

**EFEK HEPATOPROTEKTIF DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.)  
TERHADAP KERUSAKAN HEPAR AKIBAT OBAT ISONIAZID PADA  
TIKUS WISTAR**

**TESIS**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat  
Magister Program Studi Ilmu Gizi**



**Oleh**

**Listiana Dharmawati Suryaningrum S 531008009**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA**

**2012**

*commit to user*

## PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PUBLIKASI ISI TESIS

Saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa :

1. Tesis yang berjudul : **“EFEK HEPATOPROTEKTIF DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) TERHADAP KERUSAKAN HEPAR AKIBAT OBAT ISONIAZID PADA TIKUS WISTAR”** ini adalah karya saya sendiri dan bebas plagiat, serta tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber acuan serta daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan (Permendiknas No. 17, tahun 2010).
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seijin dan menyertakan tim pembimbing sebagai *author* dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya satu semester (enam bulan sejak pengesahan Tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan isi Tesis ini, maka Prodi Ilmu Gizi PPs-UNS berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang diterbitkan oleh Prodi Ilmu Gizi PPs-UNS. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, 24 Juli 2012

Mahasiswa,

Listiana Dharmawati Suryaningrum

S 531008009



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena hanya atas Rahmat-Nya penulis berhasil menyelesaikan penulisan tesis ini, guna memenuhi persyaratan mencapai derajat Magister Ilmu Gizi.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada yang terhormat Prof. Bambang Suprpto, dr. M.Med.Sci.Nutr, Sp.GK, R. Nutr. sebagai guru besar dan penguji Prodi Ilmu Gizi yang telah memberikan begitu banyak ilmu gizi dan saran-saran selama pembuatan tesis ini. Serta ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada bapak Ruben Dharmawan, dr.,Ir.,Sp.ParK., Ph.D selaku pembimbing utama dan Drs. Widardo, M.Sc selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dan perhatian dalam membimbing penulis hingga terselesaikannya tesis ini.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak sebagai berikut :

1. Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, MS direktur Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan Pascasarjana di Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Dr. Dra. Diffah Hanim, M.Si selaku Kepala Prodi Ilmu Gizi yang telah memberikan banyak kemudahan hingga terselesaikannya tesis ini.

*commit to user*

3. Prof. Bhisma Murti, dr., M.Sc, MPH., Ph.D yang telah memberikan bimbingan terhadap metode penelitian dan analisa statistik yang digunakan dalam penelitian ini.
4. Segenap dosen Program Studi Ilmu Gizi Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret yang telah membekali ilmu pengetahuan yang sangat berarti bagi penulis.
5. Suamiku tercinta dr. Agil Priambodo yang telah memberikan ide-ide, motivasi serta bantuan baik moril maupun materiil dari awal pendidikan hingga akhir penulisan tesis ini.
6. Orang tuaku tercinta, Ibunda Sri Hardiyanti dan Alm. Aries Soeryono serta bapak Ir. Soejanto. Kakakku Guntur Eko Hardiyono, Winarni dan Dewi Amalia. Keponakanku tersayang Aristasani Naveeda Putri Gunarni dan Muh. Ravan Amagraha yang senantiasa menjadi penyemangat bagi penulis untuk menyelesaikan pendidikan Pascasarjana ini.
7. Semua teman sejawat seangkatan dan semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari sempurna, namun demikian penulis berharap semoga karya ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan Ilmu Gizi.

Surakarta, 22 Juli 2012

Penulis,

Listiana Dharmawati Suryaningrum





Listiana Dharmawati Suryaningrum. 2012. *Efek Hepatoprotektif Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Terhadap Kerusakan Hepar Akibat Obat Isoniazid Pada Tikus Wistar*. TESIS. Pembimbing I: Ruben Dharmawan, dr., Ir., Sp.ParK., Ph.D. Pembimbing II: Drs. Widardo, MSc. Program Studi Ilmu Gizi, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

## ABSTRAK

Latar belakang: Indonesia menempati peringkat ketiga dari 22 negara dengan insidensi tuberkulosis (TB) tertinggi di dunia. Sementara Asia dilaporkan memiliki angka *Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity* (ATDH) tertinggi di dunia. Penelitian terhadap ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan efek hepatoprotektif pada tikus karena adanya kandungan quercetin didalamnya.

Tujuan penelitian: Untuk menilai efek hepatoprotektif ekstrak *Moringa oleifera* Lam. terhadap kerusakan hepar yang diakibatkan oleh isoniazid.

Metode penelitian: Tikus Wistar dengan berat 200 - 300 g dibagi dalam enam kelompok. Kelompok I sebagai kontrol positif diberikan aquadestilata secara oral selama 28 hari. Kelompok II sebagai kontrol negatif diberikan isoniazid 50 mg/kgBB/hari per oral selama 28 hari. Kelompok III diberikan ekstrak *Moringa oleifera* Lam. 200 mg/kgBB/hari per oral selama 28 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian isoniazid 50 mg/kgBB/hari per oral selama 28 hari. Kelompok IV diberikan ekstrak *Moringa oleifera* Lam. 800 mg/kgBB/hari per oral selama 28 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian isoniazid 50 mg/kgBB/hari per oral selama 28 hari. Kelompok V diberikan ekstrak *Moringa oleifera* Lam. 200 mg/kgBB/hari per oral setengah jam sebelum pemberian isoniazid 50 mg/kgBB/hari per oral. Kelompok VI diberikan ekstrak *Moringa oleifera* Lam. 800 mg/kgBB/hari per oral setengah jam sebelum pemberian isoniazid 50 mg/kgBB/hari per oral. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin dan berat badan diukur pada saat sebelum dan setelah selesai perlakuan dari masing-masing kelompok. Analisa histologi dilakukan untuk mengetahui adanya kerusakan (nekrosis) pada sel hepar.

Hasil penelitian: Pemberian isoniazid 50 mg/kgBB/hari per oral pada tikus ternyata mengakibatkan hepatotoksisitas pada kelompok II, yang dinilai dari rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami nekrosis. Rata-rata jumlah nekrosis sel hepar untuk kelompok I, II, III, IV, V, dan VI masing-masing adalah 24,8; 43; 28; 29; 25,4; dan 29,2. Dengan menggunakan uji ANOVA diperoleh nilai  $F_{hitung} = 9,081$  lebih besar daripada  $F_{tabel} = 2,62$ , menunjukkan signifikansi perbedaan pada tingkat  $\alpha = 5\%$ . Dilanjutkan dengan analisa Post Hoc juga menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok II dan kelompok yang lain. Hal ini juga mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak *Moringa oleifera* Lam. dapat

mencegah kerusakan histopatologi hepar tikus yang diakibatkan oleh isoniazid, baik sebelum maupun bersamaan dengan pemberian isoniazid.

Kesimpulan: Ekstrak *Moringa oleifera* Lam. melindungi kerusakan hepar yang diakibatkan oleh isoniazid pada model hewan percobaan.

Kata Kunci: *Moringa oleifera* Lam.; hepatoprotektif; isoniazid.





Listiana Dharmawati Suryaningrum. 2012. *Hepatoprotective Effect of Kelor Leave (Moringa oleifera Lam.) Against Isoniazid Drug-induced Hepatotoxicity in Wistar Rats*. THESIS. First Consultant: Ruben Dharmawan, dr., Ir., Sp.ParK., Ph.D. Second Consultant: Drs. Widardo, MSc. Study Program of Human Nutrition, Postgraduate Program of Sebelas Maret University Surakarta.

### ABSTRACT

Background: Indonesia ranks third on the list of twenty two high-burden tuberculosis (TB) countries in the world. Meanwhile Asia got the highest number of *Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity* (ATDH). The hepatoprotective effect of quercetin of *Moringa oleifera* Lam. had been reported in some researches.

Aim: To evaluate the hepatoprotective effect of *Moringa oleifera* Lam. extract on liver injury induce by isoniazid.

Method: Wistar rats weighing 200 – 300 g grouped into six. Group I as positive control that received orally aquadestilata for 28 days. Group II as negative control that received orally isoniazid 50 mg/kgBW daily for 28 days. Group III that received extract of *Moringa oleifera* Lam. 200 mg/kgBW/day orally for 28 days then administered the isoniazid 50 mg/kgBW/day orally for the next 28 days. Group IV that received extract of *Moringa oleifera* Lam. 800 mg/kgBW/day orally for 28 days then administered the isoniazid 50 mg/kgBW/day orally for the next 28 days. Group V that received extract of *Moringa oleifera* Lam. 200 mg/kgBW/day orally half an hour before isoniazid 50 mg/kgBW/day orally. Group VI that received extract of *Moringa oleifera* Lam. 800 mg/kgBW/day orally half an hour before isoniazid 50 mg/kgBW/day orally. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin serum and body weight were measured before and after the treatment of each group. Histological analysis was carried out to asses the injury of the hepatocyte.

Result: Orally administered isoniazid (50 mg/kgBW/day) induced hepatotoxicity in rats, showed by mean of liver cell injury number. The mean number of liver cell injury for group I, II, III, IV, V, and VI were 24,8; 43; 28; 29; 25,4; and 29,2. With ANOVA test showed F-ratio = 9,081. Compared with  $F_{crit}(5,24) = 2,62$  at  $\alpha=0,05$ , F-ratio showed greater value, meant the result were significant at the 5% significance level. Post Hoc test, conducted to test the diffence of the mean between group, showed that group II significantly different from another groups. It indicates that extract of *Moringa oleifera* Lam. prevents the induction of histopathological injuries in isoniazid co-treated animals whether before or with isoniazid administered simultaneously.

commit to user

Conclusion: Extract of *Moringa oleifera* Lam. protects against isoniazid-induced liver injury in experimental animal model.

Key Words: *Moringa oleifera* Lam; hepatoprotective; isoniazid.



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	I
PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
PENGESAHAN PENGUJI TESIS	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	2
BAB II LANDASAN TEORI	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Hepar	4
a. Anatomi Hepar	4
b. Fisiologi Hepar	6

c. Pemeriksaan Biokimia Hepar	11
d. Pemeriksaan Histologi Hepar	24
2. TB Paru	25
a. Insidensi TB Paru	25
b. Obat Antituberkulosis dan Kerusakan Hepar	27
c. Kerusakan Hepar dan Malnutrisi	36
3. Daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.)	39
a. Kandungan Nutrisi Daun Kelor	39
b. Daun Kelor dan Malnutrisi	42
c. Mekanisme Hepatoprotektif Daun Kelor	44
B. Penelitian yang Relevan	48
C. Kerangka Berpikir	52
D. Hipotesis	55
BAB III METODE PENELITIAN	56
A. Tempat dan Waktu Penelitian	56
B. Jenis Penelitian	56
C. Subyek Penelitian	57
D. Variabel Penelitian	57
1. Variabel Bebas	57
2. Variabel Terikat	58
E. Definisi Operasional	58
1. Variabel Bebas	58
2. Variabel Terikat	60

F. Teknik Sampling	62
G. Prosedur Pelaksanaan Penelitian	62
1. Tahap Persiapan	62
2. Tahap Pelaksanaan	63
H. Rancangan Penelitian	65
I. Alur Penelitian	66
J. Teknik Pengumpulan Data	67
K. Teknik Analisis Data	68
L. Jadwal Penelitian	69
M. Etika Penelitian	70
N. Keterbatasan Penelitian	70
BAB IV HASIL PENELITIAN	71
A. Deskripsi Hasil Penelitian	71
B. Analisis Hasil Penelitian	78
1. Pengaruh daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus Wistar	78
2. Pengaruh daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap kadar SGOT tikus Wistar	79
3. Pengaruh daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap kadar SGPT tikus Wistar	79
4. Pengaruh daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) terhadap kadar albumin tikus Wistar	80
5. Pengaruh daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.)	

terhadap berat badan tikus Wistar	81
C. Pembahasan Hasil Penelitian	81
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	85
DAFTAR PUSTAKA	87
LAMPIRAN	89



**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1	Distribusi albumin ekstrasvaskuler di dalam tubuh	15
Tabel 2.2	Faktor-faktor yang mempengaruhi perubahan metabolisme albumin	18
Tabel 2.3	Komposisi asam amino daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) dalam bentuk kering	41
Tabel 4.1	Karakteristik data awal keenam kelompok penelitian sebelum perlakuan	72
Tabel 4.2	Perbandingan hasil keenam kelompok penelitian sesudah perlakuan	73



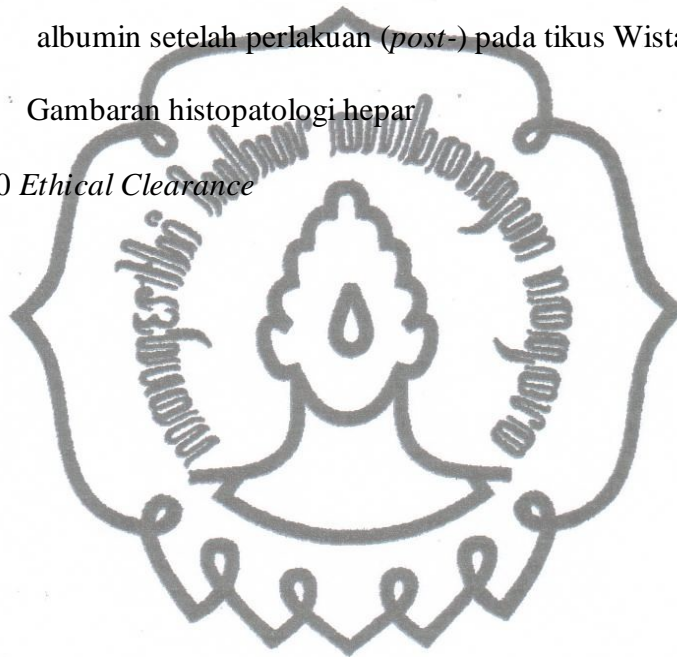
**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1	Anatomi hepar	6
Gambar 2.2	Fungsi hepar dalam metabolisme tubuh	10
Gambar 2.3	Perubahan morfologik nukleus pada nekrosis	25
Gambar 2.4	Kerusakan hepatosit dipengaruhi oleh 6 mekanisme	29
Gambar 2.5	Metabolit isoniazid yang merusak hepar	32
Gambar 2.6	Kandungan zat gizi daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) dalam bentuk kering	40
Gambar 2.7	Mekanisme daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) dalam mengatasi kerusakan hepar akibat isoniazid	52
Gambar 2.8	Mekanisme daun Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.) dalam mengatasi malnutrisi akibat kerusakan hepar	54

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1.	Hasil pengukuran berat badan, SGOT, SGPT, albumin dan penghitungan sel nekrotik pada gambaran histopatologi hepar sebelum ( <i>pre-</i> ) dan sesudah ( <i>post-</i> ) perlakuan pada tikus Wistar	89
Lampiran 2.	Hasil penghitungan sel nekrotik pada gambaran histopatologi hepar setelah perlakuan ( <i>post-</i> ) pada tikus Wistar	90
Lampiran 3.	Penghitungan statistik Oneway Anova pada hasil pengukuran berat badan, SGOT, SGPT, albumin dan penghitungan sel nekrosis pada gambaran histopatologi hepar sebelum ( <i>pre-</i> ) perlakuan pada tikus Wistar	91
Lampiran 4.	Penghitungan statistik Oneway Anova pada hasil pengukuran berat badan, SGOT, SGPT, albumin dan penghitungan sel nekrosis pada gambaran histopatologi hepar sesudah ( <i>post-</i> ) perlakuan pada tikus Wistar	93
Lampiran 5	Penghitungan statistik Oneway Anova pada hasil penghitungan sel nekrotik pada gambaran histopatologi hepar setelah perlakuan ( <i>post-</i> ) pada tikus Wistar	95
Lampiran 6	Penghitungan statistik Oneway Anova pada hasil pengukuran SGOT setelah perlakuan ( <i>post-</i> ) pada tikus	

Wistar	97
Lampiran 7 Penghitungan statistik Oneway Anova pada hasil pengukuran SGPT setelah perlakuan ( <i>post-</i> ) pada tikus Wistar	99
Lampiran 8 Penghitungan statistik Oneway Anova hasil pengukuran albumin setelah perlakuan ( <i>post-</i> ) pada tikus Wistar	101
Lampiran 9 Gambaran histopatologi hepar	103
Lampiran 10 <i>Ethical Clearance</i>	106



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. LATAR BELAKANG

Indonesia menempati peringkat ketiga dari 22 negara dengan insidensi tuberkulosis (TB) tertinggi di dunia. Menurut laporan *Global Tuberculosis Control* dari *World Health Organization* (WHO), diperkirakan terdapat 528.063 kasus TB baru dan dengan kecepatan insidensi 102 kasus sputum smear-positif per 100.000 populasi pada tahun 2007. Berdasarkan penghitungan WHO, TB bertanggungjawab terhadap 6,3 persen dari total penyakit berat di Indonesia, dibandingkan dengan 3,2 persen di wilayah Asia Tenggara (USAID, 2009).

Insidensi *Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity* (ATDH) selama pengobatan tuberkulosis dengan obat-obat standar tuberkulosis dilaporkan bervariasi antara 2% dan 28%. Penelitian ATDH telah dilakukan di Eropa, Asia dan USA, dan insidensinya berbeda-beda diantara belahan dunia yang berbeda. Dan Asia dilaporkan memiliki angka ATDH tertinggi (Tostmann *et al.*, 2007).

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dilaporkan merupakan sumber yang kaya akan  $\beta$ -carotene, protein, vitamin C, kalsium dan potasium dan berperan sebagai sumber antioksidan alami yang baik. (Dillard *et al.*, 2000 cit Anwar *et al.*, 2006). Penelitian terhadap ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan efek antiulcerogenic dan hepatoprotektif pada tikus, hal ini karena daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki kandungan quercetin, yang dikenal

sebagai flavonoid yang memiliki efek hepatoprotektif (Gilani *et al.*, 1997 cit Anwar *et al.*, 2006).

Mengingat ketersediaan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang berlimpah di masyarakat serta kandungan nutrisi dan aktivitas antioksidannya yang tinggi, maka penulis tertarik meneliti pengaruh daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap kerusakan hepar akibat obat antituberkulosis, sehingga bisa didapatkan obat alternatif antituberkulosis alami yang dapat dipertanggungjawabkan.

## **B. RUMUSAN MASALAH**

Apakah ada efek hepatoprotektif daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap kerusakan hepar akibat obat isoniazid ?

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

Untuk mengetahui efek hepatoprotektif daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap kerusakan hepar akibat obat isoniazid.

## **D. MANFAAT PENELITIAN**

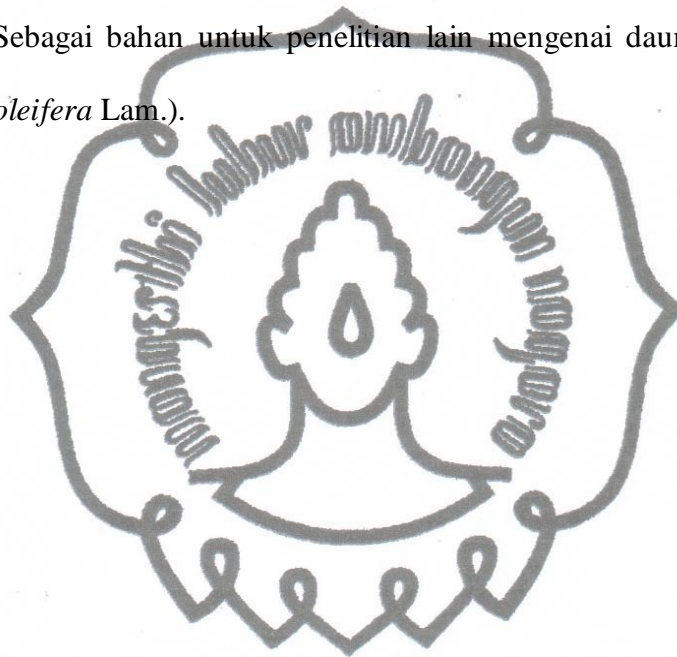
### **1. Manfaat Teoritis**

Peneliti dapat mengetahui kemampuan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam mengatasi kerusakan hepar akibat obat isoniazid.

*commit to user*

## 2. Manfaat Praktis

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kemampuan hepatoprotektif daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).
- b. Memberikan informasi tentang kerusakan hepar yang diakibatkan oleh obat isoniazid.
- c. Sebagai bahan untuk penelitian lain mengenai daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).



## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. TINJAUAN PUSTAKA

##### 1. Hepar

###### a. Anatomi Hepar

Hepar merupakan kelenjar tubuh yang paling besar, beratnya antara 1000 - 1500 gram, kurang lebih 25% berat badan orang dewasa dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks dan ruwet. Hepar terdiri dari dua lobus utama, kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior, lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum falsiformis yang dapat dilihat dari luar. Setiap lobus hepar dibagi lagi menjadi lobulus yang merupakan unit fungsional. Mikroskopik dalam hepar manusia terdapat 50.000 – 100.000 lobuli. Setiap lobulus merupakan bentuk heksagonal yang terdiri atas lembaran sel hepar berbentuk kubus yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Diantara sel hepar terdapat kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteria hepatica. Sinusoid tidak seperti kapiler lain, dibatasi oleh sel fagositik atau sel Kupffer. Sel Kupffer merupakan sistem retikuloendotelial dan mempunyai fungsi utama menelan bakteri dan benda asing lain dalam tubuh. Hanya sumsum tulang yang mempunyai masa sel retikuloendotelial yang lebih



banyak daripada hepar. Jadi hepar merupakan salah satu organ utama sebagai pertahanan tubuh terhadap serangan bakteri dan agen toksik.

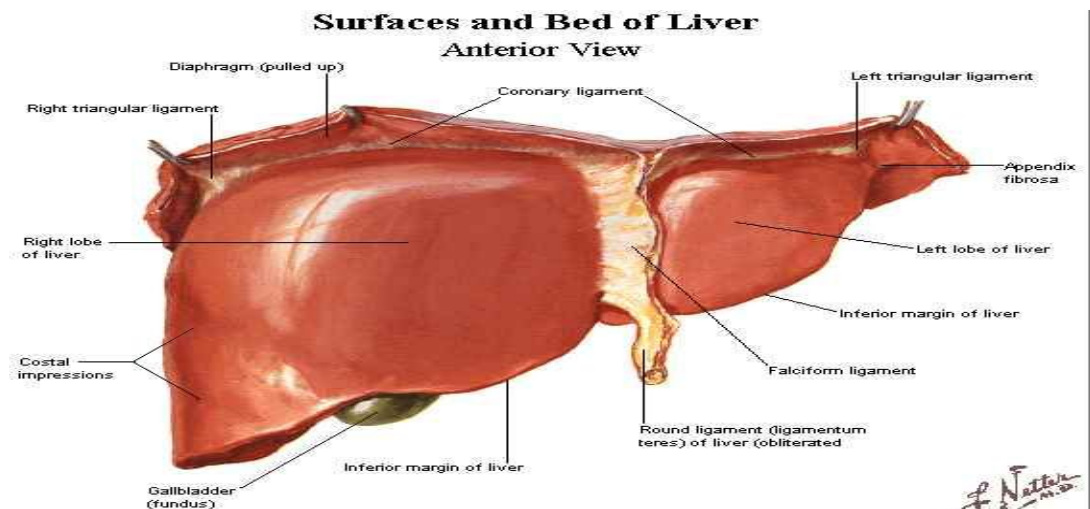
Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatika yang melingkari bagian perifer lobulus hepar, juga terdapat saluran empedu. Saluran empedu interlobular membentuk kapiler empedu yang sangat kecil yang dinamakan kanalikuli yang berjalan diantara lembaran sel hepar. Empedu yang dihasilkan hepatosit diekskresikan ke dalam kanalikuli yang bersatu membentuk saluran empedu yang makin lama makin membesar, menjadi saluran yang terbesar yaitu duktus hepatikus komunis.

Hepar mendapat darah dari dua macam peredaran darah yaitu vena porta dan arteria hepatika.

Vena porta menerima aliran darah dari saluran cerna, limpa dan pankreas. Darah vena porta ini berbeda dengan darah vena lain karena :

- 1) Tekanan sedikit lebih tinggi, untuk mengatasi tekanan pada sinusoid hepar.
- 2) Oksigen lebih tinggi, karena aliran darah di daerah splanknikus ini relatif lebih banyak.
- 3) Mengandung lebih banyak zat makanan.
- 4) Mengandung banyak sisa-sisa bakteri dari saluran pencernaan.

Volume total darah yang melalui hati 1.200 – 1.500 mL tiap menit dan dialirkan melalui vena hepatika kanan dan kiri yang mengosongkannya ke vena kava inferior (Husadha *et al.*, 1996).



Gambar 2.1 Anatomi hepar

#### b. Fisiologi Hepar

Hepar mempunyai fungsi yang sangat banyak dan kompleks. Hepar penting untuk mempertahankan hidup dan berperan pada hampir setiap fungsi metabolisme tubuh. Untungnya hepar mempunyai kapasitas cadangan yang besar dan cukup memerlukan 10-20% fungsi jaringan untuk mempertahankan hidup. Kerusakan total atau pembuangan hepar mengakibatkan kematian dalam 10 jam. Hepar mempunyai kemampuan regenerasi yang mengagumkan. Pembuangan hepar sebagian, pada kebanyakan kasus sel hepar yang mati atau sakit akan diganti dengan jaringan hepar yang baru.

Fungsi hepar dibagi atas 4 macam :

##### 1) Fungsi Pembentukan dan Ekskresi Empedu

Hal ini merupakan fungsi utama hepar. Saluran empedu mengalirkan kandungan empedu, menyimpan dan mengeluarkan empedu ke dalam usus halus sesuai yang dibutuhkan. Hepar mengekskresikan

sekitar satu liter empedu tiap hari. Unsur utama empedu adalah air (97%), elektrolit, garam empedu fosfolipid, kolesterol dan pigmen empedu (terutama bilirubin terkonjugasi). Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak dalam usus halus. Oleh bakteri usus halus sebagian besar garam empedu direabsorpsi dalam ileum, mengalami resirkulasi ke hati, kemudian mengalami rekonjugasi dan resekresi. Walaupun bilirubin (pigmen empedu) merupakan hasil akhir metabolisme dan secara fisiologis tidak mempunyai peran aktif, ia penting sebagai indikator penyakit hati dan saluran empedu, karena bilirubin cenderung mewarnai jaringan dan cairan yang berhubungan dengannya. Disamping itu ke dalam empedu juga diekskresikan zat-zat yang berasal dari luar tubuh, misalnya logam berat, beberapa macam zat warna (termasuk BSP) dan sebagainya.

## 2) Fungsi Metabolik

Hepar memegang peranan penting pada metabolisme karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan juga memproduksi energi dan tenaga. Zat tersebut di atas dikirim melalui vena porta setelah diabsorpsi oleh usus.

Monosakarida dari usus diubah menjadi glikogen dan disimpan dalam hepar (glikogenesis). Dari depot glikogen ini disuplai glukosa secara konstan ke darah (glikogenolisis) untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Sebagian glukosa dimetabolisme dalam jaringan untuk menghasilkan panas atau tenaga (energi) dan sisanya diubah menjadi glikogen, disimpan dalam otot atau menjadi lemak yang disimpan dalam jaringan subkutan. Hepar juga mampu mensintesis glukosa dari protein dan lemak (glukoneogenesis).

Peran hepar pada metabolisme protein penting untuk hidup. Protein plasma, kecuali globulin gama, disintesis oleh hepar. Protein ini adalah albumin yang diperlukan untuk mempertahankan tekanan osmotik koloid, protrombin, fibrinogen dan faktor-faktor pembekuan yang lain. Selain itu, sebagian besar asam amino mengalami degradasi dalam hati dengan cara deaminasi atau pembuangan gugus amino ( $\text{NH}_2$ ). Amonia yang dilepas kemudian disintesis menjadi urea, diekskresi oleh ginjal dan usus. Amonia yang terbentuk oleh kerja bakteri pada protein, juga diubah menjadi urea dalam hepar.

Fungsi metabolisme yang lain adalah metabolisme lemak. Beberapa fungsi khas hepar dalam metabolisme lemak adalah :

- a) Oksidasi beta asam lemak dan pembentukan asam asetoasetat yang sangat tinggi.
- b) Pembentukan lipoprotein.
- c) Pembentukan kolesterol dan fosfolipid dalam jumlah yang sangat besar.
- d) Perubahan karbohidrat dan protein menjadi lemak dalam jumlah yang sangat besar.

### 3) Fungsi Pertahanan Tubuh

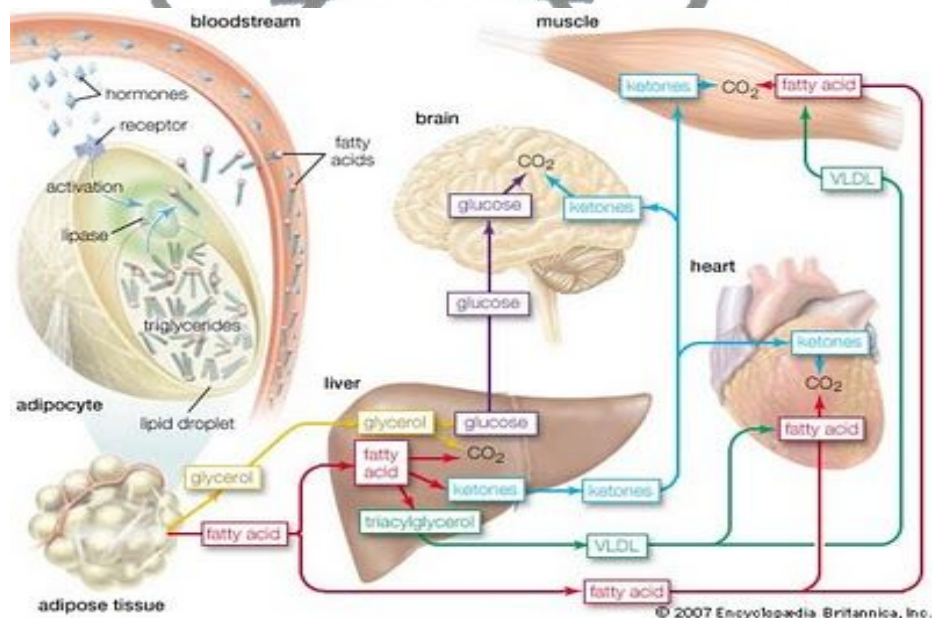
Fungsi pertahanan tubuh hepar terdiri dari fungsi detoksifikasi dan fungsi perlindungan.

- a) Fungsi detoksifikasi : sangat penting dan dilakukan oleh enzim-enzim hati yang melakukan oksidasi, reduksi, hidrolisis atau konjugasi zat yang kemungkinan membahayakan, dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Detoksifikasi zat endogen seperti indol, skatol, dan fenol yang dihasilkan dari asam amino oleh kerja bakteri dalam usus besar dan zat eksogen seperti morfin, fenobarbital dan obat-obat lain. Hepar juga menginaktifkan dan mengekskresikan aldosteron, glukokortikoid, estrogen, progesteron dan testosteron.
- b) Fungsi perlindungan : sel Kupffer yang terdapat pada dinding sinusoid hepar, sebagai sel endotel mempunyai fungsi sebagai sistem endothelial, berkemampuan fagositosis yang sangat besar sehingga dapat membersihkan sampai 99% kuman yang ada dalam vena porta sebelum darah menyebar melewati seluruh sinusoid. Sel Kupffer juga mengadakan fagositosis pigmen-pigmen, sisa-sisa jaringan dan lain-lain. Sel Kupffer juga menghasilkan immunoglobulin yang merupakan alat penting dalam penyelenggaraan kekebalan humoral. Juga menghasilkan berbagai macam antibodi yang timbul pada berbagai kelainan hal tertentu, *anti mitochondrial antibody* (AMA), *smooth muscle antibody* (SMA) dan *anti nuclear antibody* (ANA).



#### 4) Fungsi Vaskular Hepar

Setiap menit mengalir 1200 cc darah portal ke dalam hati melalui sinusoid hati, seterusnya darah mengalir ke vena sentralis dan dari sini menuju ke vena hepatika untuk selanjutnya masuk ke dalam vena kava inferior. Selain itu dari arteria hepatika mengalir masuk kira-kira 350 cc darah. Darah arterial ini akan masuk ke dalam sinusoid dan bercampur dengan darah portal. Pada orang dewasa jumlah aliran darah ke hepar diperkirakan mencapai 1500 cc tiap menit. Hepar sebagai ruang penampung dan bekerja sebagai filter, karena letaknya antara usus dan sirkulasi umum. Pada payah jantung kanan misalnya, hepar mengalami bendungan pasif oleh darah yang banyak jumlahnya (Husadha *et al.*, 1996).



Gambar 2.2 Fungsi hepar dalam metabolisme tubuh

### c. Pemeriksaan Biokimia Hepar

#### 1) Serum Transaminase

Transaminase adalah sekelompok enzim yang bekerja sebagai katalisator dalam proses pemindahan gugusan amino antara suatu asam alfa amino dengan asam alfa keto.

Dua transaminase yang sering digunakan dalam menilai penyakit hepar adalah *serum glutamic oxaloacetic transaminase (serum aspartate amino transferase) = SGOT* dan *serum glutamic pyruvic transaminase (serum alanine amino transferase) = SGPT*.

Enzim GOT terdapat dalam sel-sel organ tubuh, yang terbanyak otot jantung, kemudian sel-sel hepar, otot tubuh, ginjal dan pankreas. Sedangkan GPT banyak terdapat dalam sel-sel jaringan tubuh dan sumber utama adalah sel-sel hepar. Kenaikan kadar transaminase dalam serum disebabkan oleh sel-sel yang kaya akan transaminase mengalami nekrosis atau hancur. Enzim-enzim tersebut masuk dalam peredaran darah.

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. SGOT atau AST adalah enzim sitosolik, sedangkan SGPT atau ALT adalah enzim mikrosomal. Kenaikan enzim-enzim tersebut meliputi kerusakan sel-sel hepar oleh karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hepar granulomatus dan yang disebabkan oleh alkohol. Kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi biasanya menunjukkan



berkembangnya kelainan dan nekrosis hepar. Maka perlu pemeriksaan secara serial untuk mengevaluasi perjalanan penyakit hepar.

Kadar transaminase dalam serum diukur dengan metode kalorimetrik atau lebih teliti dengan metode spektrofotometri. Harga normal tertinggi : SGOT 40 U Karmen (17 mU/cc) dan SGPT 35 U Karmen (13 mU/cc). Ratio GOT/GPT normal=1,15.

Pasien ikterus dengan nilai transaminasenya lebih dari 300-400 U biasanya menunjukkan penyakit hepatoseluler yang akut. Obstruksi ekstrahepatik biasanya tidak menunjukkan kenaikan nilai transaminase serum. Dalam kepustakaan dikatakan, nilai kurang dari 300 U sulit untuk mendiagnosis dan dapat terjadi pada penyakit hepar yang kronik dan akut maupun ikterus yang disebabkan oleh obstruksi. Kenaikan yang lebih dari 1000 U dapat terjadi pada hepatitis virus, kerusakan hepar, sebab keracunan atau obat-obatan yang akut dan hipotensi yang berkelanjutan. Ada pedoman yang mengatakan kalau kadar transaminase serum lebih 10 kali harga normal tertinggi maka kemungkinan besar didapatkan suatu nekrosis hepatoseluler akut yang difus. Pedoman tersebut sulit untuk diterapkan pada pasien kita di klinik. Menurut para pakar di Indonesia, pasien-pasien yang jelas-jelas menderita hepatitis akut jarang menunjukkan kadar transaminase lebih dari 400 U. Salah satu faktor yang perlu dipertimbangkan adalah faktor nutrisi dan kekurangan vitamin B6 yang merupakan kofaktor dalam reaksi transaminase dapat menurunkan kadar transaminase serum. Juga kekurangan apoenzim dalam hepar. Rasio SGOT/SGPT penting untuk mendeteksi pasien penyakit

yang berhubungan dengan alkohol. Rasio ini biasanya lebih dari 2, karena aktivitas SGPT pada sitosol hepatosit dan serum pasien alkohol. Kenaikan transaminase tidak khas untuk penyakit hepar saja. Sebab pada pasien dengan kerusakan otot jantung dan otot-otot lainnya juga meninggi. Kenaikan pada kerusakan otot ini biasanya tidak tinggi, tidak lebih dari 300 U kecuali pada rabdomiolisis yang akut.

Namun demikian peneliti tetap menggunakan parameter transaminase ini, karena mengingat keterbatasan dana, dimana biaya pemeriksaan transaminase relatif lebih hemat dibandingkan parameter biokimia yang lain (Husadha *et al.*, 1996).

## 2) Albumin dan Globulin Serum

Hepar merupakan sumber utama protein serum. Albumin, fibrinogen dan faktor-faktor koagulasi, plasminogen, transferin, seruloplasmin, haptoglobin dan globulin beta semua disintesis dalam sel-sel parenkim hepar. Kecuali globulin gamma yang disintesis dalam sel-sel limfosit dan system retikuloendotel baik dalam maupun di luar hepar.

Perubahan fraksi protein yang paling banyak terjadi pada penyakit hepar adalah penurunan kadar albumin dan kenaikan kadar globulin akibat peningkatan globulin gamma. Perubahan tersebut tergantung dari dua faktor penting yaitu beratnya dan lamanya sakit hepar.

## Metabolisme Albumin

Konsentrasi albumin serum berfungsi mengatur kecepatan sintesis dan degradasi albumin serta distribusi albumin antara kompartemen intravaskuler dan ekstrasvaskuler. Jumlah total persediaan albumin tubuh sekitar 3,5 - 5,0 g  $\text{kg}^{-1}$  berat badan (250 -300 g untuk dewasa sehat dengan berat badan 70 kg). Albumin pada kompartemen plasma sekitar 42% dari persediaan tubuh, sisanya terdapat pada kompartemen ekstrasvaskuler. Sebagian terdapat pada jaringan, oleh karena itu tidak didapatkan pada sirkulasi. Setiap hari, 120 – 145 g hilang ke ekstrasvaskuler. Sebagian besar akan dikembalikan ke sirkulasi melalui sirkulasi limfatik. Albumin juga hilang di dalam saluran pencernaan (sekitar 1 g setiap hari), dimana pencernaan mengeluarkan asam amino dan peptida, yang akan direabsorpsi kembali. Kehilangan albumin melalui saluran kemih pada individu yang sehat jumlahnya minimal. 70 kg albumin yang melalui ginjal setiap hari, hanya sedikit yang melalui membrane glomerulus. Hampir seluruhnya direabsorpsi, kehilangan albumin melalui saluran kemih, biasanya tidak lebih dari 10 – 20 mg  $\text{kg}^{-1}$  per hari (Nicholson *et al.*, 2000).

Mekanisme hilangnya albumin ke dalam kompartemen ekstrasvaskuler semakin sering dibahas akhir-akhir ini. Albumin melewati kapiler. Sebagian besar organ di dalam tubuh memiliki kapiler lanjutan, tetapi beberapa diantaranya terbuka lebar, seperti sinusoid (hepar, sumsum tulang) atau kapiler yang bercabang (usus halus, pankreas, kelenjar adrenal). Teori Starling mengatakan bahwa kecepatan hilangnya albumin tergantung pada permeabilitas dinding serta tekanan onkotik dan hidrostatik pada bagian lain

dinding sel. Sebagian hilangnya albumin melalui kapiler lanjutan, dan untuk memfasilitasi tersebut menggunakan mekanisme transport aktif. Ikatan albumin terhadap reseptor permukaan disebut albondin, yang mana tersebar luas pada banyak kapiler, kecuali di dalam otak. Ikatan albumin memasuki vesikel ke dalam sel endotelial dan dikeluarkan ke bagian intersisiel dalam 15 detik. Kecepatan transfer ini dapat ditingkatkan dengan penambahan asam lemak rantai panjang atau long-chain fatty acids (LCFAs) ke dalam albumin, dan dengan kationisasi dan glikosilasi molekul (Nicholson *et al.*, 2000).

Tabel 2.1 Distribusi albumin ekstrasvaskuler di dalam tubuh

Organ	Fraksi berat badan (%)	Fraksi total albumin ekstrasvaskuler (%)
Kulit	18,0	41
Otot	45,5	40
Usus	2,8	7
Hepar	4,1	3
Subkutan	8	9

(Nicholson *et al.*, 2000)

#### a) Sintesis Albumin

Pada manusia, sintesis albumin hanya dilakukan di hepar, akan tetapi tidak disimpan di hepar, melainkan disekresi ke dalam sirkulasi portal kemudian sesegera mungkin diproduksi kembali. Pada dewasa muda yang sehat, kecepatan sintesis 194 (SD 37) mg kg<sup>-1</sup> hari<sup>-1</sup> atau sekitar 12 –

25 g albumin per hari. Kecepatan sintesis bervariasi tergantung status gizi dan stadium penyakit. Hepar dapat meningkatkan sintesis albumin hanya 2 – 2,7 kali normal karena hepar siap kapanpun memproduksi albumin bahkan pada kondisi istirahat. (Nicholson *et al.*, 2000).

Albumin hanya akan disintesis dalam lingkungan osmotik, hormonal dan zat gizi yang tepat. Colloid osmotic pressure (COP) cairan intersisial hepatosit merupakan pengatur sintesis albumin yang penting. Syarat untuk sintesis albumin :

- mRNA untuk translasi;
- pasokan asam amino yang cukup, diaktivasi oleh ikatan terhadap tRNA;
- ribosom untuk perakitan;
- energi dalam bentuk ATP dan/atau GTP

(Nicholson *et al.*, 2000).

Ketersediaan jumlah mRNA untuk aktivasi ribosom merupakan faktor penting dalam mengontrol kecepatan sintesis albumin. Trauma dan proses penyakit akan memberikan dampak terhadap kadar mRNA. Penurunan konsentrasi mRNA albumin, disebabkan oleh penurunan transkripsi gen, tampak pada reaksi fase akut yang diperantarai oleh sitokin, terutama interleukin-6 (IL-6) dan tumor nekrosis faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Penurunan transkripsi gen juga tampak pada sel hepatoma dan kerusakan hepatosit dengan carbon tetrachloride (Nicholson *et al.*, 2000).

Kondisi hormonal juga bisa berdampak pada konsentrasi mRNA. Insulin dibutuhkan untuk sintesis albumin yang kuat. Individu yang diabetes mengalami penurunan sintesis albumin, yang dapat diperbaiki dengan infuse insulin. Perfusi hepar dari tikus yang diabetes mengalami penurunan transkripsi gen sebesar 50%. Kortikosteroid memiliki efek yang kompleks terhadap sintesis albumin. Peningkatan sintesis albumin merupakan kombinasi steroid dengan insulin dan steroid dengan asam amino. Hydrocortisone dan dexamethasone keduanya meningkatkan transkripsi gen secara *in vitro*, akan tetapi secara keseluruhan efek *in vivo* merupakan sesuatu yang kompleks. Steroid juga meningkatkan katabolisme albumin. Hormon pertumbuhan juga menstimulasi transkripsi gen pada hepatosit yang dikultur (Nicholson *et al.*, 2000).

Kecepatan sintesis tergantung pada asupan zat gizi, lebih banyak dibandingkan protein hepar yang lain. Kelaparan menurunkan produksi albumin, tetapi secara khusus protein dari diet menyebabkan penurunan yang besar dalam sintesis albumin. Penurunan protein pada tahap awal, terdapat disagregasi yang cepat dari polysome bebas dan terikat, yang mana dapat dikembalikan secara cepat, melalui pemberian makan individu yang bersangkutan dengan asam amino. Dua asam amino yang secara khusus efektif adalah tryptophan dan ornithine. Ornithin, tidak seperti tryptophan, tidak bergabung kedalam albumin. Ini merupakan produk dari siklus urea, dan bertindak sebagai prekursor polyamine spermine. Peningkatan agregasi polysome dan sintesis albumin dengan pemberian



makan ornithin menunjukkan bahwa siklus urea memainkan peran yang lebih dalam metabolisme protein dibandingkan pembuangan sampah biasa. Kekurangan protein dalam waktu yang lama akan menyebabkan 50-60% penurunan aktivitas dan konsentrasi mRNA, agaknya meningkatkan kerusakan, transkripsi gen tidak diperlambat pada tikus dengan diet protein 0-4% (Nicholson *et al.*, 2000).

Bagaimanapun kalori merupakan hal yang penting. Didapatkan penurunan sintesis albumin pada tikus yang kelaparan, dan polysome akan agregasi kembali dengan pemberian makan glukosa tunggal. Asupan kalori lebih penting dibandingkan asupan asam amino dalam menentukan agregasi polysome pada berat badan di bawah normal.

Tabel 2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi perubahan metabolisme albumin

---

Penurunan sintesis albumin

---

Penurunan transkripsi gen	Trauma, Sepsis (sitokin)
	Penyakit hepar
	Diabetes
	Penurunan hormon pertumbuhan
	Penurunan kortikosteroid ( <i>in vitro</i> )
Disagregasi ribosom	Kelaparan, terutama deplesi protein

---

(Nicholson *et al.*, 2000).



## b) Degradasi Albumin

Degradasi albumin total setiap hari pada dewasa dengan berat badan 70 kg adalah sekitar 14 g/hari atau 15% dari total pembentukan protein tubuh setiap hari. Albumin dirusak pada sebagian besar organ tubuh. Otot dan kulit merusak albumin sebesar 40-60%. Hepar, meskipun memetabolisme protein dalam kadar tinggi, akan tetapi juga mendegradasi albumin sebesar 15% atau kurang dari total albumin tubuh. Ginjal bertanggungjawab sekitar 10%, sementara 10% yang lain hilang melalui dinding lambung ke dalam saluran cerna. Mekanisme perusakan albumin melibatkan uptake ke dalam vesikel endositosis, yang mana melebur bersama lisosom dalam sel endotelial. Hal ini kemungkinan melibatkan ikatan terhadap reseptor membran permukaan endotel atau *endothelial surface membrane scavenger receptors*, yang disebut sebagai gp18 dan gp30, yang tersebar merata dalam jaringan tubuh. Mereka mengikat albumin yang terdenaturasi, hal ini seperti modifikasi kimia pada sirkulasi albumin yang merupakan sinyal terhadap reseptor yang menyebabkan degradasi lisosom. Dengan demikian juga kemungkinan bisa dilakukan modifikasi untuk mencegah degradasi. Ikatan LCFAs terhadap albumin tampaknya dapat melindungi molekul dari kerusakan. Pada kondisi albuminemia, rasio LCFA/albumin meningkat dan degradasi ditekan. Hasil akhir dari kerusakan adalah asam amino bebas yang ditambahkan pada persediaan asam amino di dalam sel dan dalam plasma (Nicholson et al., 2000).

### c) Albumin dan Penyakit Kronis

Penyakit kronis mengubah distribusi albumin diantara kompartemen intravaskuler dan ekstrasvaskuler. Mereka juga mengubah kecepatan sintesis dan degradasi protein. Konsentrasi serum albumin akan turun secara drastis pada awal penyakit kronis. Dan tidak naik lagi sampai dengan fase penyembuhan dari penyakit. Kinetik albumin secara intra vena memberikan perbedaan yang besar antara pasien dengan penyakit kronis dengan individu yang sehat. Implikasi dari ini, memberikan fungsi penting albumin dalam kesehatan, penggunaan albumin eksogen untuk meningkatkan konsentrasi albumin intravaskuler selama sakit kronis adalah bermanfaat. Akan tetapi penelitian gagal menunjukkan manfaat terapi koloid albumin pada individu dewasa (Nicholson *et al.*, 2000).

Perubahan distribusi albumin pada penyakit kronis berkaitan dengan peningkatan kebocoran kapiler. Hal ini terjadi pada sepsis dan stres pasca operasi besar. Ini melibatkan disfungsi dari barier endothelial yang menyebabkan kebocoran kapiler dan kehilangan protein, sel inflamasi dan sebagian besar cairan ke dalam space intersisiel. Mediator yang tepat dari kebocoran kapiler masih terus diteliti dan saat ini yang termasuk diantaranya adalah :

- Endotoksin dari bakteri gram negative;
- Sitokin – TNF- $\alpha$  dan IL-6;
- Metabolit asam arakhidonat – leukotrien dan prostaglandin;

- Komponen komplemen C3a dan C5a;
- Peptida vasoaktif lain – bradikinin dan histamine;
- Kemokins – protein inflammatory makrofag 1 $\alpha$

(Nicholson *et al.*, 2000).

Kecepatan kehilangan transkapiler normal untuk albumin meningkat sampai dengan 300% pada pasien dengan shock septic, dan 100% setelah operasi jantung. Pada pasien sepsis, kecepatan pertukaran transkapiler akan diperbaiki dengan baik melalui pengobatan yang tepat. Dengan adanya peningkatan aliran albumin melalui membran kapiler, akan meningkatkan aliran balik limfatik ke dalam kompartemen intravaskuler. Penelitian terhadap kinetika albumin selama bedah mayor menunjukkan adanya penurunan kecepatan aliran limfe dan konsentrasi albumin dalam limfe. Tidak diketahui jika hal ini meluas sampai dengan periode post operasi. Pengukuran sirkulasi total dan pertukaran persediaan albumin total menunjukkan adanya penurunan sebesar 30 % pada operasi besar, dan tetap pada albumin yang terdapat di bagian yang tidak mengalami perpindahan, seperti luka, usus dan bagian ekstra-abdominal. Kecepatan sintesis Albumin mengalami perubahan yang signifikan pada penyakit kronis. Respon fase akut terhadap trauma, peradangan atau sepsis, terdapat peningkatan kecepatan transkripsi gen untuk protein fase akut positif seperti misalnya C-reactive protein, dan penurunan kecepatan transkripsi albumin mRNA dan sintesis albumin. IL-6 dan TNF- $\alpha$  keduanya berperan menurunkan transkripsi gen. Induksi inflamasi pada tikus menurunkan

konsentrasi albumin mRNA dan kecepatan sintesis albumin, yang mana mencapai minimal sekitar 36 jam dan kemudian mulai meningkat kembali. Respon inflamasi pada penyakit kronis kemungkinan dapat memperpanjang penghambatan sintesis albumin (Nicholson *et al.*, 2000).

Katabolisme albumin kemungkinan juga bisa diubah. *Fractional Degradation Rate* (FDR) adalah *mass-dependent*. Dimana jika konsentrasi albumin serum turun, maka FDR juga turun. Penelitian juga menunjukkan secara signifikan bahwa masa paruh plasma lebih pendek pada pasien hipoalbuminemia dengan total nutrisi parenteral (9 hari), tetapi dengan kecepatan katabolisme mendekati normal. Bagaimanapun, pada situasi dimana ada peningkatan *transcapillary albumin flux*, peningkatan FDR juga didapatkan. Hal ini dimungkinkan bahwa endotel vaskuler memegang peranan yang penting dalam degradasi albumin. Pada hewan percobaan, jaringan terlibat aktif dalam katabolisme albumin baik jaringan dengan kapiler fenestrated maupun kapiler discontinuous. Pada kondisi dimana jaringan terpapar dalam jumlah besar, permeabilitas kapiler akan meningkat, maka kemungkinan katabolisme juga meningkat. Bagaimanapun, penelitian ekstrasvasasi albumin pada myxoedema menemukan hal tersebut, dimana ada peningkatan persediaan albumin ekstrasvasuler, maka didapatkan penurunan kecepatan katabolisme. Secara tidak langsung paparan jaringan dan penjejakan albumin, melindunginya dari degradasi (Nicholson *et al.*, 2000).

### Cara Pemeriksaan Albumin

Dalam laboratorium ada beberapa teknik pemeriksaan untuk menentukan kadar serum protein. Yang paling sering dipakai adalah teknik penggaraman (*salting out*) dan elektroforesis.

- a) Cara penggaraman. Cara pemeriksaan ini berdasarkan reaksi antara basa dengan protein yang menghasilkan garam yang menimbulkan warna tertentu yang kemudian diukur secara kalorimetrik.

Dengan cara ini dapat diukur :

Albumin nilai normal : 3,5 – 5,0 g%

Globulin nilai normal : 1,3 – 2,7 g%

Globulin gamma nilai normal : 0,8 – 1,6 g%

Protein total nilai normal : 5,5 – 8,0 g%

- b) Cara elektroforesis. Cara ini didapatkan nilai perbandingan dari :

Albumin nilai normal : 52 – 68%

Globulin Alfa 1 nilai normal : 2 – 6%

Globulin Alfa 2 nilai normal : 3 – 11%

Globulin Beta nilai normal : 8 – 16%

Globulin Gamma nilai normal : 10 – 25%

Prinsip cara ini adalah mempergunakan medan listrik, albumin akan bergerak ke arah anoda sedangkan globulin terpisah antara albumin dan katoda.

Dari dua cara tersebut, elektroforesis dianggap lebih teliti. Karena dengan cara elektroforesis kita hanya mendapat angka-angka perbandingan,

untuk mengetahui kadar sesungguhnya masing-masing fraksi protein, kita harus juga memeriksa kadar protein total (Husadha *et al.*, 1996)..

Pada penelitian ini, kami hanya melakukan pemeriksaan pada albumin tanpa pemeriksaan globulin, dan teknik yang dipakai di laboratorium Patologi Klinik RSUD DR. Moewardi adalah teknik penggaraman (*salting out*) dengan metode tes fotometrik menggunakan bromocresol green. Adapun prinsip pada pemeriksaan ini adalah serum albumin dalam hal ini bromocresol green pada pH yang sedikit asam akan mengakibatkan perubahan warna pada indikator dari warna kuning-hijau menjadi warna hijau-biru. Reagen yang dipakai adalah citrate buffer pH 4,2 30 mmol/L dan bromocresol green 0,26 mmol/L. Harga rujukan yang ditetapkan yaitu 3,5 – 5,2 g/dL.

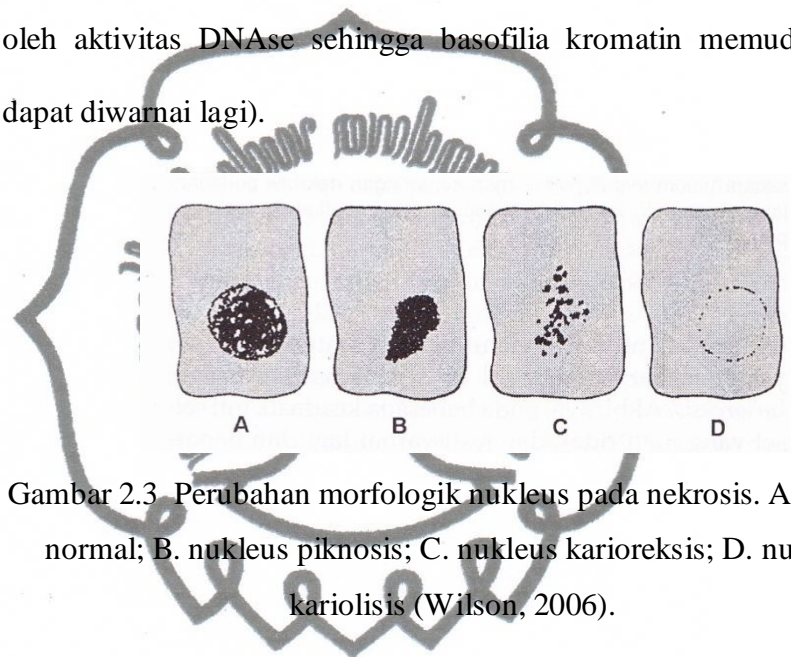
#### d. Pemeriksaan Histologi Hepar

Pemberian isoniazid dapat mengakibatkan kerusakan hepar berupa nekrosis. Nekrosis adalah kematian sel dan jaringan pada tubuh yang hidup. Pada nekrosis perubahan tampak nyata pada nukleus (Wilson, 2006). Perubahan morfologik nukleus pada nekrosis menurut Mitchell dan Cotran (2007) dan Wilson (2006) terdapat tiga pola, yang semuanya disebabkan oleh pemecahan nonspesifik DNA, diantaranya :

- 1) Piknosis, ditandai dengan melisutnya nukleus dan peningkatan basofilia kromatin (berwarna gelap), kemudian DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat.



- 2) Karioreksis, ditandai dengan nukleus yang hancur dan membentuk fragmen-fragmen materi kromatin yang tersebar di dalam sel, yang selanjutnya dalam 1-2 hari inti dalam sel yang mati benar-benar menghilang.
- 3) Kariolisis, ditandai dengan nukleus mati dan hilang yang disebabkan oleh aktivitas DNase sehingga basofilia kromatin memudar (tidak dapat diwarnai lagi).



Gambar 2.3 Perubahan morfologik nukleus pada nekrosis. A. nukleus normal; B. nukleus piknosis; C. nukleus karioreksis; D. nukleus kariolisis (Wilson, 2006).

## 2. TB Paru

### a. Insidensi TB Paru

Indonesia menempati peringkat ketiga dari daftar 22 negara dengan insidensi tuberkulosis (TB) terbesar di dunia. Menurut World Health Organization's (WHO's) *Global Tuberculosis Control Report 2009*, diperkirakan 528.063 kasus TB baru dan angka insidensi diperkirakan 102 kasus baru sputum smear-positif positif (SS+) setiap 100.000 penduduk pada tahun 2007. Berdasarkan penghitungan *WHO disability-adjusted life-year*, TB

bertanggungjawab 6,3 persen dari total penyakit di Indonesia, dibandingkan dengan 3,2 persen di wilayah Asia Tenggara (USAID, 2009).

Tuberkulosis (TB) sampai saat ini masih merupakan penyebab angka kesakitan yang tinggi di negara berkembang, bahkan di negara maju angka kesakitan TB meningkat kembali seiring dengan meningkatnya *Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome* (HIV/AIDS) (Prihatni *et al.*, 2005).

Sebagian besar kasus TB terjadi pada kelompok usia produktif dan sosial ekonomi lemah. Sejak tahun 1995 program Pemberantasan Tuberkulosis Paru telah dilaksanakan dengan strategi *Directly Observed Treatment Shortcourse chemotherapy* (DOTS) yang direkomendasikan oleh *World Health Organization* (WHO) untuk menanggulangi masalah penyakit TB di Indonesia. Obat Anti Tuberkulosis Kategori 1 adalah (2HRZE/4H3R3), Kategori 2 (2HRZES/ HRZE/5H3R3E3), Kategori 3 (2HRZ/4H3R3) dan sisipan (HRZE) (Prihatni *et al.*, 2005).

Peningkatan kembali morbiditas penyakit TB ini, ternyata diikuti oleh peningkatan prevalensi *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) yang resisten terhadap banyak obat atau Multi Drug Resistance Tuberculosis (MDR–TB). Batasan MDR TB menurut *American Thoracic Society* (ATS) adalah strain *M. tuberculosis* yang secara *in vitro* resisten terhadap isoniazid (INH) dan rifampisin, dengan atau tanpa resisten terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) lain.1 MDR–TB seringkali disebabkan oleh pengawasan pengobatan yang tidak benar (Prihatni *et al.*, 2005).

## b. Obat Anti Tuberkulosis dan Kerusakan Hepar

Obat adalah penyebab utama kerusakan hepar. Lebih dari 900 obat, toksin, dan herbal yang dilaporkan menyebabkan kerusakan hepar, dan obat bertanggungjawab 20-40% dari semua penyebab tersebut yang menyebabkan kerusakan hepar yang fulminan. Kira-kira 75% reaksi idiosinkrasi obat menyebabkan transplantasi hepar atau kematian. Kerusakan hepar yang dipicu oleh obat merupakan penyebab tersering. Dokter harus waspada dalam mengenali kerusakan hepar yang berhubungan dengan obat karena deteksi dini dapat menurunkan beratnya hepatotoksisitas jika obat dihentikan. Manifestasi hepatotoksisitas yang dipicu oleh obat memiliki variabel yang tinggi, dari peningkatan enzim hepar yang tanpa gejala sampai dengan kerusakan hepar yang berat. Pengetahuan tentang bahan-bahan yang sering menyebabkan kerusakan hepar dan kewaspadaan yang tinggi merupakan hal yang penting dalam diagnosis (Mehta *et al.*, 2010).

Mekanisme jejas hati karena obat yang mempengaruhi protein transport pada membran kanalikuli dapat terjadi melalui mekanisme apoptosis hepatosit karena asam empedu. Terjadi penumpukan asam-asam empedu di dalam hati karena gangguan transport pada kanalikuli yang menghasilkan translokasi Fas sitoplasmik ke membran plasma, dimana reseptor-reseptor ini mengalami pengelompokan sendiri dan memacu kematian sel melalui apoptosis. Disamping itu, banyak reaksi hepatoseluler melibatkan sistem sitokrom P-450 yang mengandung heme dan menghasilkan reaksi-reaksi energi tinggi yang

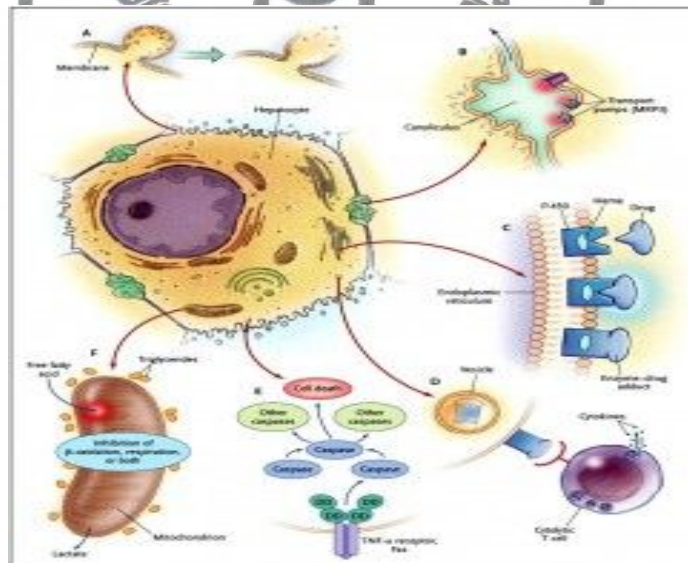
dapat membuat ikatan kovalen obat dengan enzim, sehingga menghasilkan ikatan baru yang tidak punya peran (Benvie, 2009).

Kompleks enzim-obat ini bermigrasi ke permukaan sel di dalam vesikel-vesikel untuk berperan sebagai imunogen-imunogen sasaran serangan sitolitik sel T, merangsang respons imun multifaset yang melibatkan sel-sel sitotoksik dan berbagai sitokin. Obat-obat tertentu menghambat fungsi mitokondria dengan efek ganda pada beta-oksidasi dan enzim-enzim rantai respirasi. Metabolit-metabolit toksik yang dikeluarkan dalam empedu dapat merusak epitel saluran empedu (Benvie, 2009).

Beberapa mekanisme hepatotoksitas obat sebagai berikut :

- 1) Kerusakan hepatosit : ikatan kovalen dari obat ke protein intraseluler dapat menyebabkan penurunan ATP, menyebabkan gangguan aktin. Kegagalan perakitan benang-benang aktin di permukaan hepatosit menyebabkan rupturnya membran hepatosit.
- 2) Gangguan protein transport : obat yang mempengaruhi protein transport di membran kanalikuli dapat mengganggu aliran empedu. Hilangnya proses pembentukan vili dan gangguan pompa transport, misal multidrug resistance-associated protein 3 (MRP 3) menghambat ekskresi bilirubin, menyebabkan kolestasis.
- 3) Aktivasi sel T sitolitik : ikatan kovalen dari obat pada enzim P-450 dianggap imunogen, mengaktifkan sel T dan sitokin dan menstimulasi respon imun multifaset. *commit to user*

- 4) Apoptosis hepatosit : aktivasi jalur apoptosis oleh reseptor Fas TNF- $\alpha$  menyebabkan berkumpulnya caspase interseluler, yang berakibat pada kematian sel terprogram (apoptosis).
- 5) Gangguan mitokondria : beberapa obat menghambat fungsi mitokondria dengan efek ganda pada beta-oksidasi (mempengaruhi produksi energi dengan cara menghambat sintesis dinucleotida adenine nicotinamid dan dinucleotida adenine flavin, yang menyebabkan penurunan produksi ATP) dan enzim rantai respirasi.
- 6) Kerusakan duktus biliaris : metabolit racun yang diekskresikan di empedu dapat menyebabkan kerusakan epitel duktus biliaris (Benvie, 2009).



Gambar 2.4 Kerusakan hepatosit dipengaruhi oleh 6 mekanisme

Beberapa mekanisme menyebabkan kerusakan sel hepar dan proses kerusakan tersebut berjalan terus-menerus. Mitokondria merupakan target utama hepatotoksisitas beberapa obat. Disfungsi dari organela sel yang vital ini



mengakibatkan kerusakan metabolisme energi dan stres oksidatif intraseluler dengan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan peroxynitrite. Sebagai tambahan terhadap mitokondria, induksi terhadap isoenzim sitokrom P450 seperti misalnya CYP2E1 juga meningkatkan stres oksidatif dan kerusakan sel. Segera sesudah fungsi hepatoseluler rusak, terjadi akumulasi asam empedu menyebabkan peningkatan stres dan sitotoksitas. Kerusakan sel, endotoksin spesifik pada usus atau kombinasi keduanya juga mengaktifkan sel Kupffer dan merangsang neutrofil ke dalam hepar. Meskipun bertanggungjawab terhadap pembuangan sel debris dan sebagian sistem pertahanan inang, akan tetapi dibawah pengaruh tertentu sel-sel inflamasi ini menyebabkan bertambahnya kerusakan hepar. Bagaimanapun, kerusakan dan kematian sel tidak hanya ditentukan oleh bahan dasar dan dosis obat, akan tetapi juga ditentukan oleh faktor-faktor seperti bentuk ekspresi gen masing-masing individu, status antioksidan, dan kemampuan regenerasi sel hepar (Jaeschke *et al.*, 2001).

Obat antituberkulosis lini pertama isoniazid (INH), rifampicin (RIF) dan pyrazinamid (PZA) merupakan obat yang efektif untuk pengobatan tuberkulosis, akan tetapi penggunaan obat-obat ini berhubungan dengan reaksi toksik dalam jaringan, khususnya pada hepar, yang dapat mengakibatkan hepatitis (Eminzade *et al.*, 2008).

Hepatotoksitas isoniazid merupakan komplikasi umum dari pengobatan tuberkulosis yang memiliki cakupan luas dari peningkatan serum transaminase yang tanpa gejala sampai dengan kerusakan liver yang sampai mengharuskan transplantasi liver. Hal ini tidak disebabkan oleh kadar isoniazid

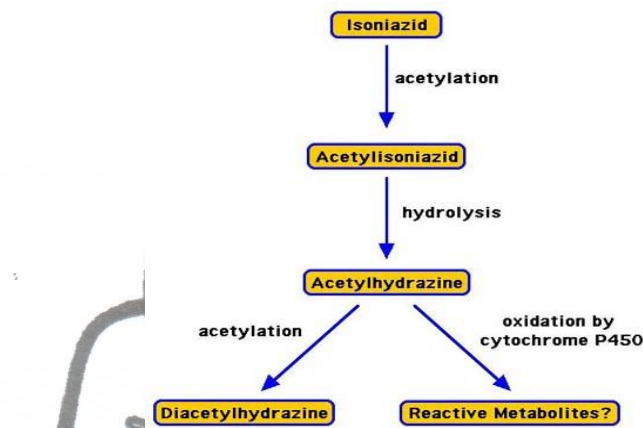


yang tinggi dalam plasma akan tetapi banyak disebabkan oleh respon idiosinkrasi. Saat ini merupakan penanganan masalah yang sulit untuk beberapa alasan (Weisiger *et al.*, 2010).

Jalur metabolisme utama isoniazid adalah asetilasi oleh enzim hepar N-acetyltransferase 2 (NAT2). Isoniazid (INH; isonicotinic acid hydrazide) diasetilasi menjadi acetylisoniazid dan kemudian dihidrolisa menjadi acetylhydrazine dan asam isonicotinic. Acetylhydrazine juga dihidrolisa dalam hydrazine, atau diasetilasi menjadi diacetylhydrazine. Sebagian kecil isoniazid dihidrolisa secara langsung menjadi asam isonicotinic dan hydrazine dan jalur ini mempunyai signifikansi jumlah terbesar dalam asetilator lambat dibandingkan asetilator cepat (Tostmann *et al.*, 2007).

Sebelumnya sebagian besar penelitian hanya fokus pada hipotesis yang mengatakan bahwa acetylhydrazine merupakan metabolit toksik dari isoniazid. Banyak penelitian baru-baru ini, diperkirakan hydrazine, dan bukan isoniazid atau acetylhydrazine, yang kemungkinan besar menyebabkan *isoniazid-induced hepatotoxicity*. Toksisitas hydrazine telah digambarkan pada awal tahun 1908 dan dikenal menyebabkan kerusakan sel yang irreversible. Beberapa metabolit hydrazine telah diidentifikasi (seperti acetylated hydrazine, hydrazone dan gas nitrogen). Oksidasi adalah siklus utama dari metabolisme hydrazine. Nitrogen dan diimide, merupakan bahan penurun diazene yang kuat, yang kemungkinan reaksi hydrazine menengah. Penelitian pada mikrosom tikus menunjukkan bahwa *nitrogen-centered radical* dibentuk selama metabolisme oksidasi hydrazine, yang diperkirakan *commit to user* berpengaruh dalam proses hepatotoksik.

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa radikal bebas oksigen tidak terlibat dalam toksisitas isoniazid (Toastmann *et al.*, 2007).



Gambar 2.5 Metabolit isoniazid yang merusak hepar

Rifampicin, isoniazid, pirazinamid dan ethambutol merupakan obat lini pertama dalam pengobatan tuberkulosis. Rifampicin memiliki aktivitas bakterisidal melawan *M. tuberculosis* melalui penghambatan DNA-dependent RNA polymerase bakteri. Isoniazid adalah obat yang diaktivasi oleh catalase-peroxidase (KatG) dan membunuh aktivitas pertumbuhan tuberkel basilus melalui penghambatan biosintesis asam mycolic yang merupakan komponen utama dari dinding sel *M. tuberculosis*. Obat yang lain, pirazinamid, diaktivasi oleh pirazinamidase bakteri yang mana hanya aktif pada kondisi lingkungan yang asam (pH 5,5). Metabolit aktif adalah asam pyrazinoic yang menghambat sintesis asam lemak pada *M. tuberculosis*. Obat ini digunakan pada dua bulan pertama untuk mengurangi lamanya terapi, dan obat ini tidak digunakan secara tunggal. Ethambutol menghambat sintesis beberapa metabolit yang berperan dalam aktivitas pertumbuhan *M. tuberculosis*, mengakibatkan kerusakan

metabolisme sel, menghambat multiplikasi, dan kematian sel (Eminzade *et al.*, 2008).

Dalam pengobatan tuberkulosis tidak digunakan obat tunggal. Sebaliknya, lini pertama obat digunakan dalam kombinasi, atau dengan pengobatan lain. Penggunaan obat tunggal justru akan meningkatkan resistensi terhadap obat dan kegagalan terapi. Beberapa zat sesuai untuk pengobatan tuberkulosis. Tergantung pada lamanya terapi atau kasus resistensi, obat-obat tertentu dihilangkan dari prosedur pengobatan. Beberapa reaksi efek samping obat anti-tuberkulosis dilaporkan. Efek toksik obat dikenal luas sebagai hepatotoksisitas. Frekuensi dan beratnya hepatotoksisitas meningkat ketika obat-obat ini digunakan secara bersamaan. Obat anti-tuberkulosis bekerja melalui perangsangan enzim sitokrom P450 hepar. Sebagai contoh, rifampicin adalah perangsang kuat terhadap CYP2D6 dan CYP3A4, dan isoniazid menginduksi CYP2E1. Perangsangan terhadap enzim CYP450 diketahui memegang peranan terhadap peningkatan resistensi berbagai macam obat atau *multi-drug resistance*. xenobiotic, termasuk obat antituberkulosis, mengalami biotransformasi didalam hepar yang dikatalisis oleh sistem enzim mikrosomal. Isoenzim utama dari enzim sitokrom P450 dalam bioaktivitas adalah CYP2E1, yang mana juga melibatkan toksisitas hepar terhadap karbon tetraklorida, ethanol dan acetaminophen. Penghambatan isoenzim ini melalui inhibitor spesifik atau obat-obat herbal telah ditunjukkan sebagai hepatoprotektif. Beberapa derivat reaktif obat dan oksidan dibentuk selama proses biotransformasi obat. Spesies reaktif yang dibentuk dapat berikatan dan/atau

bereaksi dengan komponen seluler di dalam hepar, dan menyebabkan kerusakan hepar sehingga terjadi kerusakan fungsi hepar. Reaksi spesies reaktif dengan antioksidan seluler menyebabkan deplesi antioksidan yang menghasilkan stres oksidatif (Eminzade *et al.*, 2008).

Penelitian baru-baru ini menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara kerusakan hepar dan stres oksidatif pada hewan percobaan yang diterapi dengan obat antituberkulosis. Sejak semua obat yang digunakan dalam terapi tuberkulosis menunjukkan adanya efek hepatotoksik, banyak penelitian dilakukan untuk mencegah atau menurunkan toksisitas dengan penggunaan obat herbal alami dan/atau kandungan sintetisnya, tanpa mengganggu aktivitas terapeutik obat. Garlic, silymarin, N-acetylcystein, dan beberapa obat herbal lain membuktikan adanya efek serupa. Perlu menjadi catatan penting bahwa penghambatan CYTP450 2E1 dan aktivitas antioksidan menjadi mekanisme hepatoprotektif yang utama dari obat herbal (Eminzade *et al.*, 2008).

Penanda dini dari hepatotoksik adalah peningkatan enzim-enzim transaminase dalam serum yang terdiri dari *aspartate amino transaminase/glutamate oxaloacetate transaminase* (AST/GOT) yang disekresikan secara paralel dengan *alanine amino transferase/glutamate pyruvate transaminase* (ALT/GPT) yang merupakan penanda yang lebih spesifik untuk mendeteksi adanya kerusakan hepar (Prihatni *et al.*, 2005).

Trauma pada tingkat sel akan mengakibatkan perubahan yang bersifat irreversibel dalam waktu 20–60 menit pertama. Perubahan irreversibel yang akan berakhir pada kematian sel meliputi kerusakan membran sel,

pembengkakan lisosom dan vakuolisasi mitokondria dengan penurunan kapasitas pembentukan ATP. Deplesi ATP dan penurunan sintesis ATP biasanya disebabkan oleh keadaan hipoksia dan trauma kimiawi (toksik). Bila telah terjadi gangguan fungsi mitokondria dan membran sel, maka selsel hepatosit akan mengeluarkan enzim-enzim transaminase. Peningkatan enzim-enzim transaminase merupakan penanda dini hepatotoksik (Prihatni *et al.*, 2005).

.Tingkat hepatotoksisitas berdasarkan klasifikasi WHO dan definisi berdasarkan kadar enzim hepar, kadar aspartate transaminase (AST) lebih tinggi dibandingkan kadar alanine transaminase (ALT) yang dikenal dengan rasio  $AST/ALT > 2$ , ini merupakan salah satu kriteria penting untuk diferensial diagnosis antara obat atau kimia dan virus hepatitis. Grade I untuk kadar AST antara 51-125 U/L; grade II untuk kadar AST antara 126-250 U/L; grade III untuk kadar AST antara 251-500 U/L dan grade IV untuk kadar AST berapapun yang lebih besar dari 500 U/L atau lebih dari 250 U/L dengan gejala hepatitis fulminan. Dalam kasus kerusakan hepar grade I dan II, obat anti-tuberkulosis dilanjutkan selama 2 minggu dan pemeriksaan enzim diulang. Pada hepatitis grade III dan IV obat anti-tuberkulosis dihentikan sampai dengan kadar enzim menjadi normal. AST diperiksa setiap minggu, sekali dia melampaui nilai 2 kali dari pemeriksaan sebelumnya maka dikonfirmasi setelah follow-up 2 minggu pertama sampai dengan kadar menjadi normal. Pasien dipanggil untuk follow-up setiap bulan dan dilakukan visite setelah

selesai jadwal pengobatan selama 3 bulan pada kedua kelompok (Adhvaryu *et al.*, 2008).

c. Kerusakan Hepar dan Malnutrisi

Terdapat sejumlah faktor yang berpengaruh terhadap pasien dengan gagal hepar. Beberapa faktor tersebut berkaitan dengan proses penyakit itu sendiri, seperti misal asites, menyebabkan perut terasa penuh dan kenyang sebelum makan. Faktor lain berhubungan dengan frekuensi opname, terapi diet yang sangat ketat, dan “makanan rumah sakit”. Sebagai tambahan, terdapat faktor metabolik seperti misalnya peningkatan kecepatan metabolisme, malabsorpsi lemak, dan merusak penimbunan glikogen, itu semua mempercepat terjadinya malnutrisi pada penyakit hepar (Krenitsky, 2003).

Beberapa mekanisme kerusakan hepar yang mengakibatkan malnutrisi adalah sebagai berikut :

1) Penurunan Intake

Kurangnya intake makanan merupakan salah satu penyebab utama malnutrisi dan terjadi pada dua-tiga pasien dengan penyakit hepar kronis. Anoreksia kemungkinan merupakan akibat dari peningkatan kadar *tumor necrotic factor* dan leptin dalam sirkulasi. Pasien dengan penyakit hepar kronis juga mengalami ketelambatan pengosongan lambung dibandingkan dengan kontrol. Pada pasien dengan asites, keluhan yang umum dirasakan adalah perut terasa penuh dan kenyang sebelum makan.



## 2) Gangguan Absorpsi

Penurunan sekresi empedu menyebabkan kolestasis, atau gangguan sintesis empedu hepar kemungkinan dapat merusak pembentukan micelle, yang berperan penting dalam pencernaan lemak oleh enzim pancreas dan luminal. Vitamin larut lemak juga tergantung pada pembentukan micelle. Lebih dari satu-tiga pasien dewasa dengan kolestasis kronik mengalami defisiensi vitamin A, dan 20 - 50% pasien dewasa dengan sirosis bilier primer mengalami defisiensi vitamin D. Insufisiensi kelenjar eksokrin pankreas yang tidak terdiagnosa kemungkinan merupakan faktor lain yang berpengaruh terhadap gangguan absorpsi pada pasien dengan penyakit hepar alkoholik. Pada akhirnya, pasien dengan sirosis telah dilaporkan mengalami peningkatan insidensi pertumbuhan yang berlebihan bakteri pada usus halus. Prevalensi pertumbuhan berlebihan bakteri di usus halus pada pasien dengan sirosis telah didokumentasikan antara 35 dan 60% pasien, yang mana dapat merusak absorpsi nutrisi lebih lanjut.

## 3) Energi yang dikeluarkan

Sisa energi yang dikeluarkan oleh pasien dengan penyakit hepar kronis bervariasi. Pasien dengan hepatitis akut atau gagal hepar tahap lanjut mengalami peningkatan metabolisme. Bagaimanapun, hipermetabolisme bukan merupakan ciri-ciri yang tetap pada sirosis. Lebih tepatnya 18% sirosis dilaporkan dengan hipermetabolisme, dan 30% dengan

hipometabolisme. Deviasi rata-rata antara pengukuran dan perkiraan kehilangan energi adalah 11%, yang mana kurang dari 200 kalori per hari.

#### 4) Perubahan bahan bakar metabolisme

Pasien dengan gagal hepar mengalami “percepatan kelaparan,” dengan pengambilan cepat sumber bahan bakar alternatif. Pasien sirosis mengalami peningkatan signifikan dari oksidasi lemak dan glukoneogenesis dengan katabolisme protein setelah berpuasa semalam. Hal tersebut bisa diambil persamaan pada dewasa sehat kira-kira 72 jam puasa untuk mencapai level yang sama dalam hal oksidasi lemak dan katabolisme protein terhadap pasien sirosis yang berpuasa semalam. Hal ini diyakini bahwa pengurangan timbunan glikogen pada otot dan hepar yang terjadi pada sirosis merupakan faktor yang mempercepat kelaparan. Pasien tanpa penimbunan glikogen yang cukup akan meningkatkan penggunaan lemak dan protein otot sebagai bahan bakar bahkan selama puasa dalam waktu yang singkat. Hal ini berpengaruh terhadap kehilangan lemak subcutan dan pengecilan otot, itu merupakan tanda malnutrisi. Resistensi insulin dan penurunan kadar insulin like growth factor-1 juga dipercaya berpengaruh terhadap pengecilan otot pada sirosis (Krenitsky, 2003).

### 3. Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Daun kelor atau *Moringa oleifera* Lam. (syn. *M. pterygosperma* Gaertn) adalah salah satu tanaman yang paling dikenal dan tersebar luas. Pohon kelor (*Moringa oleifera*) mempunyai tinggi sekitar 5 – 10 meter. Pohon ini didapatkan secara liar atau dibudidayakan, tumbuh subur di daerah tropis, dan sangat banyak di daerah berpasir dekat aliran sungai. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah tropis yang lembab maupun daerah yang bersuhu panas kering, dan tidak banyak dipengaruhi oleh musim. Tanaman ini juga beradaptasi dengan baik pada area dengan curah hujan minimum dengan perkiraan 250 mm dan maksimum lebih dari 3000 mm dan pH 5,0 – 9,0 (Anwar *et al.*, 2007).

#### a. Kandungan Nutrisi Daun Kelor

Saat ini telah banyak informasi mengenai kualitas kandungan gizi kelor baik oleh para ilmuwan maupun pada literatur populer. Siapapun yang familier dengan kelor akan mengenal karakteristik kelor yang dibuat beberapa tahun lalu oleh Trees for Life Organization, yang menyebutkan “ons per ons, daun kelor mengandung vitamin A lebih banyak dibandingkan wortel, mengandung kalsium lebih banyak dibandingkan susu, mengandung zat besi lebih banyak dibandingkan bayam, mengandung vitamin C lebih banyak dibandingkan jeruk, dan mengandung kalium lebih banyak dibandingkan pisang,” dan kualitas protein kelor dapat menyaingi susu dan telur (Fahey, 2005).

Pada berbagai referensi disebutkan mengenai kandungan gizi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang dibandingkan dengan sumber zat gizi lain dalam setiap 100 gram daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam bentuk kering; daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) mengandung vitamin A empat kali lebih banyak daripada wortel, kalsium lebih banyak empat kali dibandingkan susu, besi lebih banyak daripada bayam, vitamin C tujuh kali lebih banyak daripada jeruk, dan kalium tiga kali lebih banyak daripada pisang serta kualitas proteinnya dapat menyaingi susu dan telur (Fahey, 2005).



Gambar 2.6 Kandungan zat gizi daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dibandingkan dengan sumber zat gizi lain dalam setiap 100 gram *edible portion*.

Kelor dilaporkan memiliki kualitas protein tinggi yang mudah dicerna dan hal ini dipengaruhi oleh kualitas asam amino (Foidl *et al.*, 2001 *cit* Moyo *et al.*, 2011). Dalam penelitian Moyo dkk (2011) daun kelor kering mengandung 19 asam amino. Dari 19 asam amino tersebut, 10 diantaranya diklasifikasikan sebagai asam amino esensial yang diberi nama threonine, tyrosine, methionine, valine, phenylalanine, isoleucine, leucine, histadine, lysine and tryptophan. Methionine dan cystein merupakan antioksidan kuat

yang membantu detoksifikasi zat-zat berbahaya dan melindungi tubuh dari radikal bebas (Brisibe *et al.*, 2009 cit Moyo *et al.*, 2011). HO-Proline adalah komponen utama protein kolagen, yang memainkan peranan penting dalam stabilitas kolagen. Variasi komposisi asam amino dapat dipengaruhi oleh kualitas protein dan keaslian tanaman (dibudidayakan atau hidup liar). Kemungkinan hal ini mengindikasikan bahwa kelor tumbuh pada tanah yang subur. Biasanya tanaman yang dibudidayakan akan tumbuh lebih subur, yang mana mempengaruhi kualitas protein (Sanchez-Machado *et al.*, 2009 cit Moyo *et al.*, 2011).

Tabel 2.3 Komposisi asam amino daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam bentuk kering

No.	Asam amino	Kuantitas (mean+/- %)	Standar error
1	Arginine	1,78	0,010
2	Serine	1,087	0,035
3	Asam aspartat	1,43	0,045
4	Asam glutamate	2,53	0,062
5	Glisin	1,533	0,060
6	Threonin*	1,357	0,124
7	Alanin	3,033	0,006
8	Tyrosin*	2,650	0,015
9	Proline	1,203	0,006
10	HO-Proline	0,093	0,006
11	Methionine*	0,297	0,006
12	Valine*	1,413	0,021
13	Phenylalanine*	1,64	0,006
14	Isoleucine*	1,177	0,006
15	Leucine*	1,96	0,010
16	Histidine*	0,716	0,006
17	Lysine*	1,637	0,006
18	Cysteine	0,01	0,000
19	Tryptophan*	0,486	0,001

\* Asam amino esensial umum

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia telah menyatakan bahwa tanaman kelor ini aman dan berkhasiat untuk dikonsumsi, terbukti daun kelor telah masuk dalam *Guidelines for The Use of Herbal Medicines in Family Health Care* tahun 2010 sebagai tanaman yang bermanfaat dalam mengatasi anemia dan malnutrisi karena kandungan gizinya yang tinggi, antara lain vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin C, E, K, magnesium, potassium, besi dan protein (9 asam amino esensial).

b. Daun Kelor dan Malnutrisi

Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) adalah tanaman yang banyak dijumpai di daerah tropis dan subtropis. Daun kelor memiliki potensi sebagai sumber utama beberapa nutrient dan elemen therapeutic, termasuk anti inflamasi, antibiotik, dan memacu sistem imun. Daun kelor memiliki kandungan zat besi dan protein tinggi yang memiliki potensi terapi suplementasi untuk anak-anak malnutrisi. Penambahan kelor pada diet harian anak-anak mampu melakukan recovery secara cepat karena mengandung 40 nutrient esensial. Daun pohon kelor menjadi sumber dari banyak nutrient yang diduga mampu mengatasi malnutrisi di daerah yang beriklim tropis dan subtropis (Fuglie, 2001 *cit* Susanto, 2011).

Tanaman kelor telah lama digunakan untuk mengatasi malnutrisi, khususnya pada bayi dan ibu menyusui. Tiga organisasi dunia dalam hal ini – Trees for Life, Church World Service dan Educational Concerns for Hunger Organization – telah menganjurkan kelor sebagai “zat gizi alami pada daerah



tropis.” Daun kelor dapat dimakan dalam keadaan segar, dimasak, atau disimpan dalam bentuk serbuk kering untuk beberapa bulan tanpa pendinginan, dan dilaporkan tidak mengalami penurunan kandungan zat gizi di dalamnya. Kelor sangat menjanjikan sebagai sumber makanan pada daerah tropis karena tanaman kelor akan tumbuh subur justru pada akhir musim kemarau, dimana tanaman lain sangat langka didapatkan (Fahey, 2005).

Lowell Fuglie (2001) dalam catatannya menyebutkan kelor sebagai “nutrisi penyelamat jiwa”, hal ini mengingat kandungan nutrisi daun kelor yang sangat tinggi sehingga konsumsi serbuk daun kelor sangat dianjurkan pada situasi dimana bahaya kelaparan mengancam (Fahey, 2005).

Hampir semua bagian dari tanaman ini baik akar, batang, getah, daun, buah (polong), biji dan minyak biji dapat dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai macam penyakit di Asia, termasuk untuk pengobatan inflamasi dan penyakit infeksi serta gangguan kardiovaskular, gastrointestinal, hematologi dan hepatorenal (Siddhuraju *et al.*, 2003 *cit* Anwar *et al.*, 2006).

Indikator laboratorium yang dapat dijadikan untuk uji sensitivitas status gizi individu dan spesifik untuk intake nutrisi antara lain albumin (Bahn, 2006). Albumin memiliki half life yang cukup panjang yaitu 14-20 hari dan benar-benar mampu untuk menjadi marker status nutrisi kronik. Salah satu tanaman di Indonesia yang memiliki potensi besar untuk solusi dalam upaya penanganan kasus malnutrisi adalah tanaman kelor (Fuglie, 2001 *cit* Susanto, 2011).

### c. Mekanisme Hepatoprotektif Daun Kelor

Penyakit hepar merupakan masalah yang mendunia. Obat yang digunakan dalam pengobatan penyakit hepar terkadang kurang kuat dan dapat menyebabkan efek samping yang serius. Oleh karena itu, perlu penelitian terhadap obat alternatif untuk pengobatan penyakit hepar sehingga dapat mengganti obat-obat yang digunakan saat ini yang diragukan keamanannya. (Ozbek *et al.*, 2004 *cit* Buraimoh *et al.*, 2011.). Dengan tidak terdapatnya obat hepatoprotektif dalam dunia medis yang dapat dipercaya, herbal memegang peranan penting dalam penanganan berbagai gangguan hepar. Bagaimanapun, kita belum mendapatkan pengobatan yang memuaskan terhadap penyakit hepar yang serius; sebagian besar obat herbal mempercepat proses penyembuhan hepar secara alami, sehingga penelitian terhadap efektifitas obat hepatoprotektif herbal perlu lebih banyak dilakukan (Buraimoh *et al.*, 2011).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) telah masuk dalam daftar tanaman herbal yang memiliki aktivitas hepatoprotektif dengan efek penurunan kadar ALT, AST, ALP dan peningkatan GSH secara signifikan, serta efek perbaikan histopatologi yang bermakna (Deshwal *et al.*, 2010).

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dilaporkan memiliki aktivitas hepatoprotektif. Ekstrak aqueous dan ethanolic dari daun kelor juga didapatkan memiliki efek hepatoprotektif yang signifikan, yang mana efek tersebut didapatkan dari kandungan quercetin, yang dikenal baik sebagai golongan flavonoid dengan aktivitas hepatoprotektif (Anwar *et al.*, 2007).

Efek perlindungan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap enzim hepar, lipid peroksidase, dan antioksidan telah diteliti selama penggunaan obat antituberkulosis (isoniazid, rifampisin, dan pirazinamid) yang menginduksi toksisitas pada tikus. Peningkatan enzim hepar dan lipid peroksidase akibat pengobatan antituberkulosis diikuti dengan penurunan secara signifikan kadar vitamin C, glutathione, glutathione peroksidase, glutathione S-transferase, superoxide dismutase, catalase. Penggunaan ekstrak daun kelor (*M. oleifera* Lam.) dan silymarin secara signifikan menurunkan enzim hepar dan lipid peroksidase secara simultan meningkatkan kadar antioksidan. Diperkirakan efek perlindungan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) adalah dengan melalui penurunan lipid peroksidase dan meningkatkan antioksidan (Kumar *et al.*, 2004).

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dilaporkan merupakan sumber yang kaya akan  $\beta$ -carotene, protein, vitamin C, kalsium dan potasium dan berperan sebagai sumber antioksidan alami yang baik. (Dillard *et al.*, 2000 cit Anwar *et al.*, 2006). Penelitian terhadap ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan efek antiulcerogenic dan hepatoprotektif pada tikus, hal ini karena daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki kandungan quercetin, yang dikenal sebagai flavonoid yang memiliki efek hepatoprotektif (Gilani *et al.*, 1997 cit Anwar *et al.*, 2006).

Flavonoid merupakan kelompok tanaman alami yang tersebar luas sebagai metabolit sekunder dalam kingdom tanaman. Mereka dikenal memiliki kemampuan klinis, seperti aktivitas antiinflamasi, antialergi, antivirus,

antibakteri, dan antitumor. Pada kenyataannya, efek farmakologi beberapa obat tradisional disebutkan memiliki komposisi flavonoid, yang mana flavonoid tersebut berkemampuan menghambat enzim-enzim tertentu dan memiliki aktivitas antioksidan (Molina *et al.*, 2003).

Salah satu dari flavonoid-flavonoid ini diantaranya adalah quercetin (3, 5, 7, 39, 49 - pentahydroxyflavone), mencegah kerusakan oksidasi dan kematian sel melalui beberapa mekanisme, seperti misalnya *scavenging oxygen radikal* yang melindungi lipid peroksidase. Beberapa peneliti telah mendemonstrasikan quercetin, ketika digunakan bersamaan dengan ethanol, dapat menurunkan insidensi perlemakan hati yang disebabkan oleh ethanol dan lipid peroksidase, hal ini menunjukkan bahwa efek gastroprotektif quercetin bisa didapatkan dari efek antiperoksidase, antioksidan, dan antihistamin. Dari percobaan telah dibuktikan bahwa beberapa efek merusak ethanol disebabkan oleh induksi proses metabolik yang mengawali peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS). Di dalam hepatosit, ROS dibangkitkan, sebagai konsekuensi dari metabolisme ethanol menjadi acetaldehyde, sebagian besar melewati campur tangan *ethanol-inducible sitokrom P450* (CYP2E1) (Molina *et al.*, 2003).

Organisme memiliki berbagai macam sistem pertahanan antioksidan seluler terhadap ROS. Sistem enzim antioksidan endogen utama termasuk diantaranya *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *selenium-dependent glutathione peroxidase* (GPx-Se), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *glutathione reductase* (GR). Antioksidan endogen nonenzimatik utama

termasuk diantaranya direduksi dari glutathione (GSH) dan vitamin E. Bagaimanapun, ethanol atau metabolitnya dapat mengubah keseimbangan redoks dalam hepar ke tingkat yang lebih mengoksidasi, baik melalui aksinya sebagai prooksidan maupun menurunkan kemampuan pertahanan sel terhadap antioksidan (Molina *et al.*, 2003).

Penggunaan oksigen dalam metabolisme berhubungan dengan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS, seperti misalnya  $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO$ ) yang dapat mengoksidasi makromolekul dan merusak sel. Modifikasi redox protein dapat menurunkan aktivitas enzim-enzim penting dan faktor transkripsi yang kemungkinan berperan penting dalam jalur apoptosis dan kemampuan daya tahan sel. Glutathione tripeptida (GSH) adalah antioksidan utama dan pengatur redox dalam sel yang berperan penting dalam melawan oksidasi seluler. Sel membutuhkan energi yang sangat besar untuk menjaga GSH tereduksi dalam kadar tinggi, yang membantu protein tetap dalam kondisi tereduksi. Obat, infeksi dan inflamasi pada hepar dapat meningkatkan pembentukan ROS dan/atau menurunkan kadar GSH dan menyebabkan pergeseran status redox seluler hepatosit menjadi lebih teroksidasi. Perubahan keseimbangan normal redox dapat mengubah jalur apoptosis hepatosit dan kemungkinan merupakan mekanisme penting dalam patogenesis beberapa penyakit hepar (Han *et al.*, 2006).



## B. PENELITIAN YANG RELEVAN

Penelitian yang dilakukan oleh Kumar dkk pada tahun 2004 yang berjudul Antioxidant Action of *Moringa oleifera* Lam. (Drumstick) Against Antitubercular Drugs Induced Lipid Peroxidation in Rats, memiliki relevansi terhadap penelitian ini. Adapun penelitian Kumar dkk (2004) tersebut adalah sebagai berikut.

Efek perlindungan *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) terhadap enzim penanda kerusakan hepar, peroksidasi lipid, dan antioksidan telah diteliti selama penggunaan obat anti-tuberkulosis (isoniazid, rifampicin, dan pirazinamid) yang dipakai untuk menginduksi toksisitas pada tikus. Peningkatan kadar enzim penanda kerusakan hepar dan peroksidasi lipid pada pengobatan obat anti-tuberkulosis disertai dengan penurunan signifikan kadar vitamin C, penurunan glutathione, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroksidase, dan glutathione S-transferase. Konsumsi ekstrak *Moringa oleifera* dan silymarin secara signifikan menurunkan enzim penanda kerusakan hepar dan peroksidasi lipid dimana dalam waktu yang bersamaan meningkatkan kadar antioksidan. Sehingga diperkirakan ekstrak *Moringa oleifera* Lam. memiliki efek perlindungan hepar melalui penurunan peroksidasi lipid dan peningkatan antioksidan (Kumar *et al.*, 2004).

Penelitian mengenai aktivitas hepatoprotektif daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap kerusakan hepar yang dipicu oleh acetaminophen dosis tinggi, telah dilakukan oleh Fakurazi *et al.* (2008). Tikus Sprague Dawley



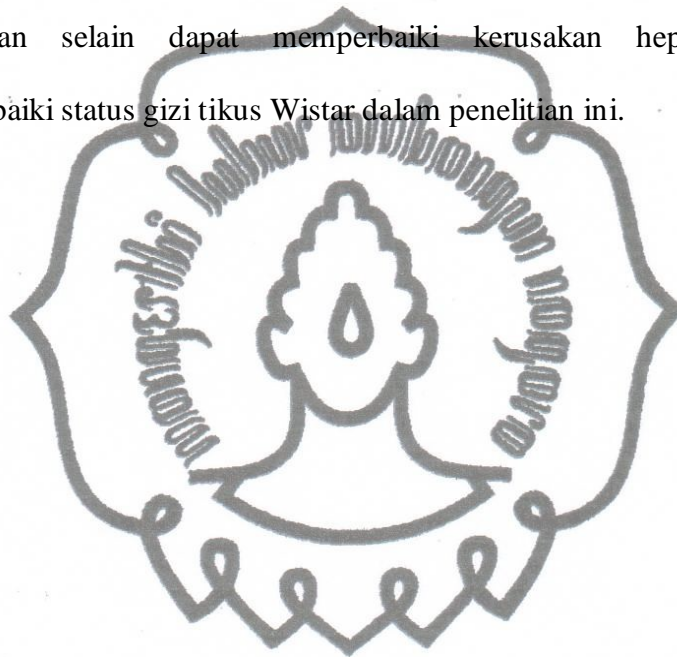
jantan diberikan dosis (3000 mg/kg; p.o.) untuk merusak sel hepar. Tikus yang diterapi dengan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) (200 dan 800 mg/kg; p.o.) selama 14 hari sebelum diberikan terapi acetaminophen, didapatkan penurunan enzim hepar (ALT, AST, ALP) dan juga peningkatan kadar glutathione. Hasil biokimia tampak berbanding lurus dengan analisis histopatologi yang mana potongan hepar dari tikus yang sebelumnya diterapi dengan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), kerusakannya diblokir. Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sendiri secara signifikan dapat meningkatkan kadar glutathione dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penemuan ini menunjukkan bahwa daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) merupakan produk yang menjanjikan untuk dimanfaatkan sebagai pelindung hepar terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh acetaminophen melalui pembentukan dan peningkatan kadar glutathione dalam hepar.

Penelitian serupa telah dilakukan oleh Zude Eminzade dkk dari Fakultas Farmasi, Universitas Marmara, Istanbul, Turki pada tahun 2008. Namun penelitian yang dilakukan oleh Zude Eminzade dkk menggunakan ekstrak tanaman Sylimarin, yang merupakan ekstrak tanaman standar dengan aktivitas antioksidan kuat yang dihasilkan dari *S. marianum*, dimana dikenal luas memiliki zat yang efektif melindungi hepar dan meregenerasi sel-sel hepar. Penelitian Zude Eminzade bertujuan untuk mengetahui efek perlindungan Sylimarin terhadap hepatotoksisitas yang diakibatkan oleh berbagai macam kombinasi obat anti-tuberkulosis. Tikus Wistar yang digunakan dalam penelitian tersebut diinjeksi intra-peritoneal dengan isoniazid

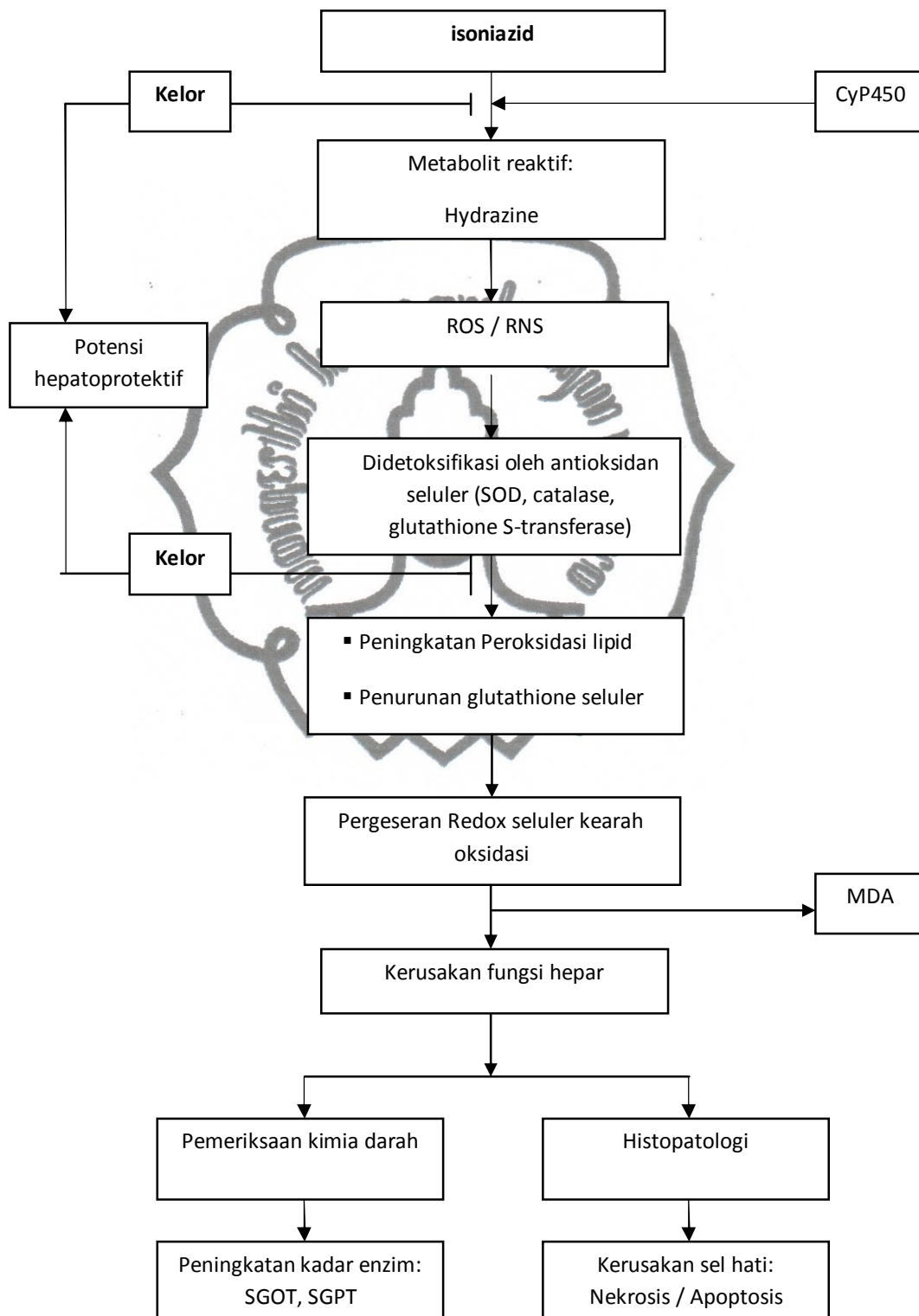
(50 mg/kg) dan rifampicin (100 mg/kg); serta pemberian pyrazinamid (350 mg/kg) dan Sylimarin (200 mg/kg) secara intra-gastric. Adapun hepatotoksisitas diinduksi dengan menggunakan kombinasi obat isoniazid-rifampicin dan isoniazid-rifampicin-pirazinamid. Efek hepatotoksisitas akibat kombinasi obat-obat anti-tuberkulosis di atas ditunjukkan dengan peningkatan kadar serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) dan bilirubin total; sementara kadar albumin dan protein total menurun. Secara bersamaan pemberian Sylimarin dapat menurunkan kadar serum ALT, AST, ALP, dan bilirubin total; serta meningkatkan kadar albumin dan protein total. Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwasanya komponen aktif Sylimarin memiliki efek proteksi terhadap reaksi hepatotoksisitas dari obat kemoterapi tuberkulosis pada hewan percobaan. Selama tidak didapatkan toksisitas yang signifikan, Sylimarin pada penelitian yang dilakukan terhadap manusia, dilaporkan ekstrak tanaman ini dapat digunakan sebagai makanan suplemen pada pasien dengan pengobatan anti-tuberkulosis.

Pada tahun 2011 Susanto dan Maslikah melakukan penelitian tentang efek nutrisi tepung daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) varietas NTT terhadap kadar albumin tikus Wistar kurang energi protein (KEP). Dalam penelitian tersebut disebutkan bahwa tepung daun kelor dengan dosis 720 mg/hari dapat meningkatkan berat badan dan kadar albumin serum, yang merupakan indikator adanya peningkatan status gizi pada tikus model KEP. Hal ini dimungkinkan karena daun kelor memiliki kandungan protein lengkap

(mengandung 9 asam amino esensial), kalsium, zat besi, kalium, magnesium, dan vitamin A, C, E serta B yang memiliki peran besar pada sistem imun. Penelitian ini relevan dengan penelitian yang penulis lakukan, yaitu pada tikus dengan kerusakan hepar akibat obat antituberkulosis akan mengalami malnutrisi atau penurunan status gizi. Dengan penggunaan ekstrak kelor diharapkan selain dapat memperbaiki kerusakan hepar, juga dapat memperbaiki status gizi tikus Wistar dalam penelitian ini.

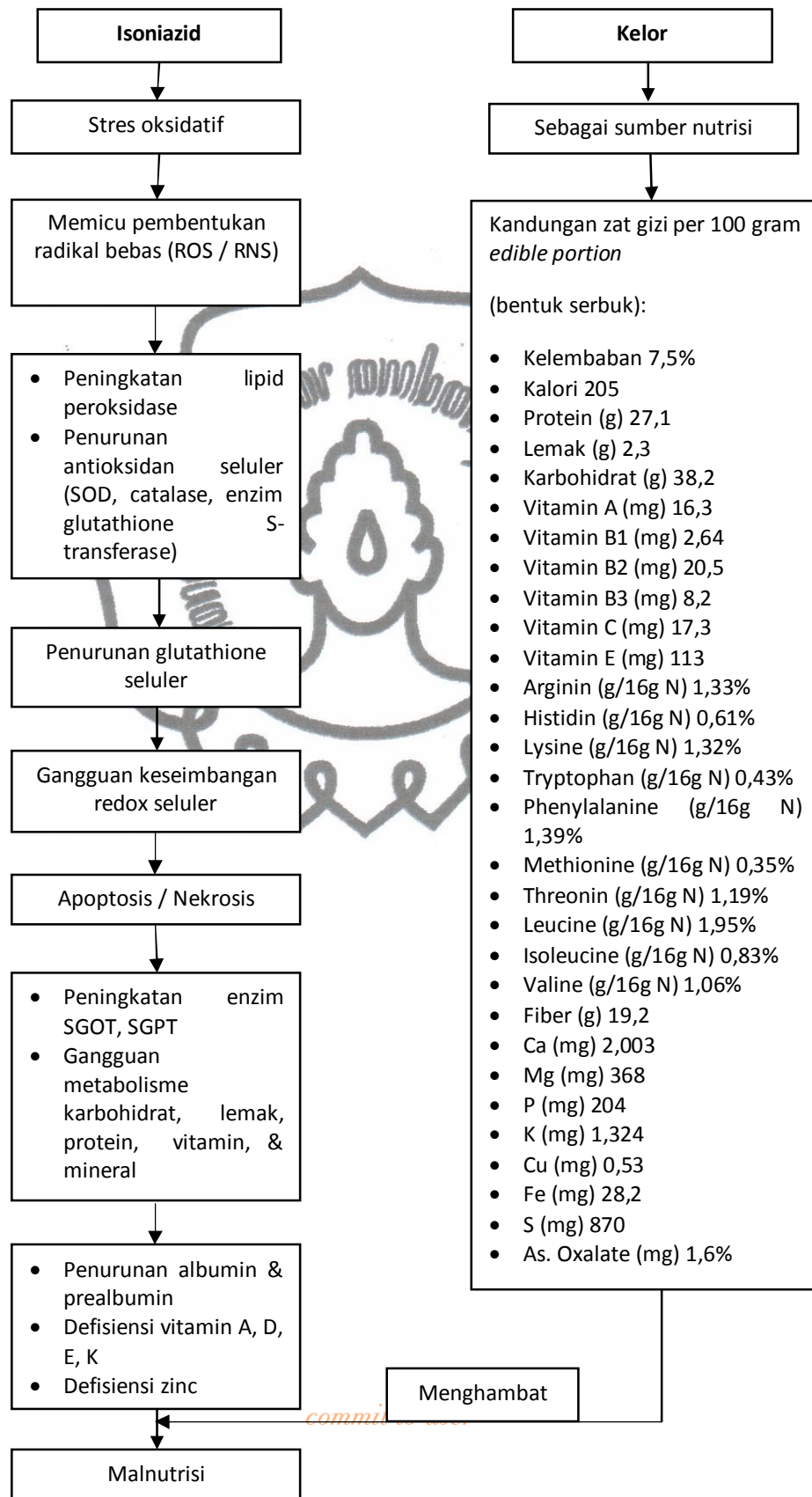


### C. KERANGKA BERPIKIR



Gambar 2.8 Mekanisme daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam mengatasi kerusakan hepar akibat obat isoniazid







Gambar 2.9 Mekanisme daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam mengatasi malnutrisi akibat kerusakan hepar

#### D. HIPOTESIS PENELITIAN

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hepar akibat obat isoniazid.



### **BAB III**

## **METODE PENELITIAN**

### **A. TEMPAT DAN WAKTU**

1. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia.
2. Pemeriksaan darah fungsi hepar dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. Moewardi, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia.
3. Tikus jantan galur wistar diambil dari Fakultas Farmasi Universitas Setya Budi Surakarta. Demikian pula dengan pembuatan ekstrak daun kelor pada penelitian ini dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Setya Budi Surakarta.
4. Bahan baku daun kelor diambil dari desa Candi, kecamatan Ampel, kabupaten Boyolali, Jawa Tengah.
5. Waktu penelitian selama 3 bulan, pada bulan Februari – Mei 2012.

### **B. JENIS PENELITIAN**

Jenis penelitian ini analitik eksperimental.

### C. SUBJEK PENELITIAN

Tikus putih jantan galur Wistar dengan berat badan 200 – 300 gram.

### D. VARIABEL PENELITIAN

#### 1. Variabel Bebas

Perlakuan pemberian daun kelor yang terdiri atas 6 kelompok sebagai berikut :

- a. Kelompok I adalah kelompok kontrol, dimana sampel tidak diberi perlakuan obat antituberkulosis oral isoniazid dan daun kelor selama 28 hari.
- b. Kelompok II adalah kelompok kontrol hepatotoksin, dimana sampel hanya diberikan obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) tanpa pemberian daun kelor selama 28 hari.
- c. Kelompok III adalah kelompok perlakuan dengan pemberian daun kelor (200 mg/kg) selama 28 hari yang mengawali pemberian obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) pada 28 hari berikutnya.
- d. Kelompok IV adalah kelompok perlakuan dengan pemberian daun kelor (800 mg/kg) selama 28 hari yang mengawali pemberian obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) pada 28 hari berikutnya.
- e. Kelompok V adalah kelompok perlakuan dengan pemberian obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) dan daun kelor (200 mg/kg) secara bersamaan selama 28 hari.

- f. Kelompok VI adalah kelompok perlakuan dengan pemberian obat antituberkulosis isoniazid (50 mg/kg) dan daun kelor (800 mg/kg) secara bersamaan selama 28 hari (Eminzade *et al.* 2008, Fakurazi *et al.* 2008, Susanto *et al.*, 2011).

2. Variabel Terikat

- a. SGOT
- b. SGPT
- c. Albumin
- d. Gambaran histopatologi hepar

**E. DEFINISI OPERASIONAL**

1. Variabel bebas :

- a. Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Daun kelor yang digunakan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk ekstrak. Adapun prosedur ekstraksi yang digunakan adalah sebagai berikut:

- 1) Daun kelor dikeringkan pada suhu ruang, terhindar dari sinar matahari langsung dan tidak terkena pemanasan suhu tinggi, hal ini bertujuan untuk menghindari kerusakan zat aktif yang terkandung dalam kelor. Setelah dikeringkan kemudian daun kelor tersebut ditumbuk menjadi tepung (Kasolo *et al.*, 2010).

- 2) Tepung kelor sebanyak 100 gram diekstraksi menggunakan 1000 mL larutan *hidroalcoholic* 80% (80% ethanol : 20% air distilata). Ekstrak yang terbentuk kemudian disaring dan dikonsentrasikan menggunakan *rotary evaporator* dibawah tekanan menurun pada suhu 40° C. akhirnya didapatkan massa berwarna hijau terang (Fakurazi *et al.*, 2008).

Skala data : nominal

- b. Perlakuan pemberian daun kelor yang terdiri atas 6 kelompok sebagai berikut :

- 1) Kelompok I adalah kelompok kontrol, dimana sampel tidak diberi perlakuan obat antituberkulosis dan daun kelor selama 28 hari.
- 2) Kelompok II adalah kelompok kontrol hepatotoksin, dimana sampel hanya diberikan obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) tanpa pemberian daun kelor.
- 3) Kelompok III adalah kelompok perlakuan dengan pemberian daun kelor (200 mg/kg) selama 28 hari yang mengawali pemberian obat antituberkulosis oral (isoniazid 50 mg/kg) pada 28 hari berikutnya.
- 4) Kelompok IV adalah kelompok perlakuan dengan pemberian daun kelor (800 mg/kg) selama 28 hari yang mengawali pemberian obat antituberkulosis oral (isoniazid 50 mg/kg) pada 28 hari berikutnya.
- 5) Kelompok V adalah kelompok perlakuan dengan pemberian obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) dan daun kelor (200 mg/kg) selama 28 hari.

- 6) Kelompok VI adalah kelompok perlakuan dengan pemberian obat antituberkulosis oral isoniazid (50 mg/kg) dan daun kelor (800 mg/kg) selama 28 hari (Eminzade *et al.* 2008, Fakurazi *et al.* 2008, Susanto *et al.*, 2011).

2. Variabel terikat :

a. SGOT dan SGPT

Dua macam enzim yang paling sering dihubungkan dengan kerusakan sel hepar termasuk dalam golongan aminotransferase, yakni enzim-enzim yang mengkatalisis pemindahan gugusan amino secara reversibel antara asam amino dan asam alfa-keto. Kadar transaminase serum dalam penelitian ini diukur dengan metode kalorimetrik.

Aspartat amino-transferase (AST) atau glutamat-oksaloasetat transaminase (GOT) adalah enzim sitolitik, mengerjakan reaksi antara aspartat dan asam alfa-ketoglutamat. Harga normal tertinggi AST (GOT) adalah 40 U Karmen (17 mU/cc).

Alanine aminotransferase (ALT) atau glutamate-piruvat transaminase (GPT) adalah enzim mikrosomal, menyelenggarakan reaksi serupa antara alanine dan asam alfa-ketoglutamat. Harga normal tertinggi ALT (GPT) adalah 35 U Karmen (13 mU/cc) (Husadha 1998, Widmann 1995).

Skala data : rasio.



b. Albumin

Albumin adalah salah satu protein serum yang disintesis dalam sel-sel parenkim hepar. Perubahan fraksi protein yang paling banyak terjadi pada penyakit hepar adalah penurunan kadar albumin. Teknik pemeriksaan kadar albumin serum dalam penelitian ini menggunakan teknik penggaraman (*salting out*). Cara pemeriksaan ini berdasarkan pada reaksi antara basa dengan protein yang menghasilkan garam dan menimbulkan warna tertentu, kemudian diukur secara kalorimetrik. Adapun nilai albumin serum normal dengan teknik penggaraman adalah 3,5-5,0 g% (Husadha, 1998).

Skala data : rasio.

c. Gambaran histopatologi hepar

Pada gambaran histopatologi hepar tikus yang mengalami kerusakan akibat pemberian obat antituberkulosis akan tampak adanya infiltrasi sel limfosit dan neutrofil, sel hepatosit yang nekrosis (piknosis, karioreksis, kariolisis), steatosis dan sinusoid yang mengalami obliterasi (Wilson, 2006, Buraimoh *et al.*, 2010).

Skala data : kategorikal.

## F. TEKNIK SAMPLING

Penghitungan jumlah sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus sampel untuk hewan percobaan sebagai berikut :

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

n : besarnya sampel dalam kelompok perlakuan

t : banyaknya kelompok perlakuan

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan pada penghitungan rumus di atas didapatkan jumlah sampel tikus adalah lebih banyak atau sama dengan 4 ekor. Untuk mengantisipasi kejadian *drop out*, maka dalam penelitian ini peneliti menggunakan 7 sampel tikus pada kelompok II-VI sementara pada kelompok I menggunakan 5 sampel tikus karena hanya merupakan kelompok kontrol positif, jadi jumlah total sampel adalah 40 ekor tikus.

## G. PROSEDUR PELAKSANAAN PENELITIAN

### 1. Tahap Persiapan

#### a. Persiapan pada daun kelor :

- 1) Daun kelor dikeringkan pada suhu ruang, terhindar dari sinar matahari langsung dan tidak terkena pemanasan suhu tinggi, hal ini bertujuan untuk menghindari kerusakan zat aktif yang terkandung dalam kelor.

Setelah dikeringkan kemudian daun kelor tersebut ditumbuk menjadi tepung (Kasolo *et al.*, 2010).

- 2) Tepung kelor sebanyak 100 gram diekstraksi menggunakan 1000 mL larutan *hidroalcoholic* 80% (80% ethanol : 20% air distilata). Ekstrak yang terbentuk kemudian disaring dan dikonsentrasikan menggunakan *rotary evaporator* dibawah tekanan menurun pada suhu 40° C. akhirnya didapatkan massa berwarna hijau terang (Fakurazi *et al.*, 2008).

b. Persiapan pada tikus sebelum uji aktivitas :

Tikus putih galur Wistar diadaptasi dalam kandangnya selama satu minggu. Sekam sebagai alas kandangnya diganti dengan yang baru. Tiap kandang (ukuran 35 x 25 x 20 cm) berisi 3 - 4 ekor tikus dengan jenis kelamin yang sama. Makan dan minum diberikan *ad libitum*. Kandang ditempatkan dalam ruangan dengan kondisi terang-gelap yang seimbang dan suhu ruang yang terjaga.

Adapun pakan tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelet produksi PT Wirifa Sakti, Surabaya, dengan bahan baku yang dipakai antara lain jagung, katul, polar, tepung ikan, tepung tulang, DKK, DCP, CPO, vitamin dan mineral. Berdasarkan analisa laborat, komposisi pelet tersebut yaitu air maksimal 11%, protein minimal 10%, lemak minimal 30%, serat kasar maksimal 8%, abu maksimal 25%.

## 2. Tahap Pelaksanaan

Uji aktivitas hepatoprotektif :

Dalam penelitian ini peneliti menggunakan 40 ekor tikus Wistar dewasa jantan dengan berat antara 200 – 280 gram yang dibagi menjadi 6 kelompok sebagai berikut:

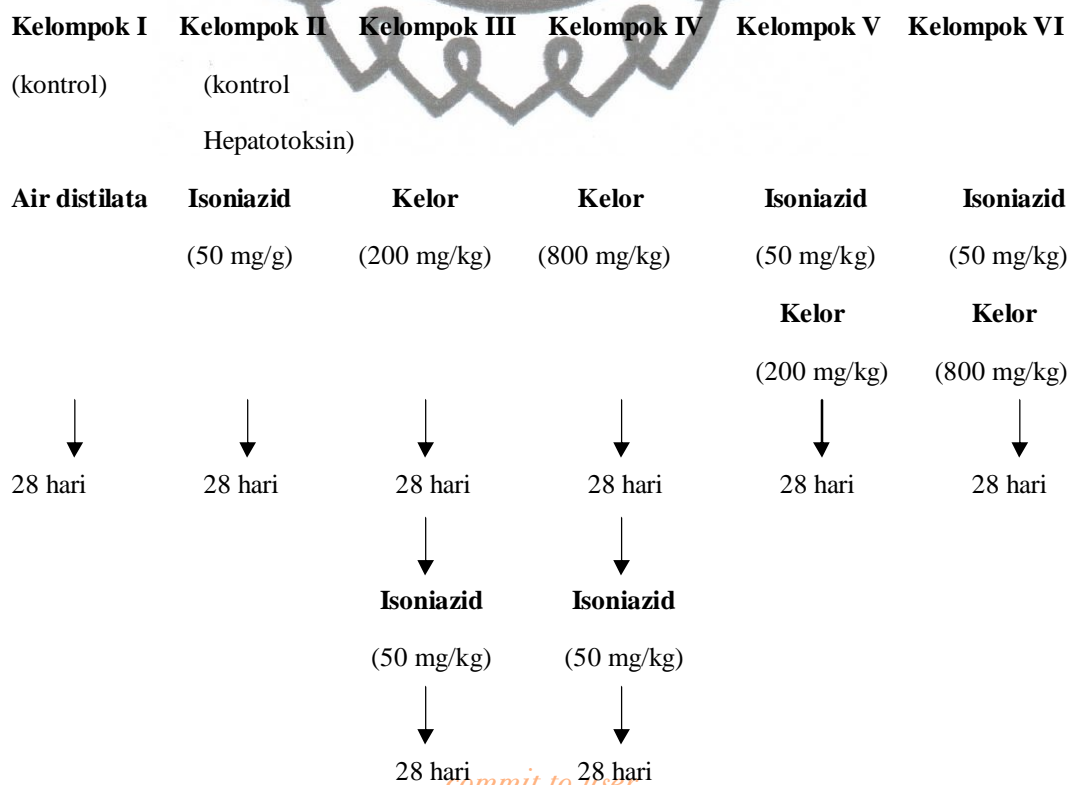
- a. Kelompok I adalah kelompok kontrol, diberikan air distilata selama 28 hari.
- b. Kelompok II adalah kelompok kontrol hepatotoksin, yang diberikan isoniazid oral (50 mg/kg) dengan dosis satu kali sehari tanpa pemberian daun kelor selama 28 hari.
- c. Kelompok III adalah kelompok perlakuan dengan pemberian daun kelor (200 mg/kg) selama 28 hari, kemudian dilanjutkan dengan isoniazid oral (50 mg/kg) dengan dosis satu kali sehari juga selama 28 hari.
- d. Kelompok IV adalah kelompok perlakuan dengan pemberian kelor (800 mg/kg) selama 28 hari, kemudian dilanjutkan dengan isoniazid oral (50 mg/kg) dengan dosis satu kali sehari juga selama 28 hari.
- e. Kelompok V adalah kelompok perlakuan dengan isoniazid oral (50 mg/kg) dengan dosis satu kali sehari serta ditambah pemberian daun kelor (200 mg/kg) selama 28 hari.
- f. Kelompok VI adalah kelompok perlakuan dengan isoniazid oral (50 mg/kg) dengan dosis satu kali sehari serta ditambah daun kelor (800 mg/kg) selama 28 hari (Eminzade *et al.* 2008, Fakurazi *et al.* 2008, Susanto *et al.*, 2011).

Dalam penelitian ini obat antituberkulosa yang digunakan sebagai perusak hepar hanya isoniazid, hal ini didasarkan pada penelitian meta-analisis yang menyatakan bahwa dari beberapa regimen obat antituberkulosis yang memiliki insidensi kerusakan hepar tertinggi adalah terapi kombinasi isoniazid dan

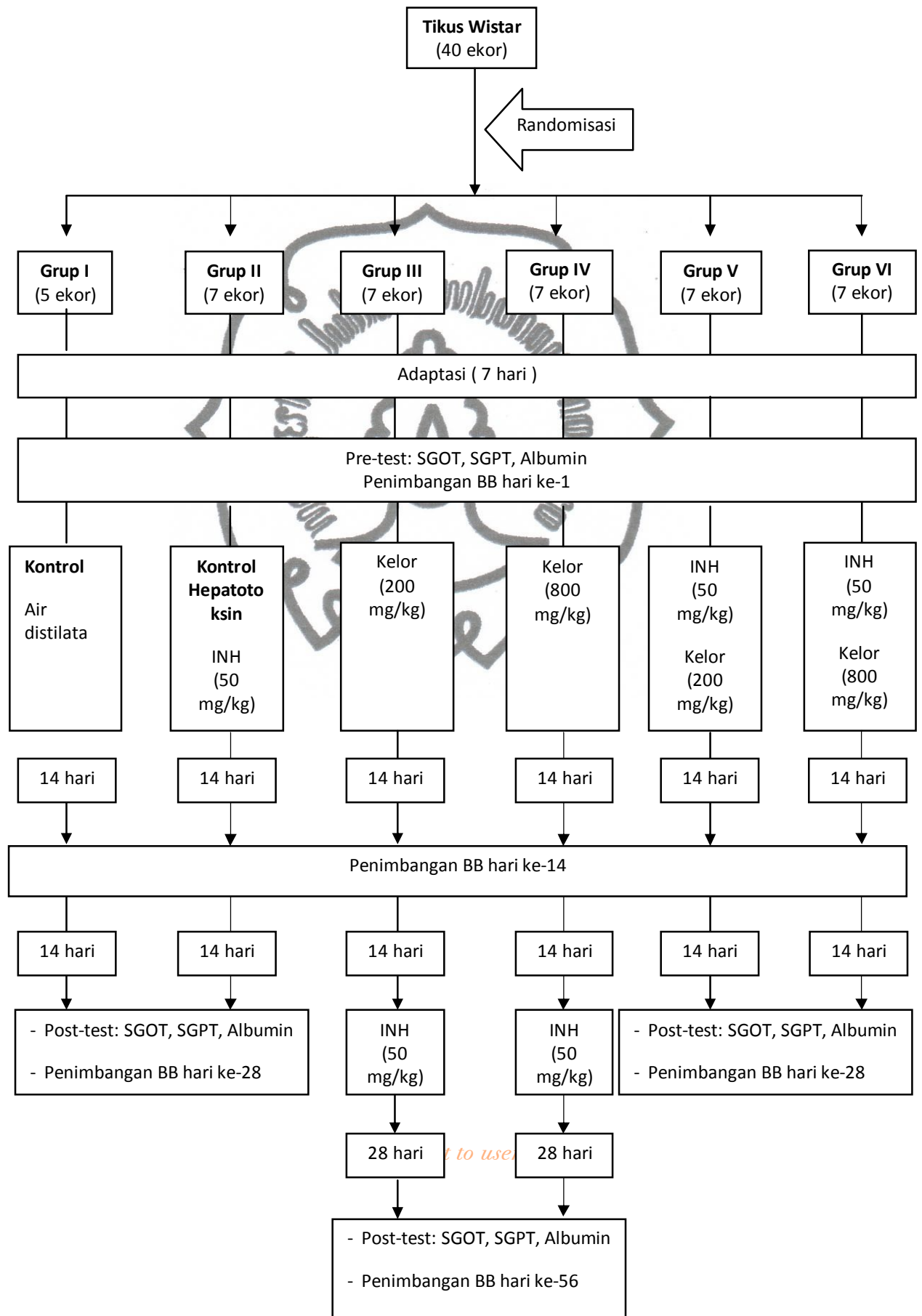
rifampicin yaitu 2-6% serta 1,6% pada penggunaan isoniazid tunggal (Swamy et al., 2010). Sementara obat antituberkulosa yang lain seperti pirazinamid dan ethambutol tidak menimbulkan efek hepatotoksik baik dikonsumsi secara tunggal maupun kombinasi (Eminzade et al., 2008).

Adapun obat antituberkulosa yang digunakan dalam penelitian ini adalah isoniazid 50 mg/kg yang diberikan selama 28 hari, dimana hal ini berdasarkan pada penelitian serupa yang dilakukan oleh Swamy et al. (2010) yang menyatakan bahwa isoniazid dengan dosis 50 mg/kg selama 28 hari telah menimbulkan efek hepatotoksik pada tikus Wistar.

## H. RANCANGAN PENELITIAN



## I. ALUR PENELITIAN





## J. TEKNIK PENGUMPULAN DATA

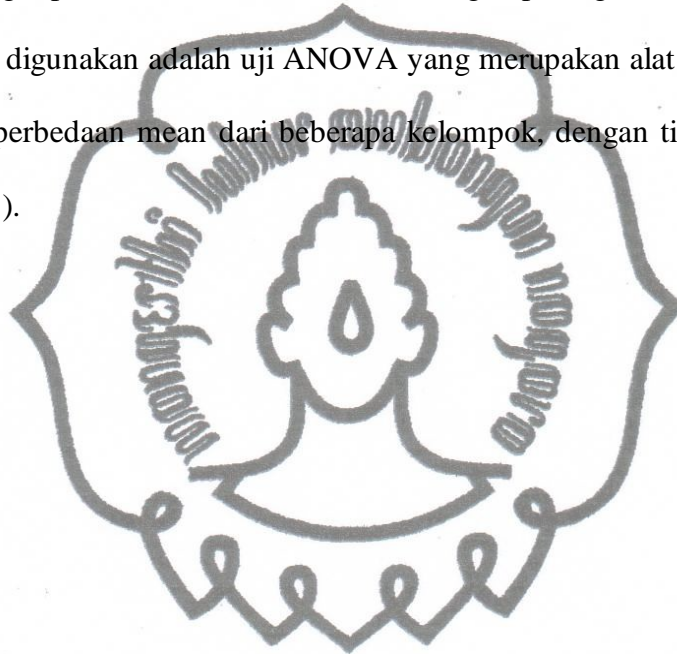
1. Sebelum perlakuan, sampel darah pada hewan percobaan diambil dari pembuluh darah vena pre-orbital masing-masing tikus untuk menilai fungsi hepar sebelum diberi perlakuan. Kemudian untuk menilai ada tidaknya malnutrisi dilakukan penimbangan berat badan tikus pada hari ke-1 penelitian.
2. Pada hari ke-14 penelitian dilakukan penimbangan berat badan tikus untuk memonitor kondisi nutrisi masing-masing tikus.
3. Satu hari setelah perlakuan berakhir, pada hari ke-28 (kelompok I, II, V, VI) dan hari ke-56 (kelompok III dan IV), berat badan tikus ditimbang, kemudian diambil darah vena pre-orbital masing-masing tikus untuk menilai fungsi hepar pada akhir penelitian. Kemudian hewan percobaan dianestesi dengan injeksi *intra-peritoneal* ketamin dosis tinggi, setelah itu hewan percobaan dimatikan dengan cara dianestesi menggunakan kloroform yang disungkupkan ke hidung (Buraimoh *et al.*, 2010).
4. Hepar diambil dan dicuci dengan *ice-cold saline* untuk menghilangkan darahnya, kemudian ditimbang. Potongan lobus median hepar dari masing-masing kelompok diambil dan difiksasi dalam formalin 10% kemudian diembeding dalam parafin. Potongan hepar dengan ketebalan 3-4  $\mu\text{m}$  disiapkan sesuai dengan prosedur standard dan pewarnaan dengan menggunakan haematoxylin dan eosin (H dan E) untuk pemeriksaan histopatologi. Hepar yang tersisa dimasukkan ke dalam frozen dan disimpan

pada suhu  $-80^{\circ}$  C untuk pemeriksaan histopatologi berikutnya jika diperlukan (Eminzade *et al.* 2008, Fakurazi *et al.*, 2008).

#### K. TEKNIK ANALISIS DATA

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan perangkat lunak SPSS ver.17.

Uji yang digunakan adalah uji ANOVA yang merupakan alat uji statistik untuk menilai perbedaan mean dari beberapa kelompok, dengan tingkat kemaknaan ( $p = 0,05$ ).



**L. JADWAL PENELITIAN**

TANGGAL	KEGIATAN
14 – 28 Feb 2012	Pengumpulan bahan baku (daun kelor) 11 kg berat basah
29 Feb – 7 Mar 2012	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengeringan daun kelor dari 11 kg basah menjadi 3 kg kering</li> <li>- Pembuatan tepung kelor dari 3 kg kering menjadi 3 kg tepung kelor halus</li> <li>- Pembuatan ekstrak daun kelor dari 1 kg tepung kelor menjadi 300 gram ekstrak kental</li> </ul>
14 Mar 2012	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Penimbangan berat badan tikus hari ke-1 pada kelompok I-VI</li> <li>- Pemeriksaan Pre-test darah Albumin, SGOT dan SGPT kelompok I-VI</li> </ul>
27 Mar 2012	Penimbangan berat badan tikus hari ke-14 pada kelompok I-VI
10 Apr 2012	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Penimbangan berat badan tikus hari ke-28 pada kelompok I-II dan V-VI</li> <li>- Pemeriksaan Post-test darah Albumin, SGOT, SGPT kelompok I-II dan V-VI</li> <li>- Pengambilan lobus hepar dan pemeriksaan histopatologi hepar tikus kelompok I-II dan V-VI</li> </ul>
8 Mei 2012	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Penimbangan berat badan tikus hari ke-56 kelompok III-IV</li> <li>- Pemeriksaan Post-test Albumin, SGOT dan SGPT kelompok III-IV</li> <li>- Pengambilan lobus hepar dan pemeriksaan histopatologi hepar tikus kelompok III-IV</li> </ul>
15 Mei - 15 Juni 2012	Pengolahan dan analisis data
15 – 25 Juni 2012	Penyusunan Bab IV dan Bab V

## M. ETIKA PENELITIAN

Penelitian ini dimintakan surat ijin *ethical clearance* dari *ethical review committee* Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta.

## N. KETERBATASAN PENELITIAN

1. Penelitian ini tidak melakukan pemeriksaan laboratorium darah secara serial, namun hanya melakukan pemeriksaan darah pre-test dan post-test saja, sehingga tidak dapat diketahui pada minggu seberapa mulai terjadi gangguan maupun perbaikan hepar secara analisa kimia darah. Hal ini disebabkan oleh keterbatasan dana peneliti.
2. Penelitian ini tidak melakukan pemeriksaan Patologi Anatomi untuk membuktikan adanya proses apoptosis, hal ini disebabkan pemeriksaan tersebut membutuhkan biaya yang cukup besar yang tidak mampu ditanggung oleh peneliti.

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. DESKRIPSI HASIL PENELITIAN

Setelah melalui proses randomisasi, seluruh subyek penelitian dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok I sebagai kontrol positif (tikus hanya diberikan pakan standar tanpa suplementasi ekstrak daun Kelor dan isoniazid selama 28 hari), kelompok II sebagai kontrol negatif atau kontrol hepatotoksin (tikus diberikan perlakuan isoniazid 50 mg/kg tanpa suplementasi ekstrak daun Kelor selama 28 hari), kelompok III (tikus diberikan suplementasi ekstrak daun Kelor 200 mg selama 28 hari, kemudian dilanjutkan dengan pemberian isoniazid 50 mg/kg pada 28 hari berikutnya), kelompok IV (tikus diberikan suplementasi ekstrak daun Kelor 800 mg/kg selama 28 hari, kemudian dilanjutkan dengan pemberian isoniazid 50 mg/kg pada 28 hari berikutnya), kelompok V (tikus diberikan suplementasi ekstrak daun Kelor 200 mg/kg bersamaan dengan isoniazid 50 mg/kg selama 28 hari) dan kelompok VI (tikus diberikan suplementasi ekstrak daun Kelor 800 mg/kg bersamaan dengan isoniazid 50 mg/kg selama 28 hari).

Tabel 4.1 Karakteristik data awal keenam kelompok penelitian sebelum perlakuan

	N	Mean	Confidence interval 95%		F	Sig.
			Batas bawah	Batas atas		
SGOT	Grup I	5	109,20	87,37	1,459	0,240
	Grup II	5	126,20	98,36		
	Grup III	5	202,00	10,09		
	Grup IV	5	129,60	116,68		
	Grup V	5	114,40	82,21		
	Grup VI	5	111,00	101,18		
	Total	30	132,07	106,76		
SGPT	Grup I	5	43,60	20,05	1,222	0,329
	Grup II	5	47,20	34,93		
	Grup III	5	186,80	-163,38		
	Grup IV	5	46,80	40,82		
	Grup V	5	49,60	38,03		
	Grup VI	5	47,20	36,72		
	Total	30	70,20	26,22		
Albumin	Grup I	5	3,3400	2,9415	1,195	0,341
	Grup II	5	3,4200	3,1508		
	Grup III	5	3,5600	3,2483		
	Grup IV	5	3,6000	3,2959		
	Grup V	5	3,2400	2,9541		
	Grup VI	5	3,4200	2,9775		
	Total	30	3,4300	3,3257		
BB	Grup I	5	216,00	209,20	1,583	0,203
	Grup II	5	222,00	180,45		
	Grup III	5	226,00	196,10		
	Grup IV	5	208,00	194,40		
	Grup V	5	210,00	192,44		
	Grup VI	5	240,00	209,59		
	Total	30	220,33	212,10		

Pada tabel 4.1 secara statistik tidak didapatkan perbedaan yang bermakna dengan signifikansi  $> 0,05$  pada pemeriksaan SGOT, SGPT, albumin dan berat badan sebelum perlakuan antar kelompok tikus. Keadaan ini menunjukkan bahwa setelah dilakukan proses randomisasi, keenam kelompok menjadi sebanding atau setara dalam distribusi variabel-variabel tersebut.



Tabel 4.2 Perbandingan hasil keenam kelompok penelitian sesudah perlakuan

	N	Mean	Confidence interval 95%		F	Sig.
			Batas bawah	Batas atas		
SGOT	Grup I	5	93,00	57,17	10,170	0,000
	Grup II	5	110,60	102,57		
	Grup III	5	64,40	31,82		
	Grup IV	5	41,40	38,16		
	Grup V	5	104,00	77,07		
	Grup VI	5	106,00	87,57		
	Total	30	86,67	74,99		
SGPT	Grup I	5	59,40	44,03	13,642	0,000
	Grup II	5	28,80	14,80		
	Grup III	5	82,20	31,80		
	Grup IV	5	102,40	98,82		
	Grup V	5	30,80	21,05		
	Grup VI	5	37,60	34,25		
	Total	30	56,87	44,69		
Albumin	Grup I	5	3,2600	2,6803	66,468	0,000
	Grup II	5	3,3800	2,7444		
	Grup III	5	0,9600	0,8184		
	Grup IV	5	1,0200	0,8160		
	Grup V	5	3,4200	3,0434		
	Grup VI	5	3,3200	3,0236		
	Total	30	2,5600	2,1229		
BB	Grup I	5	221,00	214,20	1,814	0,148
	Grup II	5	217,00	198,58		
	Grup III	5	225,00	206,38		
	Grup IV	5	210,00	192,44		
	Grup V	5	188,00	129,99		
	Grup VI	5	220,00	205,44		
	Total	30	213,50	204,59		
Nekrosis	Grup I	5	24,80	14,66	9,081	0,000
	Grup II	5	43,00	36,61		
	Grup III	5	28,00	26,24		
	Grup IV	5	29,00	23,45		
	Grup V	5	25,40	19,95		
	Grup VI	5	29,20	24,78		
	Total	30	29,90	27,04		

Pada tabel 4.2 pemeriksaan nekrosis, SGOT, SGPT dan albumin sesudah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antar

kelompok tikus. Sementara pada pengukuran berat badan sesudah perlakuan tidak didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,148$ ) antar kelompok tikus.

Pada tabel 4.2 tampak bahwa pada pemeriksaan nekrosis setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok I dengan kelompok II. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 tampak bahwa jumlah sel hepar yang rusak pada kelompok I (kontrol positif) lebih sedikit dibandingkan jumlah kerusakan sel pada kelompok II (kontrol negatif). Pada pemeriksaan nekrosis setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok II dengan kelompok I, III, IV, V dan VI. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 tampak bahwa kerusakan sel hepar pada kelompok II (kontrol negatif) paling banyak dibandingkan dengan kelompok I, III, IV, V dan VI.

Pada tabel 4.2 tampak pemeriksaan SGOT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok I dengan kelompok III ( $p = 0,029$ ) dan kelompok IV ( $p = 0,001$ ). Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar SGOT kelompok I (kontrol positif) lebih tinggi dibandingkan kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan SGOT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok II dengan kelompok III ( $p = 0,001$ ) dan kelompok IV ( $p = 0,001$ ). Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar SGOT kelompok II (kontrol negatif) lebih tinggi dibandingkan kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan SGOT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok III dengan kelompok I ( $p = 0,029$ ), kelompok II

( $p = 0,001$ ), kelompok V ( $p = 0,004$ ) dan kelompok VI ( $p = 0,002$ ). Nilai mean berdasarkan tabel 4.2 kadar SGOT kelompok III paling rendah dibandingkan kelompok I, II, V dan VI. Pada pemeriksaan SGOT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok IV dengan kelompok I, II, V dan VI. Nilai mean berdasarkan tabel 4.2 kadar SGOT kelompok IV paling rendah dibandingkan kelompok I, II, V dan VI. Pada pemeriksaan SGOT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok V dengan kelompok III ( $p = 0,004$ ) dan kelompok IV ( $p = 0,001$ ). Nilai mean berdasarkan tabel 4.2 kadar SGOT kelompok V lebih tinggi dibandingkan kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan SGOT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok VI dengan kelompok III ( $p = 0,002$ ) dan kelompok IV ( $p = 0,001$ ). Nilai mean berdasarkan tabel 4.2 kadar SGOT kelompok VI lebih tinggi dibandingkan kelompok III dan IV.

Pada tabel 4.2 tampak pemeriksaan SGPT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok I dengan kelompok II ( $p = 0,014$ ), kelompok IV ( $p = 0,001$ ) dan kelompok V ( $p = 0,021$ ). Berdasarkan nilai mean pada tabel 4.2 kadar SGPT kelompok I lebih tinggi dibandingkan kelompok II dan V, akan tetapi kadar SGPT-nya lebih rendah dibandingkan kelompok IV. Pada pemeriksaan SGPT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok II dengan kelompok I ( $p = 0,014$ ), kelompok III ( $p = 0,001$ ) dan kelompok IV ( $p = 0,001$ ). Berdasarkan nilai mean pada tabel 4.2 kadar SGPT kelompok II memiliki nilai paling rendah

dibandingkan kelompok I, III dan IV. Pada pemeriksaan SGPT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok III dengan kelompok II ( $p = 0,001$ ), kelompok V ( $p = 0,001$ ) dan kelompok VI ( $p = 0,001$ ). Berdasarkan nilai mean pada tabel 4.2 kadar SGPT kelompok III paling tinggi dibandingkan kelompok II, V dan VI. Pada pemeriksaan SGPT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok IV dengan kelompok I ( $p = 0,001$ ), kelompok II ( $p = 0,001$ ), kelompok V ( $p = 0,001$ ) dan kelompok VI ( $p = 0,001$ ). Berdasarkan nilai mean pada tabel 4.2 kadar SGPT kelompok IV paling tinggi dibandingkan kelompok I, II, V dan VI. Pada pemeriksaan SGPT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok V dengan kelompok III dan IV. Berdasarkan nilai mean pada tabel 4.2 kadar SGPT kelompok V lebih rendah dibandingkan kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan SGPT setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik antara kelompok VI dengan kelompok III ( $p = 0,001$ ) dan kelompok IV ( $p = 0,001$ ). Berdasarkan nilai mean pada tabel 4.2 kadar SGPT kelompok VI lebih rendah dibandingkan kelompok III dan IV.

Pada tabel 4.2 pemeriksaan albumin setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok I dengan kelompok III dan IV. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar albumin kelompok I lebih tinggi dibandingkan dengan kadar albumin kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan albumin setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok II dengan kelompok III dan

IV. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar albumin kelompok II lebih tinggi dibandingkan dengan kadar albumin kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan albumin setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok III dengan kelompok I, II, V dan VI. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar albumin kelompok III paling rendah dibandingkan dengan kadar albumin kelompok I, II, V dan VI. Pada pemeriksaan albumin setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok IV dengan kelompok I, II, V dan VI. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar albumin kelompok IV paling rendah dibandingkan dengan kadar albumin kelompok I, II, V dan VI. Pada pemeriksaan albumin setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok V dengan kelompok III dan IV. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar albumin kelompok V lebih tinggi dibandingkan dengan kadar albumin kelompok III dan IV. Pada pemeriksaan albumin setelah perlakuan didapatkan perbedaan yang bermakna secara statistik ( $p = 0,001$ ) antara kelompok VI dengan kelompok III dan IV. Nilai mean berdasarkan pada tabel 4.2 kadar albumin kelompok VI lebih tinggi dibandingkan dengan kadar albumin kelompok III dan IV.



## B. ANALISIS HASIL PENELITIAN

### 1. Pengaruh Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar.

Didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,001$ ) terhadap kerusakan hepar pada tikus yang tidak diberikan suplementasi daun kelor dibandingkan dengan tikus yang diberikan suplementasi daun kelor baik sebelum maupun bersamaan dengan isoniazid. Pada suplementasi daun kelor 28 hari sebelum pemberian isoniazid dosis 50 mg/kg, kerusakan sel hepar pada suplementasi daun kelor dosis 200 mg/kg lebih banyak dibandingkan dosis 800 mg/kg. Sementara pada suplementasi daun kelor yang bersamaan dengan isoniazid dosis 50 mg/kg, kerusakan sel hepar pada suplementasi daun kelor dosis 800 mg/kg lebih banyak dibandingkan dosis 200 mg/kg. Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa penggunaan daun kelor sebagai hepatoprotektor, jika digunakan sebelum pemberian isoniazid, maka kerusakan sel hepar akan lebih sedikit bila diberikan pada dosis 800 mg/kg. Dan sebaliknya jika digunakan bersamaan dengan isoniazid, maka kerusakan sel hepar akan lebih sedikit bila diberikan pada dosis 200 mg/kg.



## 2. Pengaruh Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Kadar SGOT Tikus Wistar

Didapatkan penurunan yang bermakna terhadap kadar SGOT tikus pada kelompok yang mendapatkan suplementasi daun kelor 28 hari mendahului pemberian isoniazid dosis 50 mg/kg dibandingkan dengan suplementasi daun kelor yang bersamaan dengan isoniazid dosis 50 mg/kg, baik pemberian suplementasi daun kelor pada dosis 200 mg/kg ( $p = 0,004$ ) maupun dosis 800 mg/kg ( $p = 0,001$ ). Dimana penurunan kadar SGOT tikus dengan suplementasi daun kelor dosis 800 mg/kg lebih rendah jika dibandingkan dengan suplementasi daun kelor dosis 200 mg/kg. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian suplementasi daun kelor dosis 800 mg/kg selama 28 hari mendahului pemberian isoniazid didapatkan penurunan kadar SGOT paling rendah dalam darah.

## 3. Pengaruh Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Kadar SGPT Tikus Wistar

Didapatkan peningkatan yang bermakna terhadap kadar SGPT tikus pada kelompok yang mendapatkan suplementasi daun kelor 28 hari mendahului pemberian isoniazid dosis 50 mg/kg dibandingkan dengan suplementasi daun kelor yang bersamaan dengan isoniazid dosis 50 mg/kg, baik pemberian suplementasi daun kelor pada dosis 200 mg/kg ( $p = 0,001$ ) maupun dosis 800 mg/kg ( $p = 0,001$ ). Dimana peningkatan

kadar SGPT tikus dengan suplementasi daun kelor dosis 800 mg/kg lebih tinggi jika dibandingkan dengan suplementasi daun kelor dosis 200 mg/kg. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian suplementasi daun kelor selama 28 hari mendahului pemberian isoniazid didapatkan peningkatan kadar SGPT dalam darah terutama pada dosis 800 mg/kg.

4. Pengaruh Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Kadar Albumin Tikus Wistar

Didapatkan penurunan yang bermakna terhadap kadar albumin tikus yang mendapatkan suplementasi daun kelor selama 28 hari mendahului pemberian isoniazid dosis 50 mg/kg dibandingkan dengan suplementasi daun kelor yang diberikan bersamaan dengan isoniazid dosis 50 mg/kg, baik pemberian suplementasi daun kelor pada dosis 200 mg/kg ( $p = 0,001$ ) maupun dosis 800 mg/kg ( $p = 0,001$ ). Dimana penurunan kadar albumin tikus dengan suplementasi daun kelor dosis 800 mg/kg lebih sedikit jika dibandingkan dengan suplementasi daun kelor dosis 200 mg/kg. Dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian suplementasi daun kelor selama 28 hari mendahului pemberian isoniazid didapatkan penurunan kadar albumin dalam darah.

5. Pengaruh Daun Kelor (*M. oleifera* Lam.) Terhadap Berat Badan Tikus Wistar.

Tidak didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,148$ ) pada berat badan antara kelompok tikus yang tidak diberikan suplementasi daun kelor dengan tikus yang diberikan suplementasi daun kelor. Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa baik pada tikus yang hatinya rusak maupun tidak rusak oleh pemberian isoniazid dosis 50 mg/kg selama 28 hari, tidak berpengaruh terhadap perubahan berat badan.

### C. PEMBAHASAN HASIL PENELITIAN

Dari beberapa parameter kerusakan hati yang penulis periksa seperti SGOT, SGPT, albumin, berat badan, dan histopatologi, maka pemeriksaan histopatologi merupakan *gold standar* dari kelima parameter tersebut. Untuk pemeriksaan histopatologi berdasarkan hasil analisis statistik yang menggunakan Oneway Anova didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,001$ ) antara kelompok II (kontrol negatif) terhadap kelompok I (kontrol positif), III, IV, V dan VI dengan nilai mean kelompok II lebih besar dibandingkan kelompok I, III, IV, V dan VI. Hal ini memberikan dua arti, pertama, benar bahwa pemberian isoniazid dosis 50 mg/kg memberikan efek hepatotoksik; kedua, benar bahwa ekstrak daun kelor memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hati akibat isoniazid. Dimana perbaikan kerusakan hati pada tikus yang mendapatkan suplementasi ekstrak daun kelor dosis 200 mg/kg dan 800 mg/kg baik pemberian

sebelum maupun sesudah isoniazid, dapat mendekati kondisi hepar normal seperti pada tikus kelompok I.

Pada pemeriksaan albumin kelompok III dan IV didapatkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,001$ ) dibandingkan dengan kelompok I, II, V dan VI, dimana dari mean tampak bahwa albumin kelompok III dan IV lebih rendah dibandingkan kelompok lain. Sementara pada pemeriksaan histopatologi yang merupakan gold standar dari kerusakan hepar didapatkan bahwa kerusakan sel hepar kelompok III dan IV tidak berbeda secara bermakna dibandingkan kelompok I sebagai kontrol positif. Hal ini memberikan arti bahwasanya penurunan kadar albumin pada kelompok III dan IV bukan diakibatkan oleh kerusakan hepar, akan tetapi lebih banyak akibat adanya kebocoran albumin melalui organ lain seperti otot jantung, ginjal, dinding lambung atau kulit. Dimana kemungkinan kebocoran albumin pada organ-organ lain tersebut oleh peneliti tidak dilakukan pemeriksaan.

Sintesis albumin dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain kerusakan hepatosit, hormonal, dan diet rendah protein. Dimana ketiga hal tersebut akan berpengaruh terhadap penurunan transkripsi gen yang kemudian berdampak pada penurunan konsentrasi mRNA albumin. Degradasi albumin total setiap hari pada dewasa dengan berat badan 70 kg adalah sekitar 14 g/hari atau 15% dari total pembentukan protein tubuh setiap hari. Albumin dirusak pada sebagian besar organ tubuh. Otot dan kulit merusak albumin sebesar 40 – 60%, hepar 15%, ginjal 10%, sementara 10% yang lain hilang melalui dinding lambung ke dalam saluran pencernaan (Nicholson *et al.*, 2000).

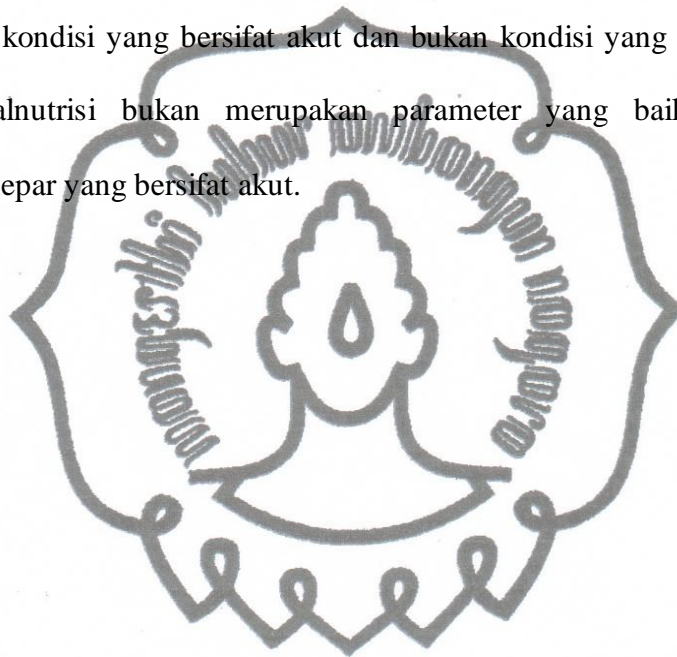
Penyakit kronis mengubah distribusi albumin diantara kompartemen intravaskuler dan ekstrasvaskuler, disamping itu juga mengubah kecepatan sintesis dan degradasi protein. Perubahan distribusi albumin pada penyakit kronis berkaitan dengan peningkatan kebocoran kapiler. Hal ini melibatkan disfungsi dari barier endothelial yang menyebabkan kebocoran kapiler dan kehilangan protein, sel inflamasi, serta sebagian besar cairan ke dalam *space intersisial* (Nicholson *et al.*, 2000).

Pada pemeriksaan SGPT kelompok III dan IV didapatkan kenaikan secara bermakna ( $p = 0,001$ ) dibandingkan dengan kelompok I, II, V dan VI, sementara secara histopatologi tidak didapatkan perbedaan secara bermakna dengan kelompok lain. Hal ini memberikan arti bahwa walaupun pemberian ekstrak daun kelor yang mengawali pemberian isoniazid memiliki efek hepatoprotektif, akan tetapi secara analisa kimia darah efek hepatotoksik yang ditimbulkan oleh isoniazid lebih ringan bila suplementasi ekstrak daun kelor diberikan bersamaan dengan isoniazid.

Enzim SGPT banyak terdapat dalam sel-sel jaringan tubuh dengan sumber utama sel hepar. Berbeda halnya dengan enzim SGOT yang terbanyak pada otot jantung, kemudian sel-sel hepar, otot tubuh, ginjal dan pankreas. Kenaikan kadar transaminase dalam serum disebabkan oleh sel-sel yang kaya akan transaminase tersebut mengalami nekrosis atau hancur (Husadha *et al.*, 1996).

Pada pengukuran berat badan pada tikus Wistar tidak didapatkan perbedaan yang bermakna antar kelompok baik kelompok kontrol maupun

kelompok perlakuan, dan kelompok sebelum maupun sesudah perlakuan. Hal ini memberikan arti bahwa pemberian isoniazid pada tikus wistar dengan dosis 50 mg/kg selama 28 hari, baik bersamaan maupun sesudah pemberian suplementasi ekstrak daun kelor dosis 200 mg/kg dan 800 mg/kg tidak menimbulkan kondisi malnutrisi pada tikus wistar. Hal ini disebabkan kerusakan hepar yang timbul merupakan kondisi yang bersifat akut dan bukan kondisi yang kronis, sementara kondisi malnutrisi bukan merupakan parameter yang baik untuk menilai kerusakan hepar yang bersifat akut.





## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### KESIMPULAN

1. Ekstrak daun kelor memiliki efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hepar yang diakibatkan oleh obat isoniazid.
2. Penggunaan ekstrak daun kelor sebagai hepatoprotektor terhadap kerusakan hepar akibat obat isoniazid bisa diberikan sebelum maupun bersamaan dengan pemberian isoniazid. Akan tetapi memiliki efek hepatoprotektif lebih kuat jika ekstrak daun kelor diberikan bersamaan dengan isoniazid pada dosis 200 mg/kg.

#### SARAN

1. Bagi peneliti lain yang tertarik pada penelitian sejenis, maka penulis menyarankan untuk melakukan pemeriksaan darah serial untuk mengetahui mulai kapan terjadi perbaikan atau kerusakan sel hepar.
2. Penulis juga menyarankan untuk melakukan pemeriksaan terhadap kondisi otot jantung, ginjal, lambung dan kulit untuk mengetahui adanya kemungkinan kebocoran albumin melalui organ selain hepar.
3. Untuk lebih mendalam sampai pada tingkat biologi molekuler, penulis menyarankan disamping pemeriksaan histopatologi, juga sebaiknya

dilakukan pemeriksaan patologi anatomi, sehingga dapat diketahui ada tidaknya kemampuan daun kelor dalam mengatasi kerusakan hepar sampai pada tingkat yang bukan hanya nekrosis tetapi juga apoptosis.

