengandung zat antioksidan berpotensi sebagai hepatoprotektor dengan mekanisme antioksidan yang dimilikinya. Hal ini sejalan dengan penelitian Shehab et al. (2015) telah menunjukkan hubungan kandungan

fenolik dalam beberapa obat herbal dengan fungsi antioksidan dan hepatoprotektor dengan parameter penurunan jumlah ALT, AST, CAT, GSH, SOD dan TBARS dan membuktikan bahwa kandungan flavonol quercitrin dan rosmarinic acid yang berperan dalam meredam radikal bebas DPPH. Disimpulkan bahwa efek hepatotoksik dari CCl_4 dapat dicegah oleh kapasitas antioksidan dari herbal yang mengandung quercetin dan rosmarini acid dalam jumlah yang tinggi. Airaodion et al (2019) telah membuktikan efek hepatoprotektor dari *Parkia biglobosa* pada tikus yang terinduksi stress oksidatif dengan parameter AST, ALT, LDH, LPO, CAT, SOD dan GSH.

Hasil pengujian darah tikus untuk potensi EDM sebagai hepatoprotektor sejalan pula dengan pengamatan histopatologi hati tikus. Gambaran histopatologi hati menunjukkan terjadi nekrosis pada K2 dengan parameter terjadi piknotis, karioreksis dan kariolisis. Menurut Zachary dan McGavin (2012) dalam kasus terjadinya kerusakan sel yang akut, prosesnya adalah pada awalnya inti sel mengalami piknosis (kerusakan inti sel sehingga isi sel mengental) selanjutnya kromatin di dalam inti sel akan larut (kariolisis) yang diikuti dengan pecahnya inti sel (karioreksis). Sedangkan pada K1, K3, K4 dan K5 tidak terjadi nekrosis. Meskipun semua kelompok terjadi infiltrasi limfosit namun pada K2 terjadi pula hialinisasi dan jumlah limfosit (tabel 4.10) yang meningkat (paling tinggi) dibanding kelompok lainnya. Meningkatnya limfosit merupakan sel imunitas yang menjadi salah satu penanda adanya gangguan fisiologis tubuh akibat pengaruh eksternal, dalam hal ini induksi OAT yang menyebabkan terjadinya gangguan fungsi hati. Gambaran fungsi hepatoprotektor obat herbal berdasarkan perbedaan gambaran histopatologi juga telah diteliti oleh Krisnansari dkk (2014) yang telah membuktikan propolis sebagai hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi CCl_4 yang ditunjukkan dengan penurunan IL-6, SOD dan persentase kerusakan hati yang lebih rendah. Demi keamanan penggunaan obat herbal seperti halnya EDM maka pengujian toksisitas juga dilakukan terhadap hati dan ginjal yang selaras dengan penelitian Rachmawati dan Ulfa (2017) telah

menguji toksisitas ekstrak kayu kuning terhadap hepar dan ginjal. Ditemukan bahwa pemberian herbal kayu kuning tidak menyebabkan toksisitas hati dan ginjal berdasarkan jumlah SGOT, SGPT dan histopatologi hati dan ginjal.

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dinyatakan bahwa EDM Mks dan EDM Kpg berpotensi sebagai hepatoprotektor untuk mencegah kerusakan hati akibat pemberian OAT rifampisin. Sebagaimana yang telah dirangkum oleh Verma (2018) telah menemukan bukti ilmiah potensi 15 jenis herbal sebagai hepatoprotektif berdasarkan parameter biokimia SGOT, SGPT, bilirubin, antioksidan dan histopatologi.

Seperti halnya daun miana sebagai hepatoprotektif pada pengobatan tuberkulosis yang diawali dengan penggunaan empiris, demikian pula di negara lain. Kumar et al. (2011) mengidentifikasi jenis tanaman yang digunakan sebagai hepatoprotektif dari herbal yang bersifat antioksidan. Demikian pula Samami et al (2015) di Iran telah mengidentifikasi 15 jenis tanaman yang digunakan sebagai hepatoprotektor. Selanjutnya Huda dan Mosaddik (2018) juga telah menguji aktivitas hepatoprotektif dari formula obat herbal dengan parameter ALT, AST, ALP dan bilirubin.

10. Analisis Potensi Ekstrak Daun Miana mencegah Toksisitas Ginjal pada Tikus yang Terinduksi OAT

Pengobatan standar untuk penyakit tuberkulosis membutuhkan waktu yang cukup panjang (6 bulan). Dalam rentang waktu yang panjang tersebut obat anti tuberkulosis dapat menyebabkan toksisitas pada hepar sehingga dibutuhkan obat atau senyawa lainnya yang berfungsi sebagai hepatoprotektor. Berdasarkan hasil penelitian ini terbukti bahwa EDM dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor dengan parameter kerusakan hati seperti SGOT, SGPT, bilirubin total dan histopatologi hati. Penelitian sebelumnya oleh Pakadang (2015) ditemukan bahwa EDM berpotensi sebagai komplementer dalam pencegahan dan pengobatan tuberkulosis dengan mekanisme imunitas. Maka

penggunaan EDM baik sebagai pencegahan dan pengobatan tuberkulosis dan sebagai hepatoprotektor penggunaannya membutuhkan waktu yang lama sesuai dengan lama waktu pengobatan standar OAT. Sehingga EDM seharusnya aman bagi organ tubuh lainnya terutama ginjal sebagai organ untuk metabolisme dan ekskresi tubuh.

Dalam penelitian ini pengaruh pemberian ekstrak daun miana terhadap toksisitas ginjal dalam penelitian ini diamati berdasarkan parameter jumlah kreatinin, bilirubin total dan histopatologi ginjal. Menurut Samiadi (2017) tes yang digunakan untuk mengukur fungsi ginjal adalah Tes darah (meliputi Serum kreatinin, Glomerular Filtration Rate dan Nitrogen Urea Darah); Tes pencitraan (meliputi USG, CT scan, biopsy ginjal); Tes urine (meliputi Urinalisis, protein urin, Mikroalbuminuria, perbandingan kreatinin). Demikian pula pernyataan bahwa profil metabolit ginjal, yaitu kadar ureum dan kreatinin (Prataman, 2017).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah kreatinin pada kelompok tikus yang diberikan perlakuan EDM (K3 dan K4) dan kelompok control normal (K1) tidak berbeda nyata. Demikian pula pada parameter jumlah bilirubin total K1, K3 dan K4 memberikan hasil analisis statistic yang tidak berbeda nyata.

Selain pemeriksaan kreatinin darah tikus pengujian keamanan EDM terhadap toksisitas ginjal dilakukan dengan analisis gambaran histopatologi ginjal tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EDM pada kelompok tikus K3 dan K4 tidak tampak perubahan pada glomerulus seperti halnya pada K1 (kelompok control hewan normal). Meskipun pada semua kelompok perlakuan dan kelompok normal tampak sel-sel limfosit pada tubulus dan intersisial, namun menurut Pakadang (2016) proliferasi sel-sel limfosit merupakan bagian dari mekanisme EDM sebagai imunomodulator dalam pengobatan tuberkulosis.

Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian EDM tidak menyebabkan toksisitas pada ginjal. Pembuktian ini menunjang potensi EDM sebagai antituberkulosis berdasarkan penelitian

Pakadang et al. (2015) yang menyatakan bahwa EDM berpotensi sebagai imunomodulator untuk pencegahan tuberkulosis dengan mekanisme meningkatkan limfosit T, sel T CD4, IFN- γ , TNF- α dan menurunkan pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis*. Berdasarkan penelitian ini maka dapat dinyatakan bahwa EDM aman digunakan untuk pencegahan dan pengobatan tuberkulosis karena dapat berfungsi juga sebagai hepatoprotektor dan tidak menyebabkan toksisitas terhadap ginjal.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh bahan uji ekstrak daun miana (EDM) dalam mencegah kerusakan hati dan toksisitas ginjal akibat pemberian obat anti tuberkulosis (OAT) dan pengolahan data maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun miana berpengaruh menurunkan jumlah AST/ SGOT tikus putih yang terinduksi OAT
2. Ekstrak daun miana berpengaruh menurunkan jumlah ALT/ SGPT tikus putih yang terinduksi OAT
3. Ekstrak daun miana berpengaruh pada perbaikan gambaran histopatologi hati tikus putih yang terinduksi OAT
4. Ekstrak daun miana berpengaruh pada perbaikan gambaran histopatologi ginjal tikus putih yang terinduksi OAT
5. Ekstrak daun miana berpengaruh mempertahankan jumlah bilirubin tikus putih yang terinduksi OAT
6. Ekstrak daun miana berpengaruh mempertahankan jumlah kreatinin tikus putih yang terinduksi OAT
7. Ekstrak daun miana berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan darah lengkap (leukosit, eritrosit, Hb) tikus putih yang terinduksi OAT
8. Ekstrak daun miana berpengaruh terhadap berat badan tikus putih yang terinduksi OAT

5.2 SARAN

Berdasarkan kesimpulan dari hasil penelitian maka direkomendasikan untuk:

1. Menggunakan daun miana sebagai komplementer pengobatan tuberkulosis untuk mencegah kerusakan hati penderita.

2. Melakukan penelitian lanjutan tentang efektivitas ekstrak daun miana sebagai obat tuberkulosis secara biologi molekuler

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsan MR, Islam KM, Bulbul IJ, Musaddik MA, Haque E, 2009. Hepatoprotective Activity of Methanol Extract of Some Medicinal Plants Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats. *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X vol.37 No.2 (2009). Pp.302-310. EuroJournals Publishing. Inc. 2009
- Airaodion AI, Ogbuagu EO, Ogbuagu U, Adeniji AR, Agunbiade AP, Airaodion EO, 2019. Hepatoprotective Effect of parkia biglobosa on Acute Ethanol-induced Oxidative Stress in Wistar Rats, *International Research Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2(1): 1-11, 2019; article no IRJGH.49538
- Al-Snafi AE, 2015. Therapeutic Properties of medicinal Plants: A review of plants with antioxidant activity (Part 1). *International Journal of Pharmacy and Therapeutics*, 6(3).2015. 159-182
- Anita, Arisanti D, Fatmawati A., 2018. Potensi Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*) Sebagai Senyawa Anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv Dan MDR Dengan Microscopy Observation Drug Susceptibility (Mods) *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* 9 (18) (2018) 61 -73
- Arifuddin, Asri A, Elmatris, 2016. Efek Pemberian Vitamin C terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar yang Terpapar Timbal Asetat *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2016; 5(1)
- Baratawidjaja, K.G., Rengganis, I. (2010) *Imunologi Dasar*. edisi ke-10. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

- Bihar S. 2015. Gangguan Hati pada Pengobatan tuberkulosis.
- Copp, B.R. dan Pearce, A.N. (2007) Natural Product Growth Inhibitors of Mycobacterium tuberculosis, *Natural Product Reports*, 2007, 24, 278-297, www.rsc.org/npr.
- Czaja MJ. Induction and regulation of hepatocyte apoptosis by oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2002;4(5):759–767.
- Depkes RI (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta.
- Depkes RI (2000) *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta. Hal 27-33
- Depkes RI (1995) *Materia Medika VI*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal XVI – XX.
- Dodig S., Raos M., Zori i -Letoja I. 2008. Hepatotoxicity of antituberculosis drugs in a mother and a child affected by pulmonary tuberculosis - A case report. *Biochemia medica* Journal Volume 18. February, Issue 1, 2008
- Elisma, Putra NP, Arifin H., 2011. Pengaruh ekstrak daun jati (*tectona grandis* l.f) terhadap fungsi hati dan fungsi ginjal pada mencit putih jantan *Jurnal Farmasi Higea*, Vol.3, No. 2, 2011 127
- Fahmi M, Fahrimal Y, Aliza D, Budiman H, Aisyah S, dan Hambal M., 2015. *Histopathological Changes of Rat (Rattus novergicus) Liver Infected with Trypanosoma evansi and Treated with Willow Tree Bark Extract (Salix tetrasperma Roxb)*. *Jurnal Medika Veterinaria* Vol. 9 No. 2, Agustus 2015 hal 141-145

- Febriana MV. (2015). Pengaruh Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi obat antituberkulosis (Rifampisin dan Isoniazid). *Skripsi*. Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Gautam (2012) Review on Herbal Plants Useful in Tuberculosis. *International Research Journal of Pharmacy ISSN 2230-8407*, 64-67.
- Hendriani R., (2007) Uji toksisitas subkronis kombinasi ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) dan rimpang jahe gajah (*Zingiber officinale* Rosc.) pada tikus wistar. *karya ilmiah*. Universitas Padjadjaran Fakultas Farmasi Jatinangor
- Huda MN, Mosaddik MA, 2018. Hepatoprotective activity of sharbat chylosin a polyherbal formulation against carbon tetrachloride induces hepatotoxicity in rats. *Word Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 7, Issue 9, 73-79.
- Intan AEK, Manggau MA, Cangara H, 2018. Studi histopatologi organ hati dan ginjal dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian dosis tunggal dan berulang ekstrak etanol Parang Romang (*Boehmeria virgata* (Forst) Guill). *Original Article* Majalah Farmasi dan Farmakologi 2018; 22(2):64-68
- Isbaniyah, F., Thabrani, Z., Soepandi, P.Z., Burhan, E., Reviono, Soedarsono, Sugiri, Y.J., Iswanto, Nawas, A., Herman, D., Ahmadin, H., Sembiring, Whardana, I.P., Rahmawati, I., Yunus, F. (2011) *Tuberkulosis Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*,

Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, ISBN 979-96614-7-1 Jakarta

Kemenkes RI (2013) *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak* vol 2, Badan Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. Hal 5-12.

Kemenkes RI (2011) *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan, Jakarta.

Kemenkes RI (2014) *Peraturan Kepala Badan pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*

Khattak, M.M.A.K., Taher, M.T. (2011) *Bioactivity Guided Isolation of Antimicrobial Agent from Coleus amboinicus Lour (Torbangun)*, *Tesis*, Detail end of the project report Endowment fund/ grand no: EWB B 0803-107.

Khare, R.S., Banerjee, S. and Kundu, K. (2011) *Coleus aromaticus* benth – a nutritive medicinal plant of potential therapeutic value *International Journal of Pharma and Bio Sciences* ISSN 0975 – 6299, vol 2/issue 3/ Jul-Sept 2011. Hal 488-500

Kumala, S. (2009) *Aktivitas anti bakteri ekstrak Daun Iler (Coleus atropurpureus (L) Benth) terhadap beberapa bakteri Gram (+) dan bakteri Gram (-)*, *Jurnal Bahan Alam Indonesia* vol 7 no 1. Hal 12-14.

Kumar CH, Ramesh A, Kumar JNS, Ishaq BM, 2011. *A Review on hepatoprotective activity of medicinal plants. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2011; vol. 2(3): 501-515

- Krisnansari D, Sulisty H, Kusdaryantoi WD, 2014. Potensi hepatoprotektor propolis terhadap hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetrakhlorida. *Jurnal Ners* vol. 9, no. 2, Oktober 2014: 270-278
- Lemeshow, S., Hosmer, D.W. Jr., Klav, J., Lwanga, S.K. (1997) *Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal 244.
- Liem S, Levita J., 2017. (Review of Hepatoprotector of Rosela (*Hibiscus sabdariffa*) : Activity, Mechanism of Action and Toxicity). *Galenika Journal of Pharmacy*. 2017; 3(2): 103 – 117. ISSN : 2442-7284 (print), 2442-8744 (electronic). DOI : 10.22487/j24428744. 2017.v3.i2.8610 <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/Galenika/index>
- Luthariana L, Karjadi TH, Hasan I, Rumende CM, 2017. Faktor risiko terjadinya hepatotoksisitas imbas obat antituberkulosis pada pasien HIV/AIDS. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, vol. 4, no 1, Maret 2017
- Lumbessy, M., Abijulu, J., Paendong, J.J.E. (2013) Uji total flavonoid pada beberapa tanaman obat tradisional di desa Waitina Kec. Mangoli Timur Kab. Kepulauan Sula Propinsi Maluku Utara, *Jurnal MIPA Unsrat* online 2 (1) 50-55.
- Makiyah A, Khumaisah LL, tahun.....Studi Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih *Strain Wistar* yang Diinduksi Aspirin Pascapemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) Selama 7 Hari. *MKB*. 50(2):93–101. pISSN: 0126-074X | eISSN: 2338-6223. <http://dx.doi.org/10.15395/mkb.v50n2.1323>

- Malole, M.B.M., Pramono, C.S.U. (1989) *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*, Dirjen Pendidikan Tinggi, IPB, Bogor. Hal 104-112.
- Mahmood K, Hussain A, Jairamani KL., Talib A, Abbasi BU, Salken S., 2007 Hepatotoxicity with Antituberculosis Drugs: The risk factors. *Pak J Med Sci* January – March 2007 vol. 23 No1; 33-38.
- Mpila, D.A., Fatimawati, Wiyono W.I. (2012) Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* (L) Benth) terhadap *Staph. aureus*, *E.coli* dan *P. aeruginosa* secara in vitro, *Pharmacon* 2012. Ejournal. unsrat. ac.id. hal 13-21.
- Mutiaticum, D., Alegantina, S. dan Astuti, Y. (2012) Standardisasi Simplisia Dari Buah Miana (*Plectranthus Scutellaroides* (L) R.Bth) Yang Berasal Dari 3 Tempat Tumbuh Menado, Kupang Dan Papua, *Buletin Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Vol 38. No.1 hal 1-16
- Novanti H, Susilawati Y. 2017. review: aktivitas farmakologi daun iler (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R.Br.). *Farmaka Suplemen* Volume 15 Nomor 1 146-152 tahun 2017
- Park BK, Kitteringham NR, Maggs JL, et al. 2005. The role of metabolic activation in druginduced hepatotoxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45:177–202.
- Pakadang SR, Wahjuni CU, Notobroto HB, Winarni, Dwiyantri R, Yadi, Sabir M, Hatta M, 2015 Immunomodulator Potential of Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) in Prevention of Tuberculosis Infection *American Journal of Microbiological Research*, 2015, Vol. 3, No. 4, 129-134 Available online at

- Pakadang SR, 2015. Potensi Ekstrak Daun Miana (*coleus scutellarioides* (l) benth) sebagai Imunomodulator pada Tikus Model yang Terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Pemanfaatan Ekstrak Daun Miana untuk Pencegahan dan Pengobatan Tuberkulosis). *Disertasi*. Universitas Airlangga.
- Pakadang, SR., Dewi, STR., Lopak, Y., 2015 Etnofarmakologi Tumbuhan Obat untuk Tuberkulosis Pada Suku Toraja di Sulawesi Selatan, *Proceeding*, simposium nasional kesehatan masyarakat ke-1, FKM, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Pakadang SR, Wahjuni CU, Notobroto HB, Winarn. 2016. Miana Leaves (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) as the Complement at Tuberculosis Treatment. *Proceeding*, International Conference 1 st Health Technology Department, Ministry of Health, Makassar
- Pakadang, SR. dan Karim, D., 2016, Inventorization and ethnopharmacology plant for treatment of infectious diseases in Gowa and Maros district of South Sulawesi Province, *Proceeding* International Conference and Workshop on Pharmacy and Statistics; Current Development of Medicinal Plants and Biostatistics by Tadulako University, Palu, Indonesia
- Pakadang, SR., Salim, H., Hilaria, M., (2017), *Pengobatan Batuk Berdahak dengan Ekstrak Daun Miana Secara In Vitro (Dosis Efektif Ekstrak Daun Miana Sebagai Ekspektoran dan Antibakteri penyebab Batuk Berdahak.*, Laporan Penelitian Unggulan Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar

- Pakadang, 2018. Potential of miana leaves (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth) as an antibacterial *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumonia* from sputum cough patients in Makassar City. *Proceeding 1st. International Conference Health Polytechnic of Ministry of Health in Kupang*
- Panjaitan RGP, Handharyani E, Chairul, Masriani, Zakiah Z, Manalu W. 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus *Makara Kesehatan*, vol. 11, no. 1, juni 2007: 11-16
- Permadi A. (2008) *Membuat Kebun Tanaman Obat*, cetakan I. Penerbit Pustaka Bunda Grup Puspa Swara. Jakarta. Hal 25, 75.
- Prataman FI, 2017. Profil parameter kerusakan hepatosit dan fungsi ginjal pada induk sapi yang diberi vaksin iradiasi streptococcus agalactiae untuk pencegahan mastitis subklinis. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Prihatni D, Parwati I, Sjaid I, Rita C, 2005. Efek hepatotoksik antituberkulosis terhadap kadar aspartate aminotransferase dan alanine aminotransferase serum penderita tuberkulosis paru. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, Vol. 12, No. 1, Nov. 2005: 1-5.
- Prima SR, Munarsih FC, Saadah UN, 2018. Perbandingan jenis, komposisi dan jumlah pelarut terhadap uji total flavonoid dari daun jawer kotok (*Plectranthus scutellarioides*(L.) R.Br.). *Jurnal Farmasi Higea*, Vol. 10, No. 2, 2018 ; 154 -162

- Quamila dan Firdaus, 2016. Daftar Obat yang dapat Merusak Hati Jika Diminum Tidak Sesuai Aturan, Hello Sehat. Diakses 10 November 2018.
- Rachmawati E, Ulfa EU, 2018. Uji toksisitas subkronik ekstrak kayu kuning (*Arcangelisia flava* Merr) terhadap hepar dan ginjal. *Global Medical and Health Communication*, 2018. vol. 6. No. 1
- Rahmawati, F. (2008) Isolasi dan karakterisasi senyawa antibakteri ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth), *Tesis*, IPB Repository [http:// repository. Ipb.ac.id/ handle/ 9330](http://repository.ipb.ac.id/handle/9330).
- Ramayati, N.P.A., Ariantari, N.P., Dwija, I.B.N.P., (2013). Aktivitas Antituberkulosis Kombinasi Ekstrak n-Heksana Daun Kedondong Hutan dengan Rifampisin terhadap Isolat Mycobacterium Tuberculosis Strain MDR. *Skripsi Farmasi Universitas Udayana*. Bali.
- Saha A, Shanthi M. F.X., Winston BA., Das S, Kumar A, Michael JS, Balamugesh T. 2013. Prevalence of Hepatotoxicity From Antituberculosis Therapy A Five-Year Experience From South India. *J Prim Care Community Health*. 2016 Jul; 7(3): 171–174. Published online 2016 Apr 7. doi: 10.1177/2150131916642431. PMID: 27056794
- Samani MA, Farkhad NK, Azimi N, Fasihi A, Ahandani EA, Kopaei MR, 2015. Medicinal plant with hepatoprotective in Iranian folk medicine. Elsevier *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2015.5(2): 146-157
- Samiadi LA, 2017. Tes untuk Mengukur Kerusakan Fungsi Ginjal dan Mendeteksi Kelainan. Hello Sehat. Penyakit Ginjal

Sastroamidjojo, S. (2001) *Obat Asli Indonesia*, Penerbit Dian Rakyat. Jakarta. Hal 185-186.

Satyapal NT, Yadav S, 2017. Contributions of Indian Council of Medical Research (ICMR) in the area of Medicinal plants/ Traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* volume 197. 2 february 2017, pages 39-45.

Saukkonen JJ, Chon D, Jasmer RM, Schenker S, 2006. An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of Antituberculosis Therapy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 174(8):935-52 · November 2006 DOI: 10.1164/rccm.200510-1666ST · Source: PubMed

Sentra Informasi IPTEK (2012) *Tanaman Obat Indonesia* ; Iler, IPTEK net, www.iptek.net.id. Sitasi 22 September 2013.

Setiaputri KA, 2017. Hasil Uji Kreatinin Saya Tinggi. Apa Artinya, Ya?. Helo Dokter

Shehab NG, Garbieh EA, Bayoumi FA, 2015. Impact of phenolic composition on hepatoprotective and antioxidant effects of four desert medicinal plants. *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine* (2015). 15:401. DOI 10.1186/s12906-015-0919-6

Singh M, Sasi P, Gupta VH, Rai G, Amarapurkar DN, Wangikar PP, 2012. Protective effect of curcumin, silymarin and *N*-acetylcysteine on antitubercular drug-induced hepatotoxicity assessed in an in vitro model *Research article* <https://doi.org/10.1177/0960327111433901>

Smith JB dan Mangkoewidjojo S (1987), *The Care Breeding and Management of Experimental Animals for Research n*

the Tropics, International Development Program of Australian Universities and Colleges Limited (IDP), GPO Box 2006, Canberra Act 2601, Canberra

- Verma R, 2018. A review on hepatoprotective activity of medicinal plants. *Journal of Medicinal Plant Studies*. 2018; 6(1): 188-190
- Watkins B, (2007). *Mechanism of Drug-Induced Liver Injury in Schiff et al, Schiff's Diseases of the Liver*, 10th edition, Lippincott Williams & Wilkins, USA; 34: 1006-1020
- Yani MS, Singh G, 2015. Efek hepatoprotektif N-asetilsistein dalam mencegah drug-induced-liver-injury akibat obat antituberkulosis: laporan kasus berbasis bukti. *Indonesian Journal of CHEST (Critical and Emergency Medicine.)* Vol 2, no. 2, Apr-Jun 2015.
- Yuningsih, R. (2007) Aktivitas antibakteri ekstrak Daun Jawer Kotok (*Coleus scutellaroides* (L) Benth), *Tesis*, IPB Repository [http:// repository. Ipb.ac.id/ handle/ 33212](http://repository.ipb.ac.id/handle/33212) .
- Zachary, James F.; McGavin, M. Donald . (2012) . *Pathologic Basis of Veterinary Disease, Fifth Edition* . Missouri: Elsevier, Inc
- Zulkifli, A. (2005) Peran penambahan imunomodulator ekstrak *Phyllanthus niruri* pada oat standar terhadap konversi BTA tuberculosis paru pasca primer, *Disertasi*, <http://eprints.lib.ui.ac.id/id/eprint/17927>.

