

KK
KKA
THD. 41/11
Pur
P

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR PRA PEMBERIAN PARASETAMOL DOSIS TINGGI TUNGGAL TERHADAP FUNGSI HATI TIKUS PUTIH (*Strain Wistar*)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

HERY PURNOMO
090415334/M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR PRA PEMBERIAN PARASETAMOL DOSIS TINGGI TUNGGAL TERHADAP FUNGSI HATI TIKUS PUTIH (*Strain Wistar*)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

HERY PURNOMO

**PROGRAM MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2008

Rayhan Comp

ii

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR PRA PEMBERIAN PARASETAMOL DOSIS TINGGI TUNGGAL TERHADAP FUNGSI HATI TIKUS PUTIH (*Strain Wistar*)

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
Dalam Program studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Oleh

HERY PURNOMO
090415334/M

PROGRAM MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 29 JULI 2008

Oleh

Pembimbing ketua



Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD
NIP 130 541 984


Pembimbing



Tri Martini S, dr, SpBK
NIP 130 532 941

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD
NIP 130 541 984

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada Program Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya
pada tanggal 29 Juli 2008

PANITIA PENGUJI:

Tanda Tangan

Ketua : Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr, MS


.....

Anggota :

1. Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD
2. Tri Martini S, dr, SpBK
3. Dr. Arief Wibowo, dr, MS
4. Prof. Soetjipto, dr, MS, PhD
5. Prof. Dr. Indri Safitri, dr, MS


.....
.....
.....
.....
.....

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, karunia dan petunjuk-Nya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penelitian/tesis ini. Penelitian ini tidak akan selesai tanpa bantuan dan bimbingan berbagai pihak, sehingga sudah selayaknya penulis dengan tulus ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya.

Dengan segala ketulusan hati penulis sampaikan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD selaku pembimbing ketua dan Tri Martini S, dr, SpBK selaku pembimbing atas semua jerih payah beliau dalam membimbing, memberikan berbagai masukan, bekal pengetahuan serta dorongan semangat yang tiada henti-hentinya dengan penuh kesabaran sejak usulan penelitian, persiapan penelitian hingga selesainya penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis sampaikan juga kepada Dr. Arief Wibowo, dr, MS yang telah banyak membantu kami dalam bidang statistik.

Menyadari bahwa tesis ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dan peran serta berbagai pihak maka perkenankan penulis dengan setulus hati mengucapkan terima kasih kepada Yth :

Rektor Universitas Airlangga, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Dr. Harjanto, dr, AIF, Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Prof. Retno Handayani, dr, MS, PhD; Kepala Departemen Biokimia Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Dr. Suhartatik, dr, MS, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Hang Tuah dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya yang telah memberi ijin kepada penulis untuk belajar di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Kepada kedua orang tuaku yang senantiasa memmberikan dorongan dan doa. Istriku tercinta Ifa Chusniawati, SE yang senantiasa memberikan bantuan dan dorongan, baik di kala senang maupun susah, putraku tersayang Wafi dan Zaki serta seluruh anggota keluarga yang telah banyak berkorban, memberikan dorongan, doa restu sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Teman-temanku dr. Fitri Handajani, MKes dan dr. Ardiana Ekawanti, MKes, serta semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu penulis sampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya atas masukan, kritikan, bantuan yang selalu diberikan kepada penulis selama proses pembuatan tesis ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa hasil penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu saran dan masukan yang berharga sangat penulis harapkan, agar nantinya tulisan ini dapat bermanfaat bagi upaya pengembangan keilmuan dan kesehatan di Indonesia. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua.

Surabaya, Juli 2008

Ringkasan

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTEN HITAM (*Nigella sativa*) PRA PEMBERIAN PARASETAMOL DOSIS TINGGI TUNGGAL TERHADAP FUNGSI HATI TIKUS PUTIH (*Strain Wistar*)

Hery Purnomo

Sejak beberapa dasawarsa lalu, peran antioksidan bagi kesehatan tubuh telah banyak mendapat perhatian dari kalangan ilmuwan. Fungsi fisiologis dari antioksidan adalah mencegah kerusakan komponen seluler akibat radikal bebas. Sedangkan produksi radikal bebas terjadi secara terus menerus pada semua sel sebagai bagian dari fungsi seluler yang normal. Jika terjadi produksi radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif berperan penting dalam patofisiologi berbagai penyakit, termasuk penyebab patogen utama pada gangguan hati.

Ekstrak Jinten hitam merupakan suatu substansi yang mempunyai efek antioksidan. Pada beberapa penelitian diperoleh hasil, bahwa ekstrak Jinten hitam mengandung kadar antioksidan dan banyak digunakan sebagai obat tradisional.

Hati adalah organ tubuh yang berperan penting dalam proses metabolisme dan detoksifikasi. Pemaparan oleh berbagai bahan toksik dapat mengakibatkan kerusakan hati.. Hati akan mendetoksifikasi berbagai bahan yang bersifat toksik menjadi kurang atau tidak toksik, tetapi metabolisme bahan tertentu justru dapat menghasilkan metabolit yang bersifat lebih toksik daripada bahan dasarnya

Parasetamol adalah prototipe zat hepatotoksik yang sering digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan hepatotoksitas. Pemberian parasetamol digunakan sebagai model kerusakan hati yang disebabkan oleh radikal bebas. Parasetamol dosis tinggi akan dimetabolisme di hepar sebagian besar dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 . Aktivitas tersebut akan mengubah Parasetamol menjadi lebih reaktif dan menjadi metabolit yang lebih toksik yaitu NAPQI, sehingga dapat menyebabkan kerusakan hati. Pada dosis terapi NAPQI dapat di redam oleh glutathion, namun pada pemberian parasetamol dosis tinggi akan terjadi peningkatan pembentukan NAPQI sehingga terjadi deplesi glutathion dan peningkatan hidrogen peroksida, selain itu NAPQI akan berikatan dengan protein sel yang akan menghasilkan ROS dan RNS yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif inilah yang menyebabkan terjadinya hepatotoksitas.

Pada penelitian ini akan dibuktikan apakah ekstrak Jinten hitam, yang memiliki efek sebagai anti oksidan dan diberikan secara oral pada hewan coba tikus putih jantan sebelum diinduksi dengan parasetamol dosis tinggi, mempunyai efek sebagai hepatoprotektor, dengan mengukur kadar SGPT dan γ -Glutamil transpeptidase, Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan Bilirubin Indirek.

Rancangan penelitian ini menggunakan *post-test only control group design*. Sebanyak 40 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) umur 3 bulan dibagi dalam 4 kelompok percobaan. Kelompok kontrol negatif dan kontrol positif diberikan aquades 0,5 ml/hr secara sonde intragastrik selama 10 hari. Kelompok

perlakuan 1 diberikan ekstrak Jinten hitam 1,25g/KgBB/hari secara sonde intragastrik selama 10 hari. Kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak Jinten hitam 2,5g/KgBB/hari secara sonde intragastrik selama 10 hari. Pada hari ke 8, 2 jam setelah perlakuan, kelompok kontrol negatif diberikan CMC Na 0,5 % 2 ml/hr secara sonde intragastrik, sedangkan kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 dan 2 diberikan parasetamol 1200 mg/kgBB secara sonde intragastrik, 48 jam kemudian semua hewan dikorbankan dengan memakai anestesi eter, kemudian diambil 3 ml darah secara intrakardial untuk diperiksa kadar SGPT dan γ -Glutamil transpeptidase, Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan Bilirubin Indirek. Data yang diperoleh dari pemeriksaan darah dianalisis statistik menggunakan *SPSS for Windows*. Signifikansi secara statistik ditentukan dengan MANOVA dan ANOVA kemudian dilanjutkan dengan LSD.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol positif, kadar SGPT, γ -Glutamil transpeptidase, Bilirubin Total, dan Bilirubin Indirek dalam serum meningkat secara signifikan ($p < 0,01$) dibandingkan dengan kontrol negatif sedangkan peningkatan kadar Bilirubin Direk tidak signifikan ($p > 0,01$). Pada kelompok perlakuan 1 maupun kelompok perlakuan 2 kadar SGPT, γ -Glutamil transpeptidase, Bilirubin Total, dan Bilirubin Indirek dalam serum menurun secara signifikan ($p < 0,01$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sedangkan penurunan kadar Bilirubin Direk tidak signifikan ($p > 0,01$).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak Jinten hitam dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor, dengan mekanisme kerja sebagai antioksidan.

Summary

THE EFFECTS OF *Nigella sativa* Extract BEFORE SINGLE HIGH DOSE PARACETAMOL ADMINISTRATION TO RAT'S LIVER FUNCTION

Hery Purnomo

Scientists have long been interested to the roles of antioxidants. Physiological function of antioxidants is preventing cellular damages caused by free radicals. Free radicals production happen every time in all cells as parts of normal cellular function. Overproduction of free radicals will cause oxidative stress. Oxidative stress has important role to many disease pathophysiology, including liver disfunction.

The extract of *Nigella sativa* is a substance has antioxidant effect. Many research showed that *Nigella sativa* contains high dose antioxidant and used as traditional medicine.

Liver is an organ that has important role in metabolic process and detoxification. Toxic materials exposure may cause liver destruction. Liver detoxify toxic substances, but metabolic results of certain substances sometimes even produces more toxic substances.

Paracetamol is a prototype of hepatotoxic substances used for many research about hepatotoxicity. Paracetamol administration used for liver destruction model caused by free radicals. High dose paracetamol will be mainly metabolized in liver by P450 cytochrom enzyme. Such activity will change paracetamol to more reactive and more toxic substance, NAPQI. In therapeutic dose, NAPQI can be quenched by glutathion, but in high dose paracetamol administration the production of NAPQI will be increased and will bind to cellular protein that result in ROS and RNS production. This condition will cause oxidative stress which in turn will cause hepatotoxicity.

This research will prove that black *Nigella sativa* extract, that has antioxidant effect, given orally to male experimental rats before high dose paracetamol induction, have hepatoprotector effects measured through SGPT, γ -Glutamyl transpeptidase, total Bilirubin, Direct bilirubin, dan Indirect Bilirubin effects.

The research design is post-test only control group design used 40 male 3 month rats (*Rattus norvegicus*) divided into 4 groups. Negative and positive control groups are given orally through orogastric tube 0,5 ml/day water for 10 days. The first treatment group is given orally through orogastric tube 1.25g/KgBW/day for 10 days. The second treatment group is given orally through orogastric tube 2.5g/KgBW/day for 10 days. In the day 8, 2 hours after treatment, negative control group is given CMC Na 0.5 % 2 ml orally through orogastric tube. The positive control group, the first and second treatment group are given orally through orogastric tube paracetamol 1200 mg/kgBW. Fourty eight hours later all rats were sacrificed with ether, and the blood is taken 3 ml though intracardial for assay. The blood is assayed for SGPT, γ -Glutamyl transpeptidase, total Bilirubin, Direct bilirubin, dan Indirect Bilirubin levels. The data is analysed with SPSS for

Windows. The significances are determined by MANOVA and ANOVA continued by LSD.

The result of this research showed that the positive control group had significantly increased serum SGPT, γ -Glutamyl transpeptidase, Total Bilirubin, dan indirect Bilirubin levels ($p < 0,01$) compared to the negative control. Increased direct bilirubin is not significant ($p > 0,01$). The first and second treatment groups have significantly decreased serum SGPT, γ -Glutamyl transpeptidase, Total Bilirubin, dan indirect Bilirubin levels ($p < 0,01$) compared to the positive control group. Decreased direct bilirubin is not significant ($p > 0,01$).

It can be concluded from this reasearch that *Nigella sativa* extract as antioxidant has hepatoprotector function.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF *Nigella sativa* Extract BEFORE SINGLE HIGH DOSE PARACETAMOL ADMINISTRATION TO RAT'S LIVER FUNCTION

Hery Purnomo

Objective : This study explores the protective effects of black Cumin (*Nigella sativa*) extract, before single high dose of paracetamol administration to rat's liver function (*Rattus norvegicus*).

Design and Methods: This study used the *Post-test Only Control Group Design*. Fourty rats (*Rattus norvegicus*) 4 months years old were divided into 4 groups. The negative control and positive control group received water 0,5 ml/day through intragastric sonde for 10 days. The first treatment group received 1,25 g/kgbw black Cumin extract (*Nigella sativa*) each day through intragastric sonde for 10 days, and the second treatment group received 2,5 g/kgbw black Cumin extract (*Nigella sativa*) each day through intragastric sonde for 10 days too. At day 8th and 2 hour after the last treatment, the negative control group received 2 ml CMC Na 0,5 % through intragastric sonde ; the positive control, the first and second treatment group received 1200ml/kgbw paracetamol through intragastric sonde. 48 hours later, all animal were sacrificed and killed using ether, and then were taken 5 ml their blood intracardially to test the level of SGPT, γ -GT, Total Bilirubin, Direct Bilirubin and Indirect Bilirubin. The data of SGPT, γ -GT, Total Bilirubin, Direct Bilirubin and Indirect Bilirubin were collected and analyzed using MANOVA and ANOVA and the differences between groups in one variable is analyzed by the *LSD* at 1% level of confidence.

Result: Rats that were treated with 1200 mg/kgbw paracetamol in single high dose through intragastric sonde in the positive control show increasing level of SGPT, γ -GT, Total Bilirubin, and Indirect Bilirubin ($p < 0,01$) compare with negative control group. Black Cumin extract (*Nigella sativa*) decrease level of SGPT, γ -GT, Total Bilirubin, and Indirect Bilirubin ($p < 0,01$) significantly ($p < 0,01$) in the first and second treatment group compare with the positive control group.

Conclusion : pre treatment with black cumin extract (*nigella sativa*) before single high dose paracetamol administration give a protection to the rat's liver function.

Key word : black Cumin (*Nigella sativa*), paracetamol, hepatotoxicity, oxidative stress

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Penetapan Panitia.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Ringkasan.....	vii
Summary.....	ix
Abstract.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan umum.....	5
1.3.2. Tujuan khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Radikal Bebas, Oksidan dan Antioksidan.....	7
2.1.1. Radikal Bebas dan Oksidan.....	7
2.1.2. Radikal Bebas Oksigen dan ROS.....	9
2.1.2.1. Hidrogen peroksida.....	10
2.1.2.2. Ion superoksida.....	10
2.1.2.3. Singlet oksigen.....	11
2.1.3. Akibat Radikal Bebas.....	12
2.1.4. Antioksidan.....	13
2.2. Hati.....	14
2.2.1. Sirkulasi.....	16
2.2.2. Lobulasi.....	17
2.2.3. Hepatosit.....	19
2.2.4. Fungsi Hati.....	21
2.2.5. Tes Fungsi Hati.....	22
2.2.5.1. Enzim Transaminase.....	23
2.2.5.2. γ Glutamil Transpeptidase.....	26
2.2.5.3. Bilirubin.....	28
2.3. Parasetamol.....	28
2.3.1. Sifat Fisik dan Kimia Parasetamol	29
2.3.2. Farmakokinetik.....	30
2.3.3. Farmakodinamik.....	31
2.3.3.1. Efek Analgesik.....	31
2.3.3.2. Efek Antipiretik.....	32
2.3.4. Penggunaan untuk Terapi	32
2.3.5. Hepatotoksisitas oleh Parasetamol.....	33
2.4. Jinten hitam.....	37

2.4.1. Taksonomi	39
2.4.2. Kandungan.....	39
2.4.3. Khasiat.....	39
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN..	44
3.1. Kerangka Konseptual.....	44
3.2. Hipotesis Penelitian.....	47
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	48
4.1 Rancangan Penelitian.....	48
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Tehnik Pengambilan Sampel.....	49
4.2.1. Sampel Penelitian.....	49
4.2.2. Besar Sampel.....	49
4.2.3. Tehnik Pengambilan Sampel.....	50
4.3. Variabel Penelitian.....	50
4.3.1. Klasifikasi Variabel.....	50
4.3.1.1. Variabel Bebas.....	50
4.3.1.2. Variabel Tergantung.....	50
4.3.1.3. Variabel Kendali.....	51
4.3.2. Definisi Operasional Variabel.....	51
4.3.2.1. Variabel Bebas.....	51
4.3.2.2. Variabel Tergantung.....	52
4.3.2.3. Variabel Kendali.....	52
4.4. Bahan Penelitian.....	53
4.4.1. Hewan Coba.....	53
4.4.2. Bahan Pakan Dan Minum.....	53
4.4.3. Bahan Uji.....	53
4.4.4. Bahan Lain.....	53
4.5. Instrumen Penelitian.....	54
4.6. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	54
4.7. Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data.....	55
4.7.1. Persiapan Hewan Coba.....	55
4.7.2. Perlakuan Hewan Coba.....	55
4.7.3. Pemeriksaan SGPT.....	56
4.7.4. Pemeriksaan γ -GT	56
4.7.4. Pemeriksaan Bilirubin	56
4.7.5. Skema Alur Penelitian.....	57
4.8. Cara Pengolahan Dan Analisis Data.....	58
BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	59
5.1 Hasil Statistik Deskriptif.....	59
5.2 ANALISIS DATA.....	60
5.2.1. Hasil Uji Normalitas.....	60
5.2.2. Uji Homogenitas.....	61
5.2.3. Hasil Uji MANOVA dan ANOVA.....	62
5.2.4. Hasil Uji LSD.....	63
5.2.6. Kadar SGPT	64
5.2.7. Kadar γ -GT.....	65
5.2.8. Kadar Bilirubin Total	65
5.2.9. Kadar Bilirubin Direk.....	66
5.2.10. Kadar Bilirubin Indirek.....	66
5.2.11. Berat Badan Tikus Wistar.....	67

BAB 6. PEMBAHASAN.....	69
6.1. Kadar SGPT.....	71
6.2. Kadar γ Glutamyl Transpeptidase (γ -GT).....	74
6.3 . Kadar Bilirubin.....	76
BAB 7 PENUTUP.....	78
7.1 SARAN.....	78
7.2 KESIMPULAN.....	78
DAFTAR PUSTAKA.....	80

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Bagan mekanisme terjadinya radikal bebas dalam tubuh	9
Gambar 2.2. Pembagian lobulus hati secara skematis	18
Gambar 2.3. Sel-sel hati	20
Gambar 2.4. Struktur Parasetamol	29
Gambar 2.5. Gambar metabolisme parasetamol dan ekskresinya	31
Gambar 2.6. Proses perubahan parasetamol menjadi senyawa metabolit reaktif <i>NAPQI</i>	35
Gambar 2.7. Biji Jinten hitam	39
Gambar 2.8. Struktur molekul <i>thymoquinon</i>	40
Gambar 2.8. Struktur molekul TBHQ	41
Gambar 3.1. Kerangka konseptual.....	46
Gambar 4.1. Rancangan penelitian.....	48
Bagan 4.1. Skema prosedur penelitian.....	49
Bagan 4.2. Skema alur penelitian.....	57
Grafik 5.1. Rata-rata kadar SGPT menurut kelompok.....	64
Grafik 5.1. Rata-rata kadar γ -GT menurut kelompok.....	65
Grafik 5.1. Rata-rata , Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan Bilirubin Indirek menurut kelompok.....	67
Gambar 6.1. Mekanisme toksisitas dari parasetamol.....	70

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Komposisi bahan yang dikandung dalam Jinten hitam	45
Tabel 5.1. Rata-rata dan Simpangan Baku (Sdandart Deviasi) SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek.....	60
Tabel 5.2. Hasil Uji Normalitas Distribusi (<i>Uji Kolmogorov-Smirnov</i>).....	61
Tabel 5.3. Hasil Uji Homogenitas (<i>Uji Lavene</i>).....	61
Tabel 5.4. Hasil Uji MANOVA dan ANOVA.....	62
Tabel 5.5. Hasil Uji LSD.....	63
Tabel 5.6. Hasil Uji <i>Paired T-Test</i>	68

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1 : Penghitungan Besar Sampel.....	84
LAMPIRAN 2 : Pemeriksaan SGPT	87
LAMPIRAN 3 : Pemeriksaan γ -GT.....	89
LAMPIRAN 4 : Pemeriksaan Bilirubin.....	91
LAMPIRAN 5 : Proses Pembuatan dan Penghitungan Dosis Ekstrak Jinten Hitam.....	93
LAMPIRAN 6 : Tabel Konversi	97
LAMPIRAN 7 : Komposisi Pakan Tikus.....	98
LAMPIRAN 8 : Data Mentah Hasil Penelitian	99
LAMPIRAN 9 : Hasil Perhitungan Statistik.....	102

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

APAP	: <i>N-acetyl- p-aminophenol= Acetaminophen (parasetamol)</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
GSSG	: <i>glutathione disulfida</i>
GPx	: <i>glutathione peroxidase</i>
GR	: <i>glutathione reductase</i>
GST	: <i>glutathione S-transferase</i>
L•	: Radikal lipid
LOO•	: Radikal peroksi lipid
MFO	: <i>mixed function oxidase</i>
MPT	: <i>mitochondrial permeability transition</i>
NAPQI	: <i>N-acetyl-p-benzoquinone imine</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RNA	: <i>Ribose Nucleic Acid</i>
RNS	: <i>reactive nitrogen species</i>
SGOT	: <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamic Pyruvic Transaminase</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TBHQ	: <i>Tert-butylhidroquinone</i>
¹ O ₂	: singlet oksigen
•OH	: radikal hidroksil
•OOH	: radikal peroksil
γ-GT	: <i>Gamma Glutamyl transpeptidase (Gamma glutamyl transferase)</i>

BAB 1
PENDAHULUAN



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Saat ini, dunia kedokteran dan pengobatan sudah sangat maju, perkembangan tersebut diikuti dengan semakin mahalnya biaya pemeriksaan dan pengobatan modern. Akibatnya, pengobatan dengan obat tradisional masih dipergunakan secara luas. Angka statistik menunjukkan di tahun 1995, sekitar 35,4% masyarakat perkotaan mengobati sendiri penyakit yang dideritanya dengan jamu-jamu tradisional dan angka ini meningkat menjadi 71,44% di tahun 2006 (BPS, 2006).

Salah satu diantara obat tradisional tersebut adalah Jinten hitam. Jinten hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman yang sudah lama digunakan dalam pengobatan secara alami. Tanaman ini banyak tumbuh di daerah Mediterania, Yunani, Eropa, Timur tengah dan Asia termasuk Indonesia (Randhawa, 2002; Gilani, 2004; Al Jassir, 1992). Penggunaan tanaman obat ini berbeda-beda sesuai tradisi dan budaya masing-masing negara. Bagian tanaman ini yang sering digunakan untuk pengobatan adalah bijinya. Jinten hitam mengandung lebih dari 100 nutrisi berharga, dan kandungan zat aktifnya antara lain adalah *thymoquinone*, *nigellone* dan minyak padat (Al Jassir, 1997; Basir, 1998).

Burits dan Bucar (2000) mendapatkan bahwa kandungan biji Jinten hitam berupa *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethole* dan *4-terpineol* mempunyai kemampuan *radical scavenging*. Komponen-komponen yang dikandung oleh Jinten hitam tersebut mempunyai kemampuan *OH radical scavenging* yang efektif pada peroksidasi lipid. Badary dkk (2003) melakukan penelitian untuk menguji

efek antioksidan *thymoquinone* dan *terbutylhydroquinone* (TBHQ) secara *in vitro* dan terbukti bahwa *thymoquinone* lebih aktif berperan sebagai *superoxide anion scavenger* daripada TBHQ.

Stres oksidatif berperan penting dalam patofisiologi berbagai penyakit, termasuk aterosklerosis, proses inflamasi, kanker, gagal ginjal kronik, dan diabetes mellitus serta proses penuaan (Jason DM, 1992; Young IS, Woodside JV, 2000). Stres oksidatif juga menjadi penyebab pada gangguan hati (Laura C, *et al.*, 2004; Reed, 1990). Kerusakan hepar akibat stres oksidatif ini dapat berupa gangguan metabolik maupun proliferasi. Pencegahan dari degenerasi lemak, fibrosis, dan sirosis dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan (Laura, *et al.*, 2004; Lutz, *et al.*, 2003).

Hati adalah organ tubuh yang berperan penting dalam proses metabolisme dan detoksifikasi. Pemaparan berbagai bahan toksik akan mempertinggi kerusakan hati. Hati potensial mengalami kerusakan karena merupakan organ setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh berbagai bahan yang bersifat toksik (Reed, 1990). Pada proses metabolisme oleh hati akan terjadi detoksifikasi berbagai bahan tersebut. Obat merupakan bahan yang juga mengalami proses detoksifikasi di hati. Berbagai obat yang dijual bebas dan digunakan tidak sesuai aturan atau dosis yang ditentukan, dapat berefek toksik pada hati, misalnya parasetamol (Oki, 2001). Proses detoksifikasi dapat menghasilkan metabolit yang bersifat lebih toksik daripada bahan induknya (Reed, 1990).

Parasetamol (*acetaminophen*) adalah suatu analgetika yang cukup banyak digunakan. Beberapa merek dagang obat analgesik yang secara generik berisi kandungan parasetamol dijual secara bebas, sehingga masyarakat bisa mendapatkannya tanpa resep dan pengawasan dokter. Obat ini aman jika

digunakan dalam dosis yang tepat dan dalam dosis normal metabolisme parasetamol hanya membentuk sejumlah kecil *N-asetyl-p-benzoquinonimine*(NAPQI), yang akan dikonjugasi oleh *Glutathione* (GSH) intraseluler, sehingga tidak memperlihatkan adanya toksisitas yang berarti dari parasetamol. Akan tetapi, pada dosis tinggi atau dalam keadaan peningkatan aktivasi oleh sitokrom P450, GSH intraseluler mengalami pengosongan secara cepat dan tidak mampu lagi mengkompensasi terbentuknya NAPQI dalam jumlah banyak. Hal ini akan memicu timbulnya lipid peroksidasi, membentuk ikatan dengan protein seluler, merubah homeostasis kalsium dan pada akhirnya menimbulkan nekrosis yang hebat pada hati (Liu, *et al.*, 1993; Reed, 1990).

Apabila sel hati mengalami kerusakan, maka enzim *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGOT) yang ada di dalam sel hati akan keluar dan masuk ke dalam peredaran darah, sehingga jumlah enzim tersebut dalam darah mengalami peningkatan. Demikian juga dengan γ *Glutamil Transpeptidase* (γ -GT) yang terdapat pada membran sel hati (Zakkim, *et al.*, 1990; Dufour, *et al.*, 2000). SGOT adalah enzim yang terdapat pada beberapa organ, selain terdapat di hati, juga banyak terdapat pada sel otot jantung dan otot bergaris. (Schiff, *et al.*, 1999).

Hati merupakan tempat konjugasi bilirubin bebas yang berasal dari sel retikuloendotelial, sehingga kerusakan pada sel hati akan mengganggu konjugasi dan *uptake* bilirubin yang menyebabkan peningkatan kadar bilirubin di dalam darah (Schiff, *et al.*, 1999).

Berdasarkan aktifitas Jinten hitam yang bekerja sebagai antioksidan dan dapat melindungi fungsi hati, perlu dilakukan penelitian efek Jinten hitam sebagai hepatoprotektor. Pada penelitian ini, peneliti ingin membuktikan apakah Jinten

hitam, yang diberikan secara oral pada hewan coba tikus putih jantan sebelum diinduksi dengan parasetamol dosis tinggi, mempunyai efek sebagai hepatoprotektor. Untuk melihat efek hepatoprotektif Jinten hitam akan dilakukan pengukuran kadar SGOT, SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek tikus. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi dan data ilmiah yang bermanfaat tentang pengaruh Jinten hitam sebagai hepatoprotektor.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal dapat mencegah peningkatan kadar SGPT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol?
2. Apakah pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal dapat mencegah peningkatan kadar γ -GT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol?
3. Apakah pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal dapat mencegah peningkatan kadar Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Membuktikan apakah ekstrak Jinten hitam, yang diberikan secara oral pada hewan coba tikus putih jantan sebelum diinduksi dengan parasetamol dosis tinggi tunggal, mempunyai efek sebagai hepatoprotektor.

2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal dapat mencegah peningkatan kadar SGPT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal dapat mencegah peningkatan kadar γ -GT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal dapat mencegah peningkatan kadar Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan :

1. Menambah pilihan obat alternatif yang aman, efektif, murah, mudah didapat dan berasal dari tumbuhan obat, yaitu Jinten hitam (*Nigella sativa*) yang diharapkan bermanfaat mencegah kerusakan sel hati.

2. Dapat diperoleh informasi dan data ilmiah tentang peran Jinten hitam pada pencegahan gangguan fungsi hati akibat pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal.
3. Dapat dimanfaatkan sebagai bahan pertimbangan pilihan suplemen yang dapat digunakan sebagai hepatoprotektor.

BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1 Radikal Bebas , Oksidan dan Antioksidan**

Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan pertahanan antioksidan akan menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif berhubungan dengan kerusakan yang meluas dari molekul, termasuk lemak, protein, dan asam nukleat (Young IS, Woodside JV, 2000).

2.1.1 Radikal bebas dan Oksidan

Radikal bebas dan oksidan seringkali dianggap dua hal yang sama didalam kedokteran. Tetapi sebenarnya pengertian radikal bebas dan oksidan ini berbeda, oleh karena terbentuk melalui proses yang berbeda meskipun dapat menghasilkan dampak/akibat yang sama (Suryohudoyo P, 2000). Oksidan adalah senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron (Suryohudoyo P, 2000; Wijaya, 1996). Sebagai contoh adalah Fe^{3+} pada reaksi:



Radikal bebas adalah senyawa/molekul/atom yang memiliki elektron yang tidak berpasangan, misalnya $\bullet OH$, $\bullet OOH$. Elektron yang tidak berpasangan ini cenderung menarik elektron dari senyawa lain (Suryohudoyo P, 2000; Wijaya, 1996). Akibatnya dapat menimbulkan reaksi berantai terbentuknya radikal bebas yang baru (Wijaya, 1996). Contoh:



Dari uraian di atas dapat disimpulkan, bahwa setiap radikal bebas adalah oksidan oleh karena dapat menarik elektron, tetapi tidak setiap oksidan merupakan

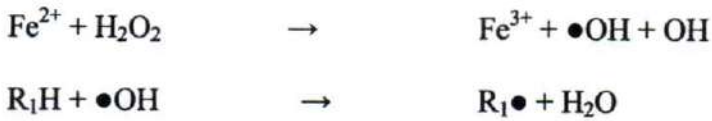
radikal bebas, karena tidak semua oksidan memiliki elektron yang tidak berpasangan (Suryohudoyo P, 2000)

Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan oksidan non radikal, hal ini oleh karena radikal bebas memiliki sifat-sifat:

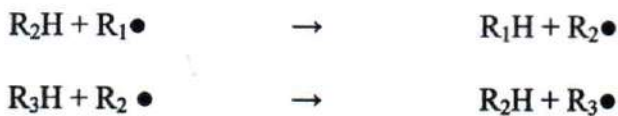
1. Reaktifitas yang tinggi
2. Dapat mengubah senyawa nonradikal menjadi radikal

Kemampuan untuk mengubah senyawa nonradikal menjadi radikal memicu terjadinya reaksi berantai, yang akan terus berlanjut sampai radikal bebas itu dihilangkan oleh reaksi dengan radikal bebas lain atau sistem antioksidan tubuh. Cara radikal bebas bereaksi dengan senyawa lain adalah sebagai berikut (Suryohudoyo P, 2000; Wijaya, 1996):

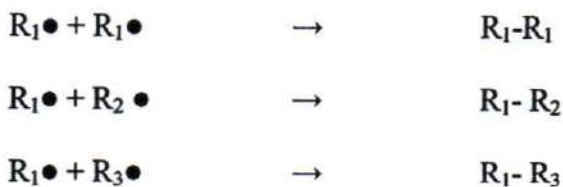
1. Tahap inisiasi



2. Tahap propagasi



3. Tahap terminasi

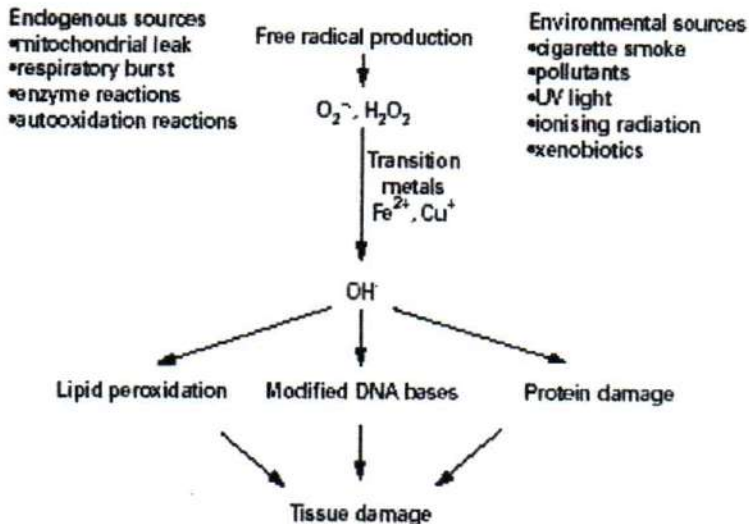


2.1.2 Radikal Bebas Oksigen dan Reactive Oxygen Species (ROS)

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah radikal endogen yang berasal dari oksigen. Radikal Bebas Oksigen merupakan bagian ROS yang merupakan radikal bebas (Halliwell, Gutteridge, 1999).

Pada proses respirasi seluler radikal oksigen dapat terbentuk. Pembentukan radikal dalam tubuh dapat dipengaruhi faktor endogen maupun eksogen (Young, Woodside, 2000).

Berikut ini merupakan bagan mekanisme terjadinya radikal bebas dalam tubuh .

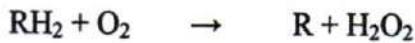


Gambar 2.1 : Bagan mekanisme terjadinya radikal bebas dalam tubuh (Young, Woodside, 2000).

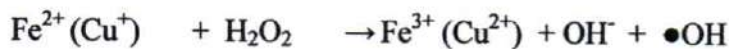
Yang termasuk dalam ROS meliputi hidrogen peroksida (H_2O_2), ion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal peroksil ($\bullet OOH$), radikal hidroksil ($\bullet OH$) dan singlet oksigen (1O_2). Dari macam-macam ROS tersebut yang termasuk radikal oksigen adalah ion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal peroksil ($\bullet OOH$) dan radikal hidroksil ($\bullet OH$).

2.1.2.2. Hidrogen Peroksida (H₂O₂)

Hidrogen peroksida terutama terbentuk karena aktifitas enzim oksidase yang terdapat dalam mikrosom dan peroksisom, dengan reaksi sebagai berikut:



H₂O₂ ini merupakan suatu oksidan yang sangat kuat dan dapat menghasilkan radikal hidroksil, yang dengan adanya logam transisi seperti besi atau tembaga akan terjadi reaksi *Fenton*, sebagai berikut (Suryohudoyo P, 2000; Wijaya, 1996) :



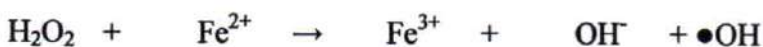
H₂O₂ juga mampu membentuk ion hipoklorit (ClO⁻), dengan katalisator enzim mieloperoxidase yang terdapat dalam leukosit:



2.1.2.1. Ion superoksida (O₂•⁻)

Sebenarnya ion superoksida kurang reaktif dan sangat kecil kemampuannya dalam merusak sel, tetapi dengan adanya logam transisi seperti zat besi atau tembaga, melalui reaksi *Haber-Weiss* akan terbentuk radikal bebas hidroksil yang bersifat sangat reaktif (Suryohudoyo P, 2000; Murray, *et al.*, 1999).

Reaksi tersebut adalah sebagai berikut :



Selain itu ion superoksida dapat juga menghasilkan radikal peroksil melalui reaksi:



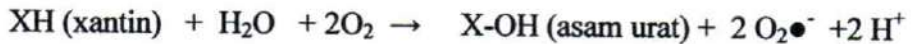
Radikal peroksil ini sangat reaktif oleh karena kemampuannya yang dapat menghasilkan radikal hidroksil dan radikal baru melalui reaksi:



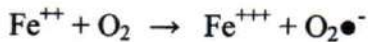
Suryohudoyo P, 2000)

Beberapa reaksi yang menghasilkan ion superoksida hádala (Suryohudoyo P, 2000):

1. Reaksi yang dikatalisis oleh xantin oksidase (XO), aldehide oksidase dan *nitric oxide synthase* (NOS), contoh reaksi yang diperantarai XO:



2. Hasil sampingan dari reaksi yang melibatkan Fe^{++} , contohnya: proses fosforilasi oksidatif dan proses oksigenasi Hemoglobin. Reaksi tersebut dapat ditulis sebagai berikut:



3. Reaksi yang dikatalisis oleh NADH/NADPH oksidase yang ada dalam granulosit dan mitokondria, contoh:

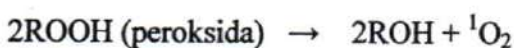


4. Reaksi autooksidasi (Halliwell, Gutteridge, 1999).

2.1.2.3. Singlet oksigen ($^1\text{O}_2$)

Sebagai bentuk yang reaktif dari Oksigen, $^1\text{O}_2$ terbentuk melalui reaksi reaksi (Suryohudoyo P, 2000):

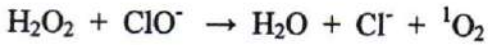
- Melalui enzim monooksigenase pada sitokrom P450 bila menggunakan suatu peroksida sebagai substrat:



- Enzim prostaglandin endoperoksida sintetase, dengan reaksi:



- Enzim mieloperoksidase, :



2.1.3. Akibat radikal bebas

Akibat negatif ROS dikarenakan reaktifitasnya yang tinggi, dapat merusak berbagai komponen penting sel yang mempengaruhi integritas dan kehidupan sel. Didalam sel hidup, radikal bebas dapat terbentuk pada membran plasma, beberapa organella (mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasmik) dan sitosol, melalui reaksi enzimatik fisiologis yang berlangsung (Wijaya, 1996; Murray, *et al.*, 1999).

Radikal bebas hidroksil merupakan senyawa yang sangat berbahaya disebabkan oleh reaktivitasnya yang tinggi dan berdampak negatif terhadap komponen penting untuk mempertahankan integritas sel, yaitu:

1. Membran sel

Membran sel terutama disusun oleh fosfolipid dengan asam lemak tidak jenuh, diantaranya adalah asam arakhidonat. Asam arakhidonat yang mengalami oksidasi melalui tiga tahap reaksi, yaitu pembentukan senyawa radikal alkil dan hidroperoksida lemak. Hidroperoksida lemak menjadi radikal bebas hidroksil dan alkoksil, dan akhirnya radikal alkoksil menjadi aldehid (malondialdehid = MDA), yang bersifat toksik.

2. DNA

Terjadi hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan cincin purin dan pirimidin, serta terputusnya fosfodiester DNA. Kerusakan yang parah dapat menimbulkan mutasi gen sehingga terbentuk sel kanker.

3. Protein

Radikal bebas hidroksil dapat bereaksi dengan protein yang mengandung asam amino dengan gugus sulfhidril (SH) dan mengakibatkan protein mengalami penurunan fungsi biologisnya (Suryohudoyo P, 2000).

2.1.4. Antioksidan

Organisme dapat mempertahankan diri dari oksidan dan serangan ROS, oleh karena memiliki mekanisme untuk meredam dampak negative ROS, yaitu berbagai senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan dapat didefinisikan sebagai substansi yang dapat dioksidasi, yang secara signifikan dapat menunda atau menghambat oksidasi dari oksidan. Antioksidan merupakan suatu donor elektron (Suryohudoyo P, 2000).

Peran fisiologi dari antioksidan, sesuai definisi diatas, adalah mencegah kerusakan komponen seluler yang terjadi sebagai akibat dari reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas. Antioksidan dapat mencegah radikal bebas menginduksi kerusakan jaringan dengan mencegah pembentukan radikal, efek *scavenging*, atau membantu dekomposisi jaringan yang rusak (Young, Woodside, 2000).

Dalam meredam dampak negatif oksidan, diterapkan strategi dua lapis, yaitu mencegah terhipungnya senyawa oksidan secara berlebihan dan mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan. Radikal mempunyai kemampuan untuk bereaksi dalam berbagai cara untuk menimbulkan kerusakan pada hampir semua komponen sel, dan dengan adanya pertahanan antioksidan yang luas, dari eksogen maupun endogen akan melindungi komponen seluler dari radikal bebas yang menginduksi kerusakan. Untuk mencegah dampak negatif oksidan tersebut, berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu:

1. Antioksidan pencegah reaksi berantai

- a. Berbagai enzim antioksidan, antara lain katalase, *glutathione peroxidase*, *glutathione reductase*, *superoxide dismutase* (SOD).
 - b. Protein yang mengikat logam yaitu ferritin, tranferrin, albumin dan seruloplasmin. Protein tersebut bekerja sebagai komponen penting dari sistem pertahanan antioksidan dengan mengikat Fe^{++} (ferritin dan tranferrin) dan Cu^{++} (albumin dan seruloplasmin) sehingga reaksi *Fenton* tidak terjadi.
2. Antioksidan pemecah rantai, adalah molekul yang dapat memberikan sebuah elektron kepada radikal bebas, sehingga menghasilkan produk yang stabil. Disamping bersifat sebagai peredam radikal bebas, antioksidan pemecah rantai dapat berperan sebagai pro oksidan. Pada lingkungan tertentu, adanya antioksidan mungkin dapat bertindak secara berlawanan dengan meningkatkan kerusakan oksidatif (Suryohudoyo P, 2000; Young, Woodside, 2000).

2.2. Hati

Hati (hepar) merupakan organ terbesar dalam tubuh yang terletak dalam rongga abdomen di bawah diafragma, dengan konsistensi lunak. Pada orang dewasa berat hati sekitar 1,4 – 1,6 kg atau sekitar 2,5 % dari berat badan. Hati terdiri dari sel hati yang disebut hepatosit. Sel hati ini tersusun dalam satu atau dua lapis susunan sel yang dipisahkan oleh *sinusoid* hati. Dalam keadaan segar, hati berwarna merah tua atau merah kecoklatan. Warna tersebut terutama disebabkan oleh adanya darah yang sangat banyak. Hati mempunyai dua suplai darah, yaitu vena porta dan arteri hepatica yang masuk melalui jalur porta hepatica.

Hati mempunyai tiga sistem saluran keluar, yaitu vena hepatica, pembuluh hepatica dan saluran empedu (Paulsen, 1993; Robbin, Kumar, 1995).

2.2.1. Sirkulasi

Di dalam hati, sirkulasi darah yang terjadi melibatkan: vena *porta*, arteri hepatica, *sinusoid* hati, vena sentralis, dan vena hepatica.

1. Vena *Porta*.

Vena ini dibentuk oleh vena mesenterika dan vena lienalis. Vena mesenterika mengirimkan darah yang kaya sari makanan tetapi kurang oksigen dari dinding usus. Vena lienalis mengirimkan produk sisa penghancuran sel darah merah dari *sinusoid* limfa. Vena *porta* ini menyuplai sekitar 75 % dari volume darah total, masuk melalui hilus hati. Vena ini bercabang menjadi venula-venula *porta* yang menembus parenkim hati dan mengosongkan darah ke dalam sinusoid-sinusoid hati

2. Arteri Hepatika.

Arteri ini merupakan cabang dari arteri *coeliaca* dan masuk ke hati bersama-sama dengan vena *porta*. Arteri ini mengirimkan darah yang kaya oksigen ke dalam *sinusoid*. Suplainya mencakup 25 % volume darah hati.

3. *Sinusoid* Hati.

Sinusoid hati berperan sebagai kapiler di hati. *Sinusoid* terletak diantara sel-sel hati yang tersusun radier dan menerima darah dari cabang vena *porta* dan arteri hepatica. Aliran vena dan arteri tersebut mengalir ke vena sentralis.

4. Vena Sentralis.

Vena sentralis terletak di pusat lobus hati. Vena ini menerima darah dari *sinusoid* dan mengirimkannya ke vena sub-lobularis yang lebih besar dan

akhirnya bergabung membentuk vena hepatika.

5. Vena Hepatika.

Pembuluh ini mengumpulkan darah yang kurang mengandung oksigen dan sari makanan dari vena *sub-lobularis*, kemudian membentuk vena yang lebih besar yang keluar dari hati melalui permukaan atas dan mengosongkan isinya ke vena *cava inferior* (Geneser, 1994; Paulsen, 1993; Robbin, Kumar, 1995).

Hati mengandung bermacam enzim. Peningkatan aktivitas enzim hati dalam serum (darah) merupakan gambaran rerata peningkatan kadar enzim yang masuk dalam serum akibat kerusakan sel hati. Tes yang lazim dilakukan untuk mengetahui adanya kerusakan hati pada umumnya berdasarkan adanya kebocoran zat-zat tertentu dari sel hati ke dalam peredaran darah (Sulaiman, *et al.*, 1990)

2.2.2. Lobulasi

Unsur utama struktur hati adalah sel hati atau hepatosit. Sel hati berkelompok dalam susunan yang saling berhubungan sedemikian rupa sehingga membentuk suatu unit struktural yang dinamakan lobulus hati. Hubungan antara struktur dan fungsi hati dapat digambarkan melalui tiga model pembagian hati, yaitu (Geneser, 1994; Paulsen, 1993; Robbin, Kumar, 1995):

1) Lobulus Hati Klasik.

Model ini berdasarkan pada aliran darah di hati. Pada irisan hati, struktur lobulus hati membentuk suatu pola heksagonal. Pada manusia, batas lobulusnya tidak jelas, akan tetapi dapat diperkirakan dengan memperhatikan posisi *portal triad* pada pinggirnya dan vena sentralis yang terletak di tengah serta sel hati dan sinusoid terletak diantaranya.

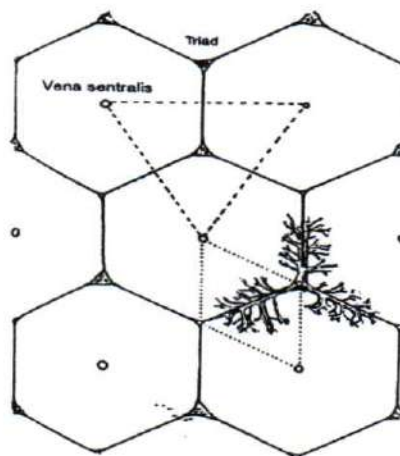
Portal triad terletak dalam ruang *portal*, yang terletak pada sudut dari struktur lobulus yang bersisi enam. Masing-masing *triad* mengandung tiga unsur utama, yaitu *venula porta* (cabang vena *porta*), arteriola hepatica (cabang arteri hepatica) dan duktus empedu. Kadang-kadang dijumpai pembuluh limfa.

Vena sentralis merupakan tanda pusat tiap-tiap lobulus. Struktur ini mudah dibedakan dari portal triad karena lebih besar dan jaringan ikatnya lebih sedikit. Beberapa sel hati membentuk suatu susunan radier dari vena sentralis ke pinggir lobulus (seperti jari-jari suatu roda). Susunan sel tersebut dipisahkan oleh sinusoid yang menerima darah dari pembuluh di *portal triad*, menyalurkan darah ke vena sentralis.

2) Lobulus *Porta*.

Model ini terutama didasarkan pada aliran empedu yang berlawanan dengan aliran darah. Dengan demikian parenkim hati dibagi dalam bentuk segitiga yang saling berhubungan, dimana masing-masing mempunyai *portal triad* pada pusatnya dan vena sentralis pada sudut-sudutnya.

Keterangan:
 A : Lobulus hati klasik
 B : Lobulus *Porta*
 C : *Asinus* hati



Gambar 2.2. Pembagian lobulus hati secara skematis (Geneser, 1994).

3) *Asinus Hati (Rappaport).*

Model ini berdasarkan pada perubahan kandungan oksigen, sari makanan dan produk-produk metabolit. Merupakan model abstrak, digambarkan dalam bentuk permata. Mengandung 2 vena sentralis dan 2 *portal triad*. Gambaran ini terbagi dalam 2 segitiga oleh suatu garis yang menghubungkan *portal triad*. Setiap segitiganya dapat dibagi dalam 3 *zona* berdasarkan jarak dari pembuluh darah. *Zona I* lebih dekat dengan pembuluh darah, *zona III* lebih dekat dengan vena sentralis sedangkan *zona II* berada di tengahnya. *Sinusoid* pada *zona I* mempunyai kandungan oksigen dan sari makanan yang lebih tinggi dibandingkan dengan *zona* lainnya. Pada *Zona III* terdapat sel yang paling dekat dengan vena sentralis, sel-selnya relatif kekurangan oksigen dan sari makanan, sehingga hal tersebut menyebabkannya menjadi lebih sering mengalami kerusakan dibandingkan dengan *zona* lainnya (Geneser, 1994; Paulsen, 1993).

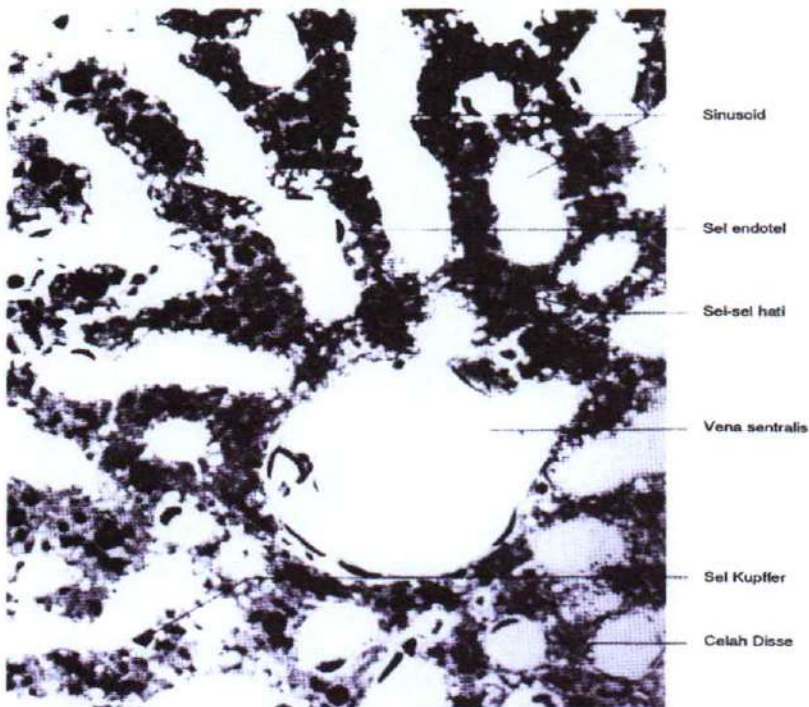
Kerusakan tersebut bila dilihat pada tingkat perubahan seluler, dapat diamati perubahan sel, dari degenerasi sampai nekrosis. Berbagai bentuk degenerasi merupakan manifestasi dari gangguan metabolik yang mempengaruhi morfologi sel atau substansi interselulernya. Degenerasi dapat berupa bengkak keruh (*cloudy swelling*) dan hidropik, degenerasi perlemakan dengan *droplet* hialin (Geneser, 1994; Paulsen, 1993).

Jika jejas terjadi cukup hebat dan berlangsung cukup lama, maka sel tidak lagi dapat mengkompensasi dan melangsungkan metabolismenya, sehingga pada akhirnya akan mencapai suatu titik dimana perubahan selulernya bersifat ireversibel dan terjadilah nekrosis. Nekrosis adalah perubahan morfologi sel sebagai akibat degradasi progresif oleh berbagai enzim pada sel yang terkena jejas letal. Secara morfologi, nekrosis adalah kematian jaringan yang ditandai dengan

destruksi inti sel yang meliputi piknotis (pengerutan inti), karioreksis (fragmentasi inti) dan kariolisis (penghancuran inti) (Geneser, 1994; Paulsen, 1993).

2.2.3. Hepatosit

Hepatosit berbentuk heksagonal dengan batas yang jelas, berdiameter \pm 20-30 μ , tersusun radier dalam lobulus hati yang berjalan dari perifer menuju ke bagian tengah lobulus dan berakhir di vena sentralis. Antara sel hati yang berbatasan terdapat kapiler empedu yang menyalurkan isinya ke dalam saluran empedu di portal area. Hepatosit menunjukkan variasi minimal dalam ukurannya, tetapi nukleusnya dapat bervariasi dalam ukuran dan jumlah terutama pada usia lanjut (Geneser, 1994).



Gambar 2.3. Sel-sel hati (Geneser F, 1994)

Sisi-sisi dari setiap sel berhubungan dengan *sinusoid* melalui celah *Disse*. Antara 2 hepatosit yang berbatasan terdapat celah tubuler yang disebut *kamalikuli biliaris*. Hepatosit berada dalam vaskularisasi yang baik, yang berasal dari vena *porta* maupun darah dari arteri hepatica, mencakup 25 % dari *cardiac output*, sehingga hepatosit merupakan salah satu sel yang perfusinya sangat baik.

Sinusoid-sinusoid dilapisi oleh sel endotel dan dapat dijumpai sel *Kupfer* yang memiliki fungsi monosit-fagosit. Sel-sel *Kupfer* ini dijumpai pada permukaan luminal dari sel-sel endotel dan terletak di antara sel pelapis dinding endotel. Disamping itu juga dapat dijumpai sel *stellata hepatica* yang mengandung lemak yang terletak di ruang *perisinusoidal*. Sel ini mempunyai kemampuan untuk menyimpan vitamin A dalam bentuk droplet lipid, namun fungsi faalnya belum jelas (Geneser, 1994).

Seperti sel pada umumnya, hepatosit mengandung organela. Mitokondria meliputi 20 % dari volume hepatosit dan berperan dalam metabolisme asam trikarboksilat, katabolisme asam lemak dan oksidasi fosforilasi untuk penyediaan ATP. Apparatus Golgi berfungsi sebagai tempat pengumpulan dan kondensasi hasil sekresi. Retikulum endoplasma (RE) ada dua macam, yaitu RE kasar jika terdapat ribosom yang menempel pada dinding luarnya dan RE halus jika tidak terdapat ribosom yang menempel pada dinding luarnya. RE kasar berhubungan dengan sintesis protein, sedangkan RE halus jika dilakukan homogenisasi dan disentrifuse, maka akan pecah menjadi fragmen-fragmen halus yang disebut dengan mikrosom (Geneser, 1994).

Mikrosom berhubungan dengan pembentukan glukuronida, sintesis kolesterol, metabolisme asam empedu, hormon steroid, obat-obatan dan bahan kimia lainnya. Dalam mikrosom terdapat banyak enzim yang berperan dalam

proses metabolisme obat secara oksidatif yang dikenal dengan kelompok enzim *mixed function oxydase* (MFO) atau *dependent monooxygenase system*. Aktivitas enzim ini membutuhkan bahan pereduksi (NADPH) dan molekul oksigen. Dalam proses oksidasi reduksi ini, terdapat 2 enzim mikrosom yang memegang peranan penting, yaitu enzim flavoprotein (*NADPH-Cytochrom P450 reductase*) dan hemoprotein yang disebut dengan sitokrom P450 (yang mengandung enzim *monooxygenase*), yang berperan sebagai oksidase terminal. Dalam hati, sitokrom P450 ini banyak dijumpai di daerah sentrilobuler. Dan pada membran mikrosom terdapat berbagai bentuk hemoprotein dan jumlah hemoprotein ini mengalami peningkatan dengan adanya pemberian zat-zat kimia asing (eksogen) (Katzung, 2001; Koymans, *et al*, 1999; Manyike, 2000).

2.2.4. Fungsi Hati

Hati mempunyai beberapa fungsi penting, sebagian besar diperankan oleh hepatosit. Metabolisme hati ikut berperan dalam pencernaan yang melibatkan proses enzimatik, yaitu terhadap sari makanan yang diabsorpsi usus untuk digunakan oleh tubuh. Beberapa enzim hepatosit membantu detoksifikasi dengan merubah zat kimia yang berbahaya dan obat-obatan menjadi bentuk yang tidak berbahaya. Hepatosit juga mensintesis beberapa protein penting, contohnya: albumin, protrombin, fibrinogen, lipoprotein dan mensekresinya ke dalam pembuluh darah. Hati juga mensintesis *pigmen* empedu dari sisa sel darah merah yang telah mati dan mengalirkan sekresinya ke dalam saluran empedu, dalam hal ini hati berperan sebagai kelenjar eksokrin. Fungsi hati yang lain adalah sebagai tempat penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen, lemak dan vitamin A (Geneser, 1994; Paulsen, 1993).

Meskipun secara patologis sebagian besar hati mengalami kerusakan jaringan yang parah, namun gejala-gejala klinis pada penderita tidak selalu dapat diamati. Hal tersebut dimungkinkan karena jaringan hati memiliki cadangan fungsional yang sangat besar, oleh karena itu kegagalan fungsi hati kemungkinan baru terjadi setelah sebagian besar (70%) sel-sel parenkim hati atau hepatosit mengalami kerusakan (Schiff, 1999).

2.2.5. Tes Fungsi Hati

Tes fungsi hati dapat diklasifikasikan menjadi tes berdasarkan sekresi dan ekskresi hati yaitu pigmen empedu dan pengeluaran zat-zat asing, tes hati yang berdasarkan fungsi biokimia hati berupa tes metabolisme protein, tes metabolisme karbohidrat dan tes metabolisme lemak, tes berdasarkan aktivitas enzim serum meliputi enzim transaminase, enzim alkali fosfatase dan enzim lainnya, serta tes berdasarkan makroskopis anatomi yaitu dengan biopsi hati (Sulaiman, *et al.*, 1990).

Untuk menentukan diagnosis, perlu dilakukan serangkaian tes fungsi hati. Dari jenis-jenis tes tersebut diatas, tes berdasarkan aktivitas enzim adalah yang paling sering dilakukan karena lebih praktis (Sulaiman, *et al.*, 1990).

2.2.5.1. Enzim Transaminase

Enzim ini juga disebut dengan enzim amino transferase, yang merupakan enzim intraseluler. Transaminase adalah suatu kelompok enzim transferase yang berperan penting dalam metabolisme asam amino. Aktivitas enzim ini dalam serum merupakan indikator yang paling sering digunakan pada penyakit hati. Enzim ini mengkatalisis transfer gugus α -amino dari asam amino ke gugus α -keto

dari asam keto dan menghasilkan pembentukan asam amino dan asam keto baru (Schiff, 1999; Sulaiman, *et al.*, 1990).

Ada 2 transaminase yang banyak didapat dan penting secara klinis, yaitu *Serum Glutamate Piruvat Transaminase* (SGPT) dan *Serum Glutamate Oksaloasetat Transaminase* (SGOT)

SGPT juga disebut dengan *Alanin Amino Transferase* (ALT) merupakan enzim sitoplasma dan dijumpai dalam konsentrasi rendah pada jaringan selain hati. Enzim ini memindahkan gugus amino dari alanin ke asam α -ketoglutarat, membentuk asam glutamat dan asam piruvat (Schiff, 1999).

SGPT yang dilepas dari sel yang rusak, berkaitan dengan peningkatan permeabilitas membran sel atau nekrosis sel. Kadar SGPT serum yang tinggi merupakan indikator yang spesifik untuk kerusakan hati (Rosalki, 1999; Reed, 1990; Sulaiman, *et al.*, 1990), meskipun di dalam ginjal, jantung dan otot rangka juga mengandung sejumlah kecil enzim ini (Schiff, 1999; Sulaiman, *et al.*, 1990). Selain itu juga terdapat di pankreas, limpa, paru dan eritrosit (Robert, *et al.*, 2000). Pada kasus *acute infark miokard* kadar SGPT dapat juga meningkat ringan tetapi akan kembali normal sebelum SGOT (Schiff, 1999; Sulaiman, *et al.*, 1990).

SGOT, disebut juga dengan *Aspartat Amino Transferase* (AST), adalah enzim yang mengkatalisis pemindahan gugus amino dari asam aspartat ke asam α -ketoglutarat, membentuk asam glutamat dan asam oksaloasetat. Enzim ini terdapat pada beberapa organ, termasuk di hati, sel otot jantung, otot bergaris, ginjal, otak, pankreas, paru, leukosit dan eritrosit tetapi lebih banyak terdapat dalam jantung dibandingkan dengan organ lain (Schiff, *et al.*, 1999; Widmann, 1994).

SGOT 20% terdapat dalam sitoplasma, dan 80% terdapat di mitokondria, sehingga disebut enzim mitokondria (Sulaiman, *et al.*, 1990).. Jika jaringan

tersebut rusak, maka SGOT keluar dari sel dan masuk ke dalam darah sehingga kadar dalam serum akan meningkat. Peningkatan kadar enzim dalam darah biasanya tampak dalam 8 jam setelah setelah rudapaksa. Jika rudapaksa tersebut tidak berlanjut, maka kadar enzim dalam serum akan turun sampai normal kembali dalam 4 sampai 6 hari (Robert, *et al.*, 2000).

SGOT dijumpai meningkat dalam serum penderita hepatitis oleh virus, dan pada penyakit-penyakit hati lainnya. Enzim ini juga dianggap sebagai petunjuk adanya kerusakan hati (Rosalki, 1999; Reed, 1990; Schiff, *et al.*, 1999). Seperti disebutkan sebelumnya, enzim SGOT pada manusia terdiri atas fraksi yang berasal dari sitoplasma dan mitokondria. Pada penyakit hati, fraksi SGOT yang berasal dari sitoplasma dan mitokondria meningkat, tetapi pada kerusakan hepatoseluler peningkatan fraksi sitoplasma lebih tinggi. Pada nekrosis jaringan yang berat dan penderita hepatitis alkoholik, fraksi mitokondria lebih tinggi (Sulaiman HA, *et al.*, 1990). *Alanine aminotransferase (ALT)* memindahkan kelompok amino antara alanin dan asam alfa ketoglutamat. Dinamakan juga *serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT)* (Schiff, *et al.*, 1999; Widmann, 1994).

Pengukuran enzim amino transferase mempunyai nilai utama dalam mendeteksi kerusakan hepatoseluler dan memantau kemajuan kesehatan penderita. Nilai yang kembali normal biasanya menunjukkan perbaikan (resolusi) dari berbagai faktor yang menyebabkan kerusakan hepatoseluler. Untuk kelainan hati, aktivitas SGPT **lebih spesifik** dan lebih sering meningkat jika dibandingkan dengan SGOT (Rosalki, 1999).

2.2.5.2. Gamma Glutamil Transpeptidase (γ -GT)

γ -GT merupakan enzim yang mengkatalisis pemindahan kelompok γ -glutamyl dari peptida γ -glutamyl misalnya *glutathion*, ke peptida yang lain atau L-asam amino (pengecualian untuk prolin). Fungsi ini digunakan untuk menentukan aktivitas enzimatik. Substrat yang paling banyak digunakan untuk penentuan γ -glutamil transpeptidase adalah γ -L-glutamil-p-nitroanilida, dimana setelah transfer gugus γ -glutamil menjadi *glycylglycine*, akan melepaskan produk kromogenik p-nitroanilida (Schiff, *et al.*, 1999 ; Widmann, 1994).

γ -GT terutama terdapat pada hati, selain itu juga terdapat pada membran ginjal, vesikula seminal, pankreas, limfa, jantung, limfe dan otak serta intestinal. γ -GT dapat mengkatalisis metabolisme *S-substituted glutathione conjugate* dari berbagai xenobiotik (Schiff, *et al.*, 1999; Zakkim, *et al.*, 1990; Dufour, *et al.*, 2000).

Melalui teknik histokimia, γ -GT terlokalisasi dalam seluruh jaringan hepatobiliari, dari hepatosit menuju ke *bile duct* dalam hati, dan juga menuju duktus dan asinus pankreas. γ -GT disekresikan menuju *bile*, mempunyai 2 tipe primer, yang pertama berhubungan dengan fraksi partikulat dari alkali fosfatase *biliary* dan yang lainnya berhubungan dengan kompleks alkali fosfatase *biliary* dan lipoprotein. γ -GT teridentifikasi pada fragmen membran yang sama, yang mengandung partikulat alkali fosfatase. Dua isoenzim minor *biliary* γ -GT juga teridentifikasi, yaitu enzim yang besar, dengan densitas tinggi yang bermigrasi secara elektroforesis dalam agar dengan β -globulin, dan yang lain adalah enzim yang lebih kecil dengan densitas lebih rendah yang bermigrasi dengan α_2 -globulin (Schiff, *et al.*, 1999; Zakkim, *et al.*, 1990).

Nilai γ -GT dalam serum yang normal adalah 0 - 30 IU/ L, tergantung pada usia dan jenis kelamin. Pada laki-laki lebih besar daripada perempuan, dan mengalami peningkatan seiring dengan penambahan usia. Anak usia lebih 4 tahun mempunyai kadar sama dengan dewasa sedangkan janin dapat mempunyai nilai γ -GT 5 – 8 kali lebih besar daripada dewasa. (Schiff, *et al.*, 1999; Zakkim, *et al.*, 1990).

Pada penyakit hati, aktivitas kenaikan alkali fosfatase dalam serum mempunyai korelasi dengan serum alkali fosfatase, dan merupakan indikator yang sensitif juga tetapi tidak spesifik untuk penyakit sistem bilier. Serum γ -GT adalah tes yang paling sensitif (akurasi > 90 %) untuk mendeteksi penyakit hepatobilier. Perlu tes diagnosis untuk konfirmasi kenaikan alkali fosfatase, apakah kenaikan alkali fosfatase ini berasal dari sumsum tulang atau hepatobilier maka dilakukan pemeriksaan kadar γ -GT karena γ -GT tidak ditemukan dalam sumsum tulang (Schiff, *et al.*, 1999 ; Widmann, 1994).

Enzim yang beredar dalam serum terutama berasal dari hati dan saluran empedu, sehingga jika terjadi peningkatan kadar enzim dalam serum, maka mengarah ke penyakit hepatobilier (Dufour, *et al.*, 2000; Schiff, *et al.*, 1999; Widmann, 1994; Zakkim, *et al.*, 1990).

Beberapa peneliti menemukan bahwa γ -GT lebih sensitif daripada enzim alkali fosfatase, leusin aminopeptidase, dan 5' nukleotidase dalam mendeteksi kelainan di hepar (Schiff, *et al.*, 1999). Aktivitas alkali fosfatase dan γ -GT sama-sama meningkat pada penderita hepatitis karena alkohol, tetapi kadar γ -GT dalam serum meningkat 1300% dari normal, sedangkan kadar alkali fosfatase hanya meningkat ringan (Schiff, *et al.*, 1999). Enzim ini lebih sensitif dibandingkan alkali fosfatase pada penyakit hepar obstruktif dan kolestasis, dimana γ -GT meningkat

sebesar 12 kali dari nilai normal pada 93-100% sampel penelitian, sedangkan alkali fosfatase hanya meningkat 3 kali normal pada 91% sampel. γ -GT juga meningkat pada 80-95% penderita hepatitis akut (Dufour, *et al.*, 2000).

Faktor lain yang mempengaruhi peningkatan enzim ini adalah adanya penyakit diabetes, hipertiroid, rematoid arthritis, penyakit paru obstruktif menahun, gangguan pankreas, infark miokard, gagal ginjal, serta gangguan otak dan neurology (Dufour, *et al.*, 2000; Schiff, *et al.*, 1999; Widmann, 1994; Zakkim, *et al.*, 1990).

γ -GT dapat sebagai alat identifikasi secara histokimia pada biopsi liver dari pasien yang diduga mengalami karsinoma hepatoseluler, karena terjadi peningkatan γ -GT 40 kali lipat dibandingkan dengan aktivitas γ -glutamil transpeptidase yang ditemukan pada fokus *preneoplastic* hepatosit hewan (David, *et al.*, 1990).

2.2.5.3. Bilirubin

Bilirubin adalah salah satu hasil katabolisme heme. Bagian terbesar bilirubin ini berasal dari hemoglobin, hanya 10-15% berasal dari katabolisme zat-zat lain. Sel retikuloendotelial membuat bilirubin yang tak larut air, bilirubin yang disekresikan ke dalam darah diikat albumin untuk diangkut di dalam plasma. Hepatosit adalah satu-satunya sel yang melepaskan ikatan itu dan mengkonjugasikan bilirubin dengan asam glukuronat dan hasil konjugat tersebut larut air. Bilirubin terkonjugasi tersebut masuk ke dalam saluran empedu dan diekskresikan ke dalam usus (Sulaiman, *et al.*, 1990; Widmann, 1994).

Bagian terbesar dari bilirubin dalam darah normal adalah bentuk yang tak larut air, dimana bilirubin terikat pada albumin yang merupakan pengangkut

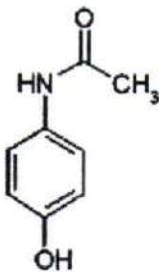
bilirubin dari sel retikuloendotelial ke hati. Sedikit dari bilirubin direk (terkonjugasi) merembes ke dalam plasma, tetapi dalam keadaan normal, bilirubin itu dikeluarkan bersama empedu (Sulaiman, *et al.*, 1990; Widmann, 1994).

Kadar bilirubin indirek dalam serum meningkat apabila pemecahan hemoglobin meningkat, fungsi konjugasi/hepatoselular terganggu atau bila ekskresinya terganggu. Bilirubin direk meningkat apabila ada obstruksi dari saluran empedu/kanalikuli intra dan ekstra hepatic. Akan tetapi sering ditemukan di klinik, kadar bilirubin direk smeninggi pada gangguan fungsi hepatoselluler yang berat (Sulaiman, *et al.*, 1990; Widmann, 1994).

2.3 Parasetamol

Parasetamol (dikenal dengan *Acetaminophen*) merupakan turunan dari *para-aminophenol*. Senyawa ini pertama kali diperkenalkan untuk terapi pada tahun 1887 dan kemudian banyak digunakan dalam berbagai campuran analgesik sampai pada akhirnya terbukti dapat menimbulkan kerusakan pada ginjal (nefropati) (Katzun, 2001).

Parasetamol pertama kali digunakan dalam medis oleh Von Mering pada tahun 1893. Pada Juli 1950, salah satu perusahaan di Amerika Serikat mulai memproduksi trigesik yang berisi 125 mg parasetamol, 230 mg aspirin dan 30 mg caffeine. Akan tetapi pada Januari 1951, terdapat laporan dari sebuah rumah sakit



Gambar 2.4. Struktur Parasetamol (Eastvold, 2005)

bahwa terdapat dua penderita agranulositosis yang disebabkan oleh penggunaan trigesik, sehingga penggunaan parasetamol diragukan. Kemudian laboratorium *Wintrop* mengadakan suatu penelitian dengan membuat tablet panadol yang berisi parasetamol murni 500 mg, dan ternyata efek sampingnya kecil. Penemuan ini dipublikasikan pada *British Medical Journal* pada tahun 1956. Pada tahun 1963 dipublikasikan lagi pada *British Pharmacopedia*, sehingga penggunaan parasetamol meningkat dan menggeser pemakaian aspirin. Pada tahun 1974, penggunaan parasetamol ini sebanding dengan aspirin (Julia, 1988).

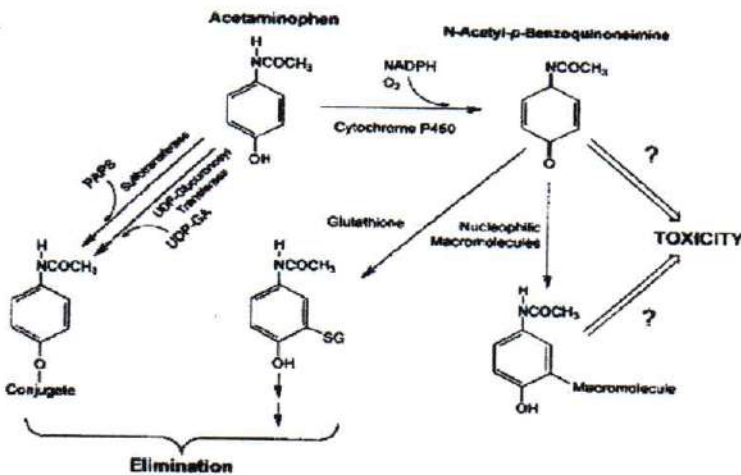
2.3 .1. Sifat Fisik dan Kimia Parasetamol

Parasetamol mempunyai beberapa nama alkohol, diantaranya adalah *Acetaminophen, N-4-Hydroxyphenyl (L) acetamide, 4'-hidroxyacetanilide, N-acetyl-P-Aminophenol, Paracetamololum*. Parasetamol merupakan alkohol dari Fenasetin, dengan hidrolisis gugus etil sehingga terbentuklah suatu gugus hidroksil yang menggantikan gugus etil tersebut. Parasetamol berupa serbuk kristal berwarna putih, tidak berbau, rasanya sedikit pahit, mempunyai perbandingan kelarutan 1 : 70 dalam air, 1 : 20 dalam air panas, 1 : 10 dalam alkohol, sedikit larut dalam kloroform dan eter, peka terhadap udara dan cahaya, mempunyai pH 5,3 – 6,5 dan pKa 9,51 (Martindale, 2001).

2.3 .2. Farmakokinetik

Parasetamol diabsorpsi secara cepat dan hampir sempurna melalui saluran cerna. Absorpsinya tergantung dari kecepatan pengosongan lambung, kadar puncak dalam darah tercapai dalam waktu 30 – 60 menit dan waktu paruh dalam plasma \pm 2 jam setelah pemberian dosis terapeutik. Parasetamol berbentuk sirup akan lebih

cepat diserap dari pada bentuk tablet. Parasetamol didistribusikan ke seluruh cairan tubuh, ikatan dengan protein plasma bervariasi antara 20 % - 50 %. Setelah pemberian dosis terapeutik, 90 % - 100 % dapat dijumpai dalam urine pada 24 jam pertama, terutama setelah konjugasi dengan asam glukuronat (sekitar 60 %), asam sulfat (sekitar 35 %) atau sistin (sekitar 3 %). Pada proses ini, parasetamol diikat pada asam glukuronat dengan bantuan enzim glukuronil transferase maupun dengan asam sulfat dengan bantuan enzim sulfonil transferase sehingga berubah menjadi produk yang bersifat in-aktif, non-toksik, larut dalam air dan siap diekskresikan melalui ginjal (Benet *et al.*, 1996; Wilson, Gisvold, 1982). Hanya sebagian kecil parasetamol yang mengalami hidroksilasi oleh sitokrom P450 dan membentuk *N-acetyl-p-benzoquinonimine*(NAPQI) yang merupakan senyawa antara yang sangat reaktif (Benet, *et al.*, 1996; Wilson, Gisvold, 1982; Roberts, Morrow, 2001).



Gambar 2.5. Gambar metabolisme parasetamol dan ekskresinya (Eastvold, 2005)

Pada anak usia 3 – 9 tahun, bentuk konjugasi dengan sulfat adalah yang terbanyak dijumpai. Hal ini disebabkan karena pada anak-anak, enzim yang mengkonjugasikan parasetamol dengan asam glukuronat, yaitu glukuronil transferase masih belum terbentuk sempurna, akan tetapi proses konjugasi dengan

asam sulfat telah berkembang dengan baik, sehingga menjadi jalur utama bagi ekskresi parasetamol (Wilson, Gisvold, 1982).

2.3 .3. Farmakodinamik

Parasetamol mempunyai efek analgetik dan antipiretik yang tidak berbeda dengan aspirin, akan tetapi efek anti inflamasinya lemah (Katzung, 2001).

2.3.3 .1. Efek Analgetik

Parasetamol seperti halnya aspirin atau obat golongan *Non Steroid Antiinflammation Drug* (NSAID) lainnya bersifat efektif terhadap rasa nyeri tertentu, yaitu tipe nyeri yang mekanismenya ditingkatkan oleh prostaglandin. Beberapa prostaglandin meningkatkan kepekaan serabut saraf *afferent nociceptive* terhadap mediator-mediator seperti bradikinin. Dengan adanya prostaglandin E1 dan E2, nyeri akan tetap terasa meskipun konsentrasi mediator-mediator inflamasi seperti *5-hidoxy triptamin* (5-HT) atau bradikinin lemah. Dengan demikian, obat ini efektif menekan nyeri yang berkaitan dengan proses inflamasi, termasuk nyeri dengan intensitas ringan sampai sedang, seperti arthritis, mialgia dan nyeri yang bersumber dari vaskuler (Rang, Dale, 1995; Roberts, Morrow, 2001).

2.3.3 .2. Efek Antipiretik

Efek antipiretik parasetamol melalui efek sentral, yaitu pada pusat pengatur suhu tubuh di hypothalamus yang terletak berdekatan dengan pusat pengatur rasa sakit. Sebagai antipiretik, efek penurunan suhu jelas terlihat pada penderita yang mengalami demam. Dalam keadaan demam, thermostat hypothalamus berada pada titik tertentu yang menyebabkan suhu tubuh meningkat. Pada keadaan reaksi inflamasi, endotoksin bakteri menyebabkan pelepasan suatu zat pirogen oleh

makrofag, yang kemungkinan merupakan interleukin-1 (IL-1). Zat pirogen tersebut menyebabkan pelepasan prostaglandin seri E di hypothalamus dan hal tersebut menimbulkan peningkatan *set-point* thermostat suhu tubuh. Diduga efek parasetamol dan golongan obat NSAID lainnya dapat mengembalikan *set-point* pada posisi normal dengan cara menghambat sintesis prostaglandin. Jika *set-point* thermostat telah berada dalam keadaan normal, maka mekanisme pengaturan suhu perifer (dilatasi pembuluh darah perifer, berkeringat) akan berperan dalam menurunkan suhu tubuh (Katzung, 2001).

2.3 .4. Penggunaan untuk Terapi

Parasetamol merupakan obat analgetik antipiretik yang tepat sebagai pengganti *salisilat* jika terdapat kontra-indikasi. Dosis oral yang lazim adalah 325 – 1000 mg (650 mg). Dosis harian tidak lebih dari 4000 mg. Dosis tunggal untuk anak adalah 40 – 480 mg, tergantung umur dan berat badan tetapi tidak lebih dari 5 dosis dalam 24 jam. Pemberian juga dapat menggunakan dosis 10 mg/kg berat badan (Katzung, 2001; Roberts, Morrow, 2001).

2.3 .5. Hepatotoksisitas oleh Parasetamol

Hepatotoksisitas oleh parasetamol tidak hanya terjadi pada orang yang mengkonsumsi obat tersebut dalam dosis besar, tetapi dapat juga terjadi pada dosis wajar (dosis terapeutik) dalam jangka waktu yang lama (Katzung, 2001). Julia (1988) telah melakukan penelitian pada tikus yang diberi parasetamol dengan dosis tunggal 350 s/d 700 mg/KgBB secara oral dan pada pemeriksaan histopatologi ditemukan adanya kerusakan sel hati, yang ditandai dengan adanya peningkatan SGOT dan SGPT.

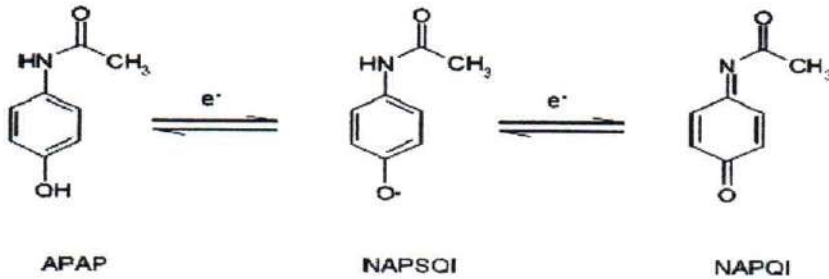
Pada orang dewasa, hepatotoksisitas yang cepat dapat timbul pada penggunaan parasetamol dosis tunggal sebanyak 10 – 15 gram dan pada dosis 20 – 25 gram dapat menimbulkan keadaan yang fatal. Gejala yang timbul dalam 2 hari keracunan parasetamol dapat berupa mual, muntah dan anoreksia. Nyeri perut dapat timbul pada 24 jam pertama dan dapat bertahan selama 1 minggu atau lebih. Kerusakan hati akan termanifestasi dalam 2 – 4 hari setelah konsumsi parasetamol dosis toksik. Plasma aminotransferase meningkat tajam dan kemungkinan 10 % penderita keracunan parasetamol tanpa terapi spesifik akan menimbulkan kerusakan hati yang berat serta 10 % - 20 % diantaranya akan meninggal karena kegagalan fungsi hati (Roberts, Morrow, 2001; Katzung, 2001).

Dalam beberapa dekade terakhir ini telah diketahui bahwa hepatotoksisitas parasetamol diperantarai oleh pembentukan bahan senyawa antara yang toksik hasil biotransformasi dari senyawa asal. Pada penelitian dengan menggunakan hewan coba, menunjukkan bahwa toksisitas berhubungan tidak hanya dengan dosis, tetapi juga dengan aktivitas enzim mikrosomal yang memetabolisme obat tersebut (Reed, 1990).

Biotransformasi parasetamol terutama dikatalisir oleh enzim mikrosomal yang terdapat di retikulum endoplasmik hati. Dalam proses metabolismenya, sebagian besar dari metabolit yang terbentuk berupa konjugat glukuronat dan sulfat. Disamping itu, sebagian kecil akan mengalami hidroksilasi oleh enzim sitokrom P450 yang merupakan bagian dari *mixed function oxidase* (MFO) menjadi NAPQI yang merupakan bentuk senyawa antara yang sangat reaktif (bentuk reaktif ini yang dianggap bersifat hepatotoksik) (Eastvold, 2005).

Metabolit reaktif ini dapat berikatan secara kovalen atau melalui ikatan non-kovalen dengan molekul target dan dapat mengubah molekul target tersebut.

Kadang-kadang beberapa metabolit reaktif berikatan dengan molekul target secara kovalen dan melalui ikatan non-kovalen (Rumack, 1990).



Gambar 2.6. Proses perubahan parasetamol menjadi senyawa metabolit reaktif NAPQI (Reed D, 1990).

Metabolit reaktif dapat berinteraksi dengan sel dan berpotensi untuk merusak sel melalui 2 proses, yaitu (Eastvold, 2005; Reed, 1990):

a. Fase Metabolik

Pada kondisi normal, NAPQI secara cepat akan dikonjugasikan atau didetoksifikasi oleh GSH menjadi senyawa yang tidak toksik dan diekskresikan melalui ginjal. Namun dalam kondisi overdosis parasetamol, jalur detoksifikasi menjadi jenuh dan terjadi pengosongan GSH sel. Kondisi ini menimbulkan peningkatan dan penumpukan senyawa NAPQI, dan menyebabkan terjadinya:

1) Interaksi kovalen.

NAPQI dapat bereaksi dengan komponen protein sel yang memiliki gugusan sistein dan menyebabkan protein ini inaktif.

2) Oksidasi protein *thiol*.

Kelompok protein dengan gugusan *thiol* adalah protein dengan fungsi penting. Inaktivasi protein dengan oksidasi protein sistein-*thiol* terjadi pada lebih dari 240 enzim. (Reed, 1990; Rosalky, Mc Intyre, 1999).

b. Fase Oksidatif

1) Pengosongan GSH.

Keadaan ini dapat menimbulkan *oxidative stress*, dimana terjadi gangguan keseimbangan pro-oksidan dan antioksidan yang menguntungkan keadaan pro-oksidan. Hal tersebut berkaitan dengan penumpukan produk-produk oksidatif normal dari metabolisme sel diantaranya adalah ROS dan RNS. Salah satu sistem protektif utama untuk mengurangi kerusakan sel adalah glutathion (GSH) yang berperan sebagai *nucleofilic scavenger*. Penurunan kandungan glutathion sebanyak 20 % - 30 % dari kadar normal dapat mengganggu mekanisme pertahanan sel terhadap senyawa-senyawa toksik dan berakhir dengan terjadinya kematian sel (Reed, 1990; Rang, Dale, 1993).

2) Pelepasan radikal oksigen toksik.

Penurunan GSH sel, menyebabkan peningkatan peroksida dan peroksinitrit. Peningkatan peroksida/hydrogen peroksida (H_2O_2), dapat memicu timbulnya oksidan/radikal bebas yang lain melalui reaksi Fenton dan menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel. Kerusakan tersebut bila mengenai permeabilitas membran dalam mitokondria yang disebabkan oksidasi gugusan *thiol* pada membran mitokondria dapat menimbulkan proses *uncoupling* pada proses fosforilasi oksidatif sehingga terjadi peningkatan radikal bebas termasuk superoksida ($O_2\bullet$).

3) Peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid terhadap lipid tidak jenuh ganda disebabkan oleh *reactive oxygen species* yang terbentuk. Radikal peroksilipid ($LOO\bullet$) dapat menghasilkan peroksida lipid ($ROOH$) yang dapat menimbulkan radikal peroksilipid berikutnya. Reaksi berantai ini pada akhirnya dapat mengenai banyak *lipid membrane* yang menimbulkan banyak peroksida lipid. Peroksidasi lipid yang berlebihan akan

menyebabkan kerusakan membran yaitu menurunnya permeabilitas membran yang akhirnya mempengaruhi struktur serta fungsi membran sehingga akhirnya sel akan mati. Produksi peroksida lipid yang berlebihan akan mengganggu integritas membran, dan gangguan integritas tersebut akan menyebabkan keluarnya berbagai isi sitoplasma seperti enzim SGPT (Reed, 1990).

4) Modifikasi gugus sulfidril (SH).

Dapat ditimbulkan oleh *reactive oxygen species* yang bereaksi dengan gugus sulfidril. Gugus sulfidril bebas sangat penting dalam aktivitas katalitik beberapa enzim dan modifikasi gugus tersebut menimbulkan ketidakaktifan enzim tersebut. Sasaran penting modifikasi gugus sulfidril adalah protein *actin cytoskeletal*, berbagai enzim seperti glutation reduktase dan Ca^{++} -transporting *ATPase*. Enzim Ca^{++} -transporting *ATPase* banyak dijumpai di membran plasma dan retikulum endoplasma dan penting dalam mempertahankan konsentrasi ion kalsium internal, sekitar 0,1 $\mu\text{mol/l}$. Peningkatan ion kalsium intraseluler dan permeabilitas membran sel akan membahayakan kelangsungan hidup sel. Mekanisme terjadinya kematian sel setelah gangguan homeostasis kalsium masih belum jelas, diduga melibatkan enzim-enzim degradatif yang diaktifkan oleh ion kalsium (protease, fosfolipase) (Ray, *et al.*, 1996).

2.4 Jinten hitam (*Nigella sativa*)

Dalam pengobatan pada abad 21 ini dikembangkan obat-obat baru yang berasal dari tanaman di banyak negara di dunia (Aditama, 2000). Prospek obat alami masa depan semakin cerah apalagi kecenderungan masyarakat untuk kembali ke alam dengan meninggalkan obat-obat sintetis semakin besar. Angka statistik menunjukkan di tahun 1995 sekitar 35,4% masyarakat perkotaan mengobati sendiri

penyakit yang diderita dan angka ini meningkat menjadi 71,44% di tahun 2006. (BPS, 2006).

Jinten hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman tua yang digunakan dalam pengobatan sepanjang sejarah manusia. Tanaman ini telah digunakan sebagai pengobatan secara alami selama kurang lebih 2000 tahun. Tanaman ini banyak tumbuh di daerah Mediterania, Yunani, Eropa, Timur tengah dan Asia termasuk Indonesia (Al Jassir, 1997; Avieciena, 2000). Di Indonesia tumbuh antara lain di Sumatra, Jawa Barat dan Jawa Tengah.

2.4.1 Taksonomi

Digolongkan dalam famili *Ranunculaceae*, dengan taksonomi sebagai berikut:

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Klas	: <i>Magnoliopsidae</i>
Subklas	: <i>Magnoliidae</i>
Order	: <i>Ranunculales</i>
Famili	: <i>Ranunculaceae</i>
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i>



Gambar 2.7. Biji Jinten hitam (Al jassir, 1997)

2.4.2 Kandungan

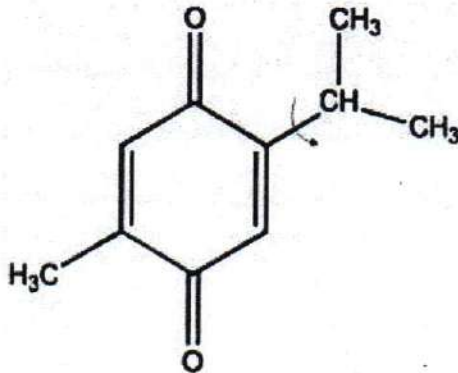
Bagian tanaman ini yang sering digunakan untuk pengobatan adalah bijinya (gambar 2.8). *Nigella sativa* mengandung banyak sekali nutrisi berharga (lihat Tabel 2.1). Sedangkan kandungannya antara lain (Al Jassir, 1997; Basir, 1998):

- *Thymoquinon*
- *Nigellon*
- Minyak padat

2.4.3 Khasiat

Thymoquinon merupakan salah satu turunan fenil propan yang diperoleh dari oksidasi asam kuintat. Perubahan asam kuintat menjadi asam 5-dehidrokuinat dikendalikan oleh kalmodulin dan protein kinase. *Thymoquinone* sendiri memiliki nama kimia *2-isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinon*. Pada tahun 2003 Pagola S dkk, dengan menggunakan teknik *High-Resolution X-Ray Powder Diffraction*,

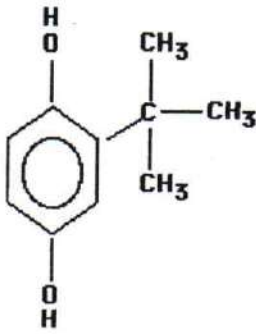
berhasil mendapatkan struktur molekul *thymoquinone* seperti yang tampak pada gambar 2.8 (Pagola, *et al.*, 2003).



Gambar 2.8. Struktur molekul thymoquinon (Pagola, *et al.*, 2003)

Nigellon merupakan polimer karbonil dari *thymoquinon*. Polimer ini lebih tidak memberikan efek toksik dan tetap memberikan efek farmakologis *thymoquinon* sebagai bahan utamanya (Avisiena, 2000)

Pada tahun 2000, penelitian yang dilakukan oleh Burist dan Bucar dengan menggunakan *two TLC screening methods* menguji minyak esensial dari *Nigella sativa* dan mendapatkan bahwa kandungannya berupa *thymoquinon*, *carvacrol*, *t-anethole* dan *4-terpineol* mempunyai kemampuan *radical scavenging*. Komponen-komponen yang dikandung oleh *Nigella sativa* tersebut mempunyai kemampuan *OH radical scavenging* yang efektif dalam proses peroksidasi lipid (Burits, 2000). Sementara itu, Badary dkk (2003) melakukan penelitian untuk menguji efek antioksidan *thymoquinone* dan *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) secara *in vitro*. Kedua bahan tersebut terbukti mampu menghambat peroksidasi lipid mikrosomal. Selain itu terbukti bahwa *thymoquinone* lebih aktif berperan sebagai *superoxide anion scavenger* daripada TBHQ (Badary, *et al.*, 2003).



Gambar 2.9. Struktur molekul TBHQ (Anonim, 2008)

Satu penelitian tentang peranan *thymoquinone* murni terhadap penanganan penyakit *experimental allergic encephalomyelitis* dilakukan pada tikus model. Pada penelitian tersebut diinjeksikan 1mg/kg *thymoquinone* melalui vena ekor. Hasilnya adalah *thymoquinone* tersebut dapat menghambat stres oksidatif yang terjadi pada penyakit *experimental allergic encephalomyelitis*. Hal itu ditandai dengan meningkatnya kadar GSH di jaringan *medulla spinalis* tikus yang mendapat *thymoquinone* tersebut (Shoker, 2003).

Penelitian yang dilakukan Houghton dan kawan-kawan pada tahun 1995 mendapatkan hasil bahwa *thymoquinone* yang dikandung oleh *Nigella sativa* mempunyai kemampuan menghambat peroksidasi nonenzimatis pada liposom fosfolipid otak sapi jantan (Houghton, 1995). Percobaan yang lain dilakukan oleh El Dakhakhny terhadap fungsi protektif *Nigella sativa* pada sekresi ulkus gaster tiga puluh dua tikus jantan yang diinduksi oleh ethanol. Induksi ethanol menghasilkan ulkus dengan *ulcer score* tinggi dan mengakibatkan penurunan yang signifikan kadar glutation, serta peningkatan kadar histamin yang signifikan pula pada sekresi gaster. Sedangkan pada tikus yang diberi minyak *Nigella sativa* ternyata terdapat peningkatan signifikan kadar glutation serta penurunan kadar histamin di dalam sekresi gasternya (El Dakhakhny, 2000).

Tabel 2.1. Komposisi bahan yang dikandung dalam Jinten hitam (Randhawa, 2002; Gilani, 2004)

<i>Group</i>	<i>Sub-group</i>	<i>Components</i>
<i>Fixed oil</i> (32-40 %)*	<i>Unsaturated fatty acids</i>	<i>Arachidonic, eicosadienoic, linoleic, linolenic, oleic and almitoleic acid</i>
	<i>Saturated fatty acids</i>	<i>Palmitic, stearic and myristic acid</i>
<i>Volatile oil</i> (0.4-0.45 %)*		<i>Beta-sitosterol, cycloeucaenol, cycloartenol, sterol esters and sterol glucosides</i>
		Nigellone, thymoquinone, <i>thymohydroquinone, dithymoquinone, thymol, carvacrol, α & β-pinene, d-limonene, d-citronellol, p-cymene and 2-(2-methoxypropyl)-5-methyl-1,4-benzenediol</i>
<i>Proteins</i> (16-19.9 %)*	<i>Amino acids</i>	<i>Arginine, glutamic acid, leucine, lysine, methionine, tyrosine, proline and threonine, etc.</i>
<i>Alkaloids</i>		<i>Nigellicine, nigellidine, nigellimine-N-oxide</i>
<i>Coumarins</i>		<i>6-methoxy-coumarin</i> <i>7-hydroxy-coumarin</i> <i>7-oxy-coumarin¹⁹⁻²³</i>
<i>Saponins:</i>	<i>Triterpenes</i>	<i>Alpha-hedrin</i>
	<i>Steroidal</i>	<i>Steryl-glucosides, acetyl-steryl-glucoside</i>
<i>Minerals</i> (1.79-3.74 %)*		<i>Calcium, phosphorous, potassium, sodium and iron</i>
<i>Carbohydrates</i> (33.9%)*		
<i>Fiber</i> (5.5 %)*		
<i>Water</i> (6 %)*		

Penelitian yang dilakukan oleh Badary dan kawan-kawan pada tahun 2001 mendapatkan kemampuan efek antitumor dari *thymoquinone* pada tikus Swiss albino yang diinduksi oleh *20-methylcholanthrene* (MC) untuk membuat tikus Menderita fibrosarcoma. Pada tikus yang diinduksi dengan MC didapatkan akumulasi peroksida lipid, penurunan GSH dan juga penurunan aktivitas *gluthatione S-transferase* (GST) dan *quinone reductase* (QR). Sedangkan pada tikus yang mendapat perlakuan induksi MC dan *thymoquinone* di dapatkan akumulasi peroksida lipid yang lebih rendah dibanding yang hanya mendapat induksi MC. Kadar GSH serta aktivitas GST juga lebih tinggi dibanding yang hanya diinduksi dengan MC (Badary, 2001).

Sifat hepatoprotektif *thymoquinone* terbukti dengan percobaan pada isolat sel hati tikus. Sel hati tersebut diinduksi dengan *tert-butyl hydroperoxide* (TBHP) sebanyak 2 mM digunakan untuk menginduksi *oxidative injury* pada sel hati. *Oxidative injury* ini akan mengakibatkan pengosongan GSH intrasel, hilangnya viabilitas sel yang dibuktikan dengan tes *trypan blue* yang meningkat. Preinkubasi dengan 1 mM *thymoquinone* ternyata dapat mencegah hepatotoksisitas yang disebabkan oleh TBHP. Hal ini terbukti dengan penurunan kadar ALT dan AST serta tes *trypan blue* yang menurun dibanding yang hanya mendapat TBHP. Selain itu, *thymoquinone* juga mencegah pengosongan GSH akibat induksi TBHP tersebut (Daba, 1998).

Percobaan lain menggunakan Selenium, Jinten hitam dan Vitamin E, untuk mencegah fibrosis dan sirosis pada hati kelinci yang diinduksi CCl₄, memperlihatkan bahwa fibrosis yang terjadi pada kelompok kelinci yang diberi Selenium dan Vitamin E, lebih sedikit dari kelompok kontrol tetapi lebih dominan dibandingkan dengan kelompok yang diberi Jinten hitam (Turkdogan *et al.*, 2001)

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

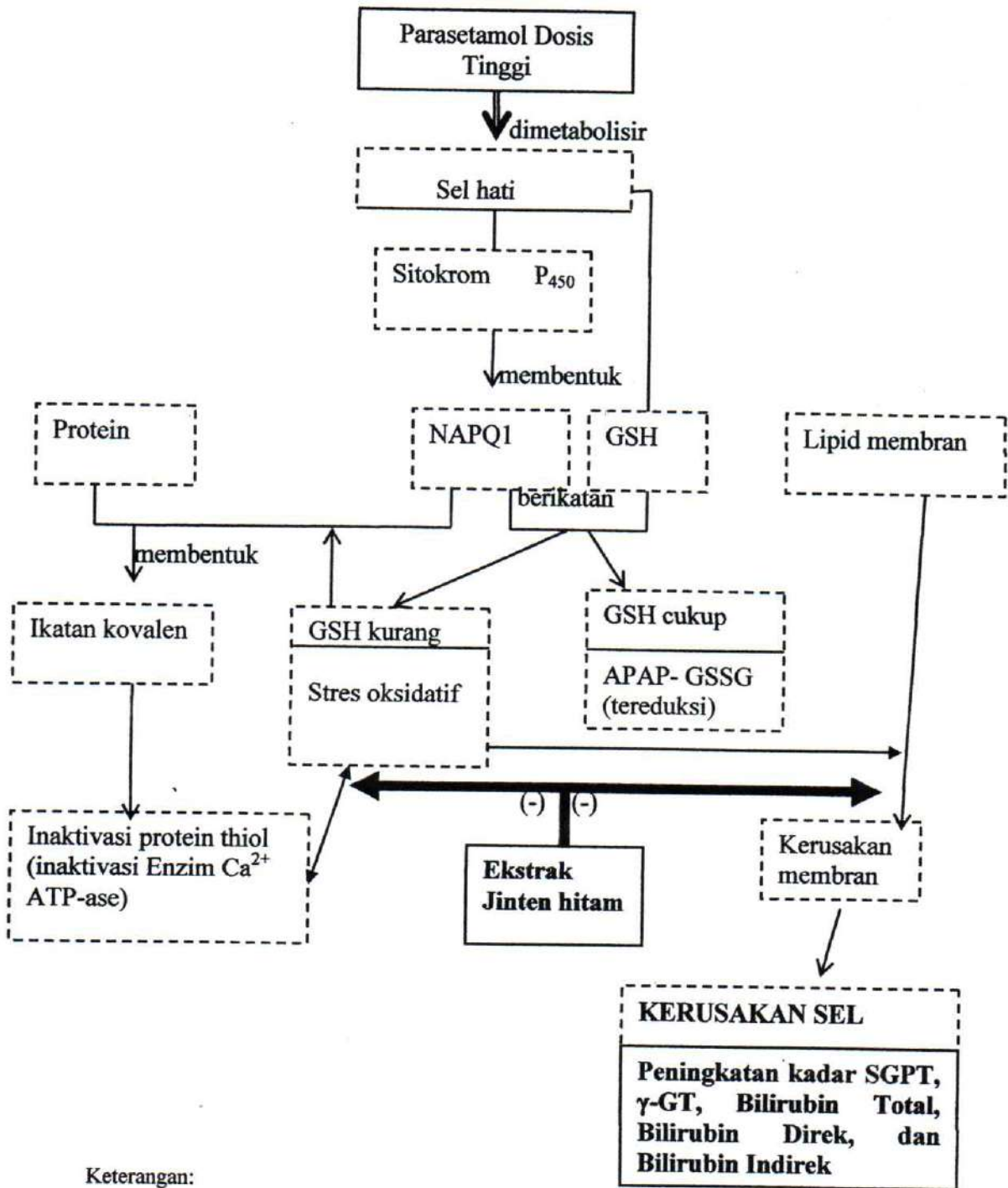
Pada pemberian parasetamol dosis tinggi atau dalam keadaan peningkatan aktifitas sitokrom P450, GSH intraseluler mengalami pengosongan secara cepat dan NAPQI yang terbentuk dalam jumlah banyak tidak dapat dikompensasi dan selanjutnya dapat membentuk ikatan dengan protein seluler, mengubah homeostasis kalsium, meningkatkan radikal bebas, menimbulkan peroksidasi lipid, dan pada akhirnya menimbulkan nekrosis yang hebat pada hati (Liu, *et al.*, 1993; Reed, 1990).

Jinten hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman yang sudah lama digunakan dalam pengobatan secara alami. Bagian tanaman yang sering digunakan untuk pengobatan adalah bijinya, yang mengandung lebih dari 100 nutrisi berharga, dan kandungan aktifnya adalah *thymoquinone*, *nigellone* dan minyak padat (Al Jassir, 1997; Basir, 1998).

Sifat hepatoprotektif *thymoquinone* terbukti dengan percobaan pada isolat sel hati tikus. Sel hati tersebut diinduksi dengan *tert-butyl hydroperoxide* (TBHP) untuk menginduksi *oxidative injury* pada sel hati. *Oxidative injury* ini akan mengakibatkan pengosongan GSH intrasel, hilangnya viabilitas sel yang dibuktikan dengan tes *trypan blue*. Preinkubasi dengan *thymoquinone* ternyata dapat mencegah hepatotoksisitas yang disebabkan oleh TBHP. Hal ini terbukti dengan penurunan kadar SGPT dan SGOT serta tes *trypan blue* dibanding yang hanya mendapat TBHP. Selain itu, *thymoquinone* juga mencegah pengosongan GSH akibat induksi TBHP tersebut (Daba, 1998).

Ekstrak *Jinten hitam* mempunyai efek hepatoprotektif, melalui mekanismenya sebagai anti oksidan (Badary, 2001; Daba, 1998; Turkdogan, *et al.*, 2001)

3.2 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Kerangka konseptual

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi dapat mencegah peningkatan kadar SGPT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi dapat mencegah peningkatan kadar γ -GT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi dapat mencegah peningkatan kadar Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan Bilirubin Indirek tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.

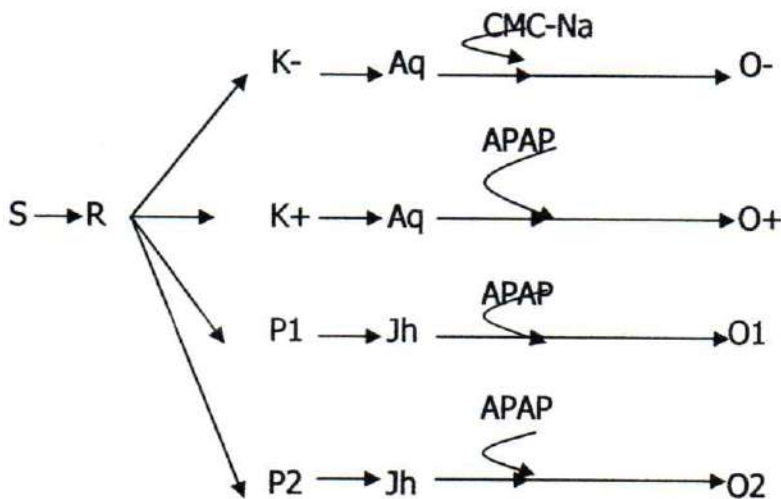
BAB 4
MATERI DAN METODE
PENELITIAN

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan metode : *Randomized, the post only control group design*. Perincian perlakuan yang diberikan adalah seperti tertera di bawah ini (Zainuddin, 2000).



Gambar 4.1. Rancangan penelitian

Keterangan:

- S : Sampel
 R : Randomisasi
 Aq : Aquades
 Jh : Jinten hitam
 APAP : *N-acetyl- p-aminophenol*= *Acetaminophen* (parasetamol)
 K- : Kelompok kontrol negatif diberi aqua persone selama 10 hari dan CMC 0,5% pada hari ke-8
 K+ : Kelompok kontrol positif diberi aqua persone selama 10 hari dan parasetamol 1200 mg/kg BB pada hari ke-8
 P1 : Kelompok perlakuan diberikan ekstrak Jinten hitam 1,25g/kgBB/hr selama 10 hari dan pada hari ke 8 diberikan parasetamol 1200 mg/kg BB
 P2 : Kelompok perlakuan diberikan ekstrak Jinten hitam 2,5g/kgBB/hr selama 10 hari dan pada hari ke 8 diberikan parasetamol 1200 mg/kg BB
 O- : kadar SGPT, γ -GT dan Bilirubin Total, Bilirubin Direk, Bilirubin Indirek kelompok kontrol negatif pada hari ke-10
 O+ : kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk, Bilirubin Indirek kelompok kontrol positif pada hari ke-10
 O1 : kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk, Bilirubin Indirek kelompok P1 pada hari ke-10
 O2 : kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin kelompok P2 pada hari ke-10

Bagan 4.1 : Skema prosedur penelitian

	K E L O M P O K	HARI ke-		
		1 s/d 10	8 (2 jam setelah perlakuan terakhir)	10 (48 jam setelah perlakuan terakhir)
R A N D O M I S A S I	K-	Aquadest	CMC-Na 0,5% ±2 ml	Pengambilan darah
	K+	Aquadest	Parasetamol 1200 mg/KgBB	Pengambilan darah
	P1	Ekstrak JH; 1,25 g/KgBB	Parasetamol 1200 mg/KgBB	Pengambilan darah
	P2	Ekstrak JH; 2,5 g/KgBB	Parasetamol 1200 mg/KgBB	Pengambilan darah

4.2 Unit Eksperimen , Besar Unit Eksperimen dan Tehnik Pembagian Kelompok Unit Eksperimen

4.2.1 Unit Eksperimen

Unit Eksperimen adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar , umur 3-4 bulan dengan berat badan 200-250 gram, yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

4.2.2 Besar Unit Eksperimen

Adapun besar sampel ditentukan dengan rumus *Lameshow* (1990), sebagai berikut:

$$n = \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_0 - \mu_s)^2}$$

keterangan:

n = Besar unit eksperimen

μ_0 = Rata-rata kelompok eksperimen

μ_s = Rata-rata kelompok kontrol

σ = Simpang baku kelompok kontrol

$Z\alpha = 2,58$ ($\alpha = 0,01$)

$Z\beta = 1,28$ ($\beta = 0,10$)

Dengan $\mu_0 = 222$, $\mu_s = 416$ dan $\sigma = 138$ dari penelitian pendahuluan didapatkan besar unit eksperimen sebesar 8 ekor, kemudian dalam pelaksanaan digunakan sampel 10 per kelompok (perhitungan selengkapnya lihat **Lampiran 1**).

4.2.3 Tehnik Pembagian Kelompok Unit Eksperimen

Metode yang digunakan adalah *simple random sampling*.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

4.3.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis Jinten hitam dan parasetamol yang diberikan pada tikus.

4.3.1.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar enzim SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek.

4.3.1.2 Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini meliputi :

- Jenis kelamin dan umur hewan coba
- Jenis makanan dan minuman
- Jenis kandang dan sanitasi kandang
- Prosedur perlakuan

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

4.3.2.1 Variabel Bebas

- Ekstrak Jinten hitam adalah ekstrak Jinten hitam yang diperoleh melalui proses ekstraksi dengan ethanol 96% diulang sebanyak 5 kali di Laboratorium Farmakologi Universitas Airlangga Surabaya (**Lampiran 5**). Dosis Jinten hitam yang diberikan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mansour MA (2001) yang menggunakan CCL₄ sebagai bahan hepatotoksik, yaitu sebesar 1,25 dan 2,5 g/KgBB.
- Parasetamol adalah bahan parasetamol *pro analisis* yang diperoleh dari CV tertentu. Dosis parasetamol yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan perhitungan, dimana dosis toksik pada manusia dengan berat badan 70 kilogram adalah 10-15 gram per hari, dan diambil nilai tengah sebesar 12.5 gram per hari (Katzung BG, 2001; Reed, 1990). Dari hasil perhitungan dengan diekstrapolasikan ke tikus dengan berat badan 200 gram (menggunakan tabel konversi pada **Lampiran 6**) diketahui bahwa dosis parasetamol yang diberikan ke tikus adalah 1200 mg/KgBB per hari (Ghosh MN, 1971).

4.3.2.2 Variabel Tergantung

- SGPT adalah enzim seluler, yang terdapat pada sel hati. Pengukuran kadar enzim SGPT dalam darah ditentukan dengan metode *Bergmeyer* dan dengan satuan u/L (**Lampiran 2**). Nilai rata-rata SGPT pada kelompok kontrol negatif dianggap sebagai nilai normal
- γ -GT adalah Enzim γ – glutamyl transpeptidase terdapat pada membran sel beberapa jaringan, termasuk hepar. Pengukuran kadar enzim γ -GT dalam darah ditentukan dengan metode *Szaaz* dan dengan satuan u/L. (**Lampiran 3**). Nilai rata-rata γ -GT pada kelompok kontrol negatif dianggap sebagai nilai normal
- Bilirubin adalah salah satu hasil katabolisme heme dalam hepatosit. Pengukuran kadar bilirubin dalam darah ditentukan dengan metode *Diazo* dan dengan satuan mg/dl (**Lampiran 4**). Nilai rata-rata Bilirubin Total, Direk dan Indirek pada kelompok kontrol negatif dianggap sebagai nilai normal

4.3.2.3 Variabel Kendali

- Jenis hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), strain wistar, umur 3-4 bulan dengan berat badan 200-250 gram dengan kondisi yang sehat yang ditandai dengan bulu yang mengkilap, gerakan yang aktif dan tidak didapatkan luka..
- Jenis makanan adalah makanan *pellet* dari P.T. *Charoen Pokpand* Indonesia dan minum dari air PDAM diberikan *ad libitum*.
- Jenis kandang yang digunakan adalah kandang milik Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

- Prosedur perlakuan:

- o Tikus ditempatkan pada kandang ukuran 20x30x40 cm, tiap kandang berisi 3-4 tikus yang diberi penyinaran cukup dan sirkulasi udara keluar dan masuk yang bebas.
- o Makan dan minum diberikan secara *ad libitum*.

4.4 Bahan Penelitian

4.4.1 Hewan Coba

Tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) dengan usia 1 bulan diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Kemudian dipelihara dan diadaptasikan di Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga sampai dengan usia 4 bulan.

4.4.2 Bahan Pakan dan Minum

Bahan pakan tikus yang dipakai adalah pakan standar dari P.T. *Charoen Pokpand* Indonesia dan minum dari air PDAM.

4.4.3 Bahan Uji

Adalah ekstrak Jinten hitam yang diperoleh melalui proses ekstraksi dengan ethanol 96 % di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

4.4.4 Bahan lain

- Parasetamol *pro analisis* sebagai penginduksi hepatotoksik
- CMC – Na 0,5%
- Pakan tikus dari PT. *Charoen Pokpand* Indonesia dan minum air PDAM
- Reagen untuk pemeriksaan kadar:

1. Enzim SGPT menggunakan kit dari *DiaSys* dengan *kat* No. 10 260 021.
2. Enzim γ -GT menggunakan kit dari *DiaSys* dengan *kat* No. 10 280 021.
3. Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek menggunakan kit dari *Merckotest* dengan *kat* No. 1.03333.0001.

4.5 Instrumen Penelitian

Peralatan yang digunakan:

- a. Alat untuk pemberian ekstrak Jinten hitam , aquades, CMC-Na 0,5%, dan parasetamol:
 - Alat suntik (*syringe*) yang ujungnya dipasang suatu sonde yang dapat dimasukkan ke dalam mulut tikus wistar hingga mencapai oesophagus.
- b. Alat untuk menimbang berat badan tikus (*Torbal The Torsion Balance Co.*) dan parasetamol.
- c. Alat untuk Pemeriksaan SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek:
 - *Syringe* 5 cc
 - Tabung *sentrifuge* 15 ml
 - Vortex, dengan merek *Wina*.
 - *Sentrifuge*, dengan merek *Table Top Centrifuge PLC-03*
 - *Stop watch*, dengan merek *Assistent*
 - Spektrofotometer, dengan merek *Microlab 300*

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

- Pemeliharaan dan pembedahan tikus percobaan dilakukan di

Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya . Penelitian dilakukan selama 10 hari pada bulan Juli 2006.

- Pemeriksaan dan penentuan kadar enzim SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek tikus, dilakukan di laboratorium swasta.

4.7 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dibagi secara acak dalam empat kelompok perlakuan. Selanjutnya tiap kelompok ditempatkan pada kandang terpisah. Untuk mencegah terjadinya kekeliruan, masing-masing hewan diberi tanda.

4.7.2 Perlakuan Hewan Coba

1. Hewan coba dipilih secara random dan dibagi menjadi 4 kelompok.
2. Kelompok kontrol negatif diberi aqua destilata peronde selama sepuluh hari dan CMC 0,5 % sebanyak 2 ml pada hari ke-8 dua jam setelah pemberian aqua terakhir.
3. Kelompok kontrol positif diberikan aqua destilata peronde selama sepuluh hari dan parasetamol dosis 1200 mg/kg BB pada hari ke-8 dua jam setelah pemberian aqua terakhir.
4. Kelompok perlakuan terdiri dari 2 kelompok, masing-masing diberi ekstrak Jinten hitam dengan dosis 1,25 g/KgBB dan 2,5 g/KgBB selama 10 hari berturut-turut. Ekstrak Jinten hitam diberikan secara oral dengan dimasukkan secara langsung ke dalam esophagus tikus dengan memakai sonde. Pada hari ke-8, 2 jam setelah pemberian ekstrak Jinten hitam,

kelompok perlakuan tersebut masing-masing diberi parasetamol dosis 1200 mg/kg BB

5. Pada hari ke-10, semua tikus dianestesi untuk diambil darah .
6. Penentuan kadar SGPT, γ -GT , Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek dilakukan secara spektrofotometri.

4.7.3. Pemeriksaan SGPT

Pengukuran kadar enzim SGPT dalam darah ditentukan dengan metode *Bergmeyer* (1978).

4.7.4. Pemeriksaan γ -GT

Pengukuran kadar enzim γ -GT dalam darah ditentukan dengan metode *Szaasz/Persijn JP*(1974).

4.7.5. Pemeriksaan Bilirubin

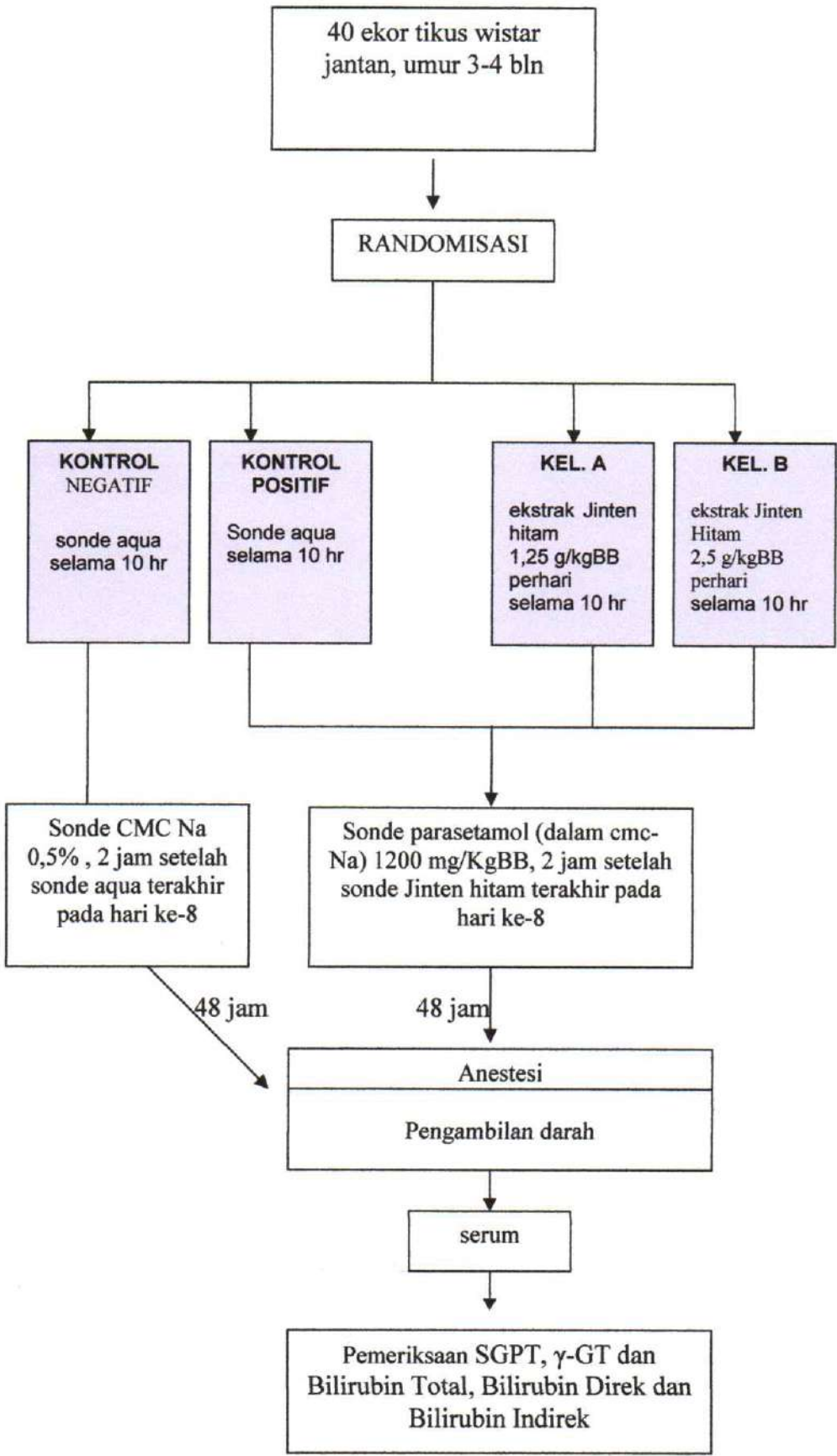
Pengukuran kadar Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek dalam darah ditentukan dengan metode *Diazo*(*Jendrassik L, Grof P, 1936; Schellong G, et al., 1960*)..

4.8 Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar enzim dalam serum dianalisis dengan menggunakan analisis multivariat (*Multiple analysis of Varians* =manova) dan dilanjutkan dengan analisis univariat (*Analysis of Varians* =anova) . Bila terdapat perbedaan yang bermakna diantara kelompok perlakuan, dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) (Steel RGD, Torrie JH, 1991).

4.7.5. Skema alur penelitian

Bagan 4.2. Skema alur penelitian



BAB 5
HASIL PENELITIAN DAN
ANALISA DATA

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Untuk membuktikan adanya efek proteksi ekstrak jinten hitam pada sel hepar akibat pemberian atau induksi parasetamol dosis tinggi, maka dilakukan pengukuran kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek sebagai parameter. Data yang diperoleh dari penelitian tersebut selanjutnya dideskripsikan dan diuji dengan taraf signifikan 1%.

5.1 Hasil Statistik Deskriptif

Data hasil penelitian mencakup data variabel tergantung, kemudian data tersebut dianalisis secara statistik deskriptif yang bertujuan untuk memperoleh gambaran distribusi dan peringkasan data guna memperjelas penyajian hasil dalam tabel 5.1. dihalaman berikutnya.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa ada perbedaan bermakna ($p < 0.01$) rata-rata kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek pada kelompok kontrol positif bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Demikian juga terdapat perbedaan bermakna ($p < 0.01$) rata-rata kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek terjadi pada kelompok perlakuan 1 dan 2 bila dibandingkan kelompok kontrol positif..

Tabel 5.1 juga menunjukkan bahwa hasil pengukuran kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek pada kelompok kontrol positif adalah lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Kemudian pada kelompok perlakuan 1 dan 2 yang mendapat jinten hitam dengan dosis berturut-turut 1,25 gram/KgBB/hari dan 2,5 gram/KgBB/hari lebih rendah

dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Kelompok perlakuan 1 memiliki rata-rata kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek yang lebih tinggi di dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 meskipun secara statistik, kadar SGPT dan γ -GT antara kelompok perlakuan 1 dan 2 tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0.01$).

Tabel 5.1 Rata-rata dan Simpangan Baku (Standart Deviasi) SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk dan Bilirubin Indirek

Variabel Tergantung	Perlakuan			
	K - (X \pm SD)	K + (X \pm SD)	P1 (X \pm SD)	P2 (X \pm SD)
Kadar SGPT (u/l)	87,00 \pm 4,42 ^[a,b]	797,80 \pm 80,56 ^[a,b]	430,80 \pm 90,18 ^[a]	358,40 \pm 64,26 ^[b]
Kadar γ -GT (u/l)	1,19 \pm 0,25 ^[a]	6,30 \pm 1,85 ^[a,b]	3,27 \pm 1,04 ^[a]	2,25 \pm 1,21 ^[b]
Kadar Bilirubin Total (mg/dl)	1,07 \pm 0,23 ^[a,b]	2,17 \pm 0,46 ^[a,c]	1,97 \pm 0,54 ^[b,d]	1,08 \pm 0,47 ^[c,d]
Kadar Bilirubin Direk (mg/dl)	0,33 \pm 0,11	0,47 \pm 0,29	0,42 \pm 0,37	0,29 \pm 0,13
Kadar Bilirubin Indirek (mg/dl)	0,74 \pm 0,21 ^[a,b]	1,70 \pm 0,57 ^[a,c]	1,55 \pm 0,48 ^[b,d]	0,79 \pm 0,48 ^[c,d]
BB 1 (g)	212,5 \pm 18,48	212,7 \pm 15,67	223,2 \pm 13,17	209,9 \pm 14,18
BB 8 (g)	215,5 \pm 18,49	218,1 \pm 17,14	226,9 \pm 12,43	218,9 \pm 11,68
BB 10 (g)	215,6 \pm 17,96	218,4 \pm 16,91	227,4 \pm 12,15	219,8 \pm 12,10

Keterangan : [a,b,c,d] : Di dalam satu baris, simbol huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok.

K- : Kelompok kontrol negatif

K+ : Kelompok kontrol positif

P1 : Kelompok parasetamol + Ekstrak Jinten hitam Dosis 1,25 g/KgBB

P2 : Kelompok parasetamol + Ekstrak Jinten hitam Dosis 2,5 g/KgBB

X : rata-rata

SD : Standart Deviasi

BB 1 (g) : Berat badan rata-rata tikus pada hari ke-1

BB 8 (g) : Berat badan rata-rata tikus pada hari ke-8

BB 10 (g) : Berat badan rata-rata tikus pada hari ke-10

5.2 ANALISA DATA

5.2.1 Hasil Uji Normalitas

Sebelum melakukan analisis data hasil penelitian dengan uji Manova, maka data diuji normalitas distribusinya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* seperti pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Distribusi (*Uji Kolmogorov-Smirnov*)

Variabel	K-S (Z)	Sig (p)*
Kadar SGPT (u/l)	0,877	0,425
Kadar γ -GT (u/l)	0,951	0,326
Kadar Bilirubin Total (mg/dl)	1,010	0,259
Kadar Bilirubin Direk (mg/dl)	1.038	0.232
Kadar Bilirubin Indirek (mg/dl)	1,076	0,197
BB 1 (g)	0,969	0,305
BB 8 (g)	0.747	0.632
BB 10 (g)	0,743	0,639

*Keterangan: $p > 0,01$ berarti data tersebut berdistribusi normal

Berdasarkan tabel 5.2 diatas dapat dilihat bahwa variable kadar kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan kadar Bilirubin Indirek, serta berat badan tikus Wistar berdistribusi normal pada semua kelompok ($p > 0.01$).

5.2.2 Uji Homogenitas

Hasil uji homogenitas seperti tabel 5.3 dibawah ini menunjukkan bahwa bahwa variable kadar SGPT, Bilirubin Total dan kadar Bilirubin Indirek, serta berat badan tikus *Wistar* memiliki varians yang homogen ($p > 0.01$), kecuali untuk kadar γ -GT dan Bilirubin Direk memiliki varians yang tidak homogen ($p < 0.01$).

Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas (Uji Lavene)

Variabel	Levene Statistic	df1	df2	Sig (p)*
Kadar SGPT (u/l)	4,071	3	36	0,014
Kadar γ -GT (u/l)	4,924	3	36	0,006
Kadar Bilirubin Total (mg/dl)	1,193	3	36	0,326
Kadar Bilirubin Direk (mg/dl)	5,760	3	36	0,003
Kadar Bilirubin Indirek (mg/dl)	1,865	3	36	0,153
BB 1 (g)	0,884	3	36	0,459
BB 8 (g)	1,893	3	36	0,148
BB 10 (g)	1,648	3	36	0,196

*Keterangan: $p > 0,01$ berarti data tersebut homogen

5.2.3. Hasil Uji MANOVA dan ANOVA

Analisis atau uji Manova digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan kadar Bilirubin Indirek pada masing-masing kelompok perlakuan secara terpisah maupun secara bersama-sama.

Hasil analisis multivariat (*Wilks' Lambda*) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) pada masing-masing kelompok perlakuan untuk kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek seperti terlihat pada table 5.4 diatas. Kadar , Bilirubin Direk menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$) pada masing-masing kelompok perlakuan.

Tabel 5.4. Hasil Uji MANOVA dan ANOVA

	<i>F</i>	<i>Sig(p)</i>
Uji MANOVA		
<i>Wilks' Lambda</i>	19,049	,000
Uji ANOVA		
Kadar SGPT (u/l)	182,890	,000
Kadar γ -GT (u/l)	32,245	,000
Kadar Bilirubin Total (mg/dl)	17,368	,000
Kadar Bilirubin Direk (mg/dl)	1,093	,365
Kadar Bilirubin Indirek (mg/dl)	10,850	,000
BB 1 (g)	1,443	,246
BB 8 (g)	1,045	,385
BB 10 (g)	1,128	,351

*Keterangan: $p > 0,01$ berarti tidak ada perbedaan bermakna dalam satu parameter yang diteliti

Selanjutnya untuk mengetahui antara kelompok mana yang berbeda dilakukan uji LSD untuk data yang homogen dan uji *Tamhane* untuk data yang tidak homogen.

5.2.4. Hasil Uji LSD

Untuk mengetahui antar kelompok mana yang menunjukkan perbedaan dilakukan uji LSD.

Berdasarkan tabel 5.5 didapatkan bahwa kadar SGPT, γ -GT, Bilirubin Total, dan kadar Bilirubin Indirek antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$), kecuali kadar SGPT antara kelompok perlakuan 1 (parasetamol + jinten 1) dengan kelompok perlakuan 2 (parasetamol + jinten 2) tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$). Demikian juga dengan kadar γ -GT antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 dan antara kelompok Perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2. Kadar Bilirubin Total antara kelompok

kontrol dengan kelompok perlakuan 2 dan antara kelompok parasetamol dengan kelompok perlakuan 1 juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0.01$).

Tabel 5.5 Hasil Uji LSD

Perbandingan Antar Klpk		Sig (p)							
		Kadar SGPT (u/l)	Kadar γ -GT (u/l)	Kadar Bilirubin Total (mg/dl)	Kadar Bilirubin Direk (mg/dl)	Kadar Bilirubin Indirek (mg/dl)	BB 1 (g)	BB 8 (g)	BB 10 (g)
K-	K+	,000	,000	,000	,695	,000	,977	,705	,679
	P1	,000	,001	,000	,979	,001	,132	,103	,087
	P2	,000	,124	,960	,975	,817	,710	,620	,536
K+	K-	,000	,000	,000	,695	,000	,977	,705	,679
	P1	,000	,003	,317	1,000	,490	,139	,204	,189
	P2	,000	,000	,000	,461	,000	,689	,907	,836
P1	K-	,000	,001	,000	,979	,001	,132	,103	,087
	K+	,000	,003	,317	1,000	,490	,139	,204	,189
	P2	,024	,309	,000	,895	,001	,063	,248	,265
P2	K-	,000	,124	,960	,975	,817	,710	,620	,536
	K+	,000	,000	,000	,461	,000	,689	,907	,836
	P1	,024	,309	,000	,895	,001	,063	,248	,265

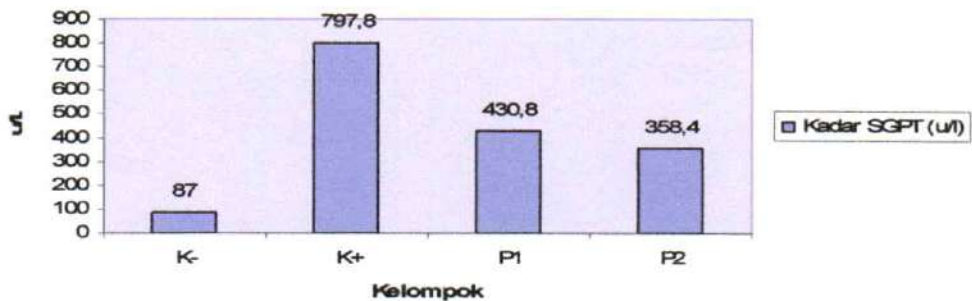
*Keterangan: $p<0,01$ berarti ada perbedaan bermakna antar kelompok

Kadar Bilirubin Indirek antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 dan antara kelompok parasetamol dengan kelompok perlakuan 1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0.01$). Sedangkan kadar Bilirubin Direk antar semua kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0.01$).

5.2.6. Kadar SGPT

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data pemeriksaan kadar SGPT mempunyai distribusi yang normal (menurut uji *Kolmogorov-Smirnov*; $p>0,01$), lihat tabel 5.2, dan varians yang homogen (menurut uji *Levene*; $p>0.01$), lihat tabel 5.3.

Hasil analisis univariat menunjukkan bahwa kadar SGPT pada masing-masing kelompok terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) seperti terlihat pada tabel 5.4. Sedangkan hasil uji LSD menunjukkan bahwa juga terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) pada kadar SGPT antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.5, kecuali antara kelompok perlakuan 1 dan 2 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$). Artinya kadar SGPT kelompok perlakuan yang diberikan jinten hitam dengan dosis berturut-turut 1,25 gram/KgBB/hari dan 2,5 gram/KgBB/hari lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif tetapi masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.



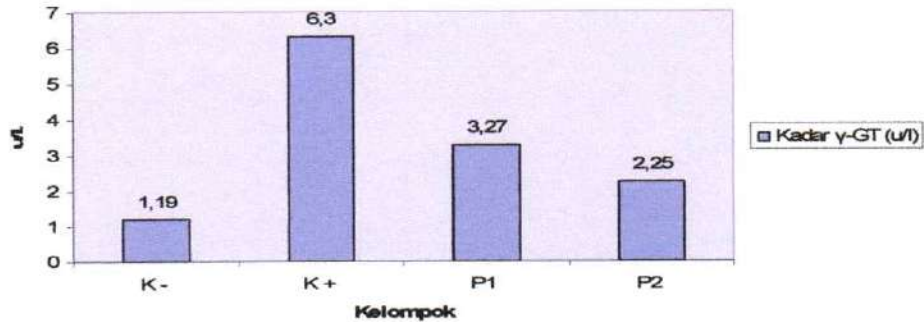
Grafik 5.1. Rata-rata kadar SGPT menurut kelompok

5.2.7 Kadar γ -GT

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data pemeriksaan Kadar γ -GT mempunyai distribusi yang normal (menurut uji *Kolmogorov-Smirnov*; $p > 0,01$), lihat tabel 5.2 tetapi memiliki varians yang tidak homogen (menurut uji *Levene*; $p < 0,01$), lihat tabel 5.3.

Hasil analisis univariat menunjukkan bahwa Kadar γ -GT pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) seperti terlihat pada tabel 5.4. Sedangkan hasil uji *Tamhane* menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan kadar γ -GT yang bermakna ($p < 0,01$) antar semua kelompok seperti terlihat pada tabel 5.5.



Grafik 5.1. Rata-rata kadar γ -GT menurut kelompok

Kecuali antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 1 dengan 2 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$). Artinya kadar γ -GT kelompok perlakuan yang diberikan jinten hitam dengan dosis berturut-turut 1,25 gram/KgBB/hari dan 2,5 gram/KgBB/hari lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan tidak lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

5.2.8 Kadar Bilirubin Total

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data pemeriksaan kadar Bilirubin Total mempunyai distribusi yang normal (menurut uji *Kolmogorov-Smirnov*; $p > 0,01$), lihat tabel 5.2 dan memiliki varians yang homogen (menurut uji *Levene*; $p < 0,01$), lihat tabel 5.3.

Hasil analisis univariat menunjukkan bahwa kadar Bilirubin Total pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) seperti terlihat pada tabel 5.4. Sedangkan hasil uji LSD menunjukkan bahwa juga terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) pada kadar Bilirubin Total antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.5. Kecuali antara kelompok

kontrol dengan kelompok perlakuan 2 dan kelompok parasetamol dengan perlakuan 1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,01$). Artinya kadar Bilirubin Total kelompok perlakuan yang diberikan jinten hitam dengan dosis berturut-turut 1,25 gram/KgBB/hari dan 2,5 gram/KgBB/hari lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan tidak lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

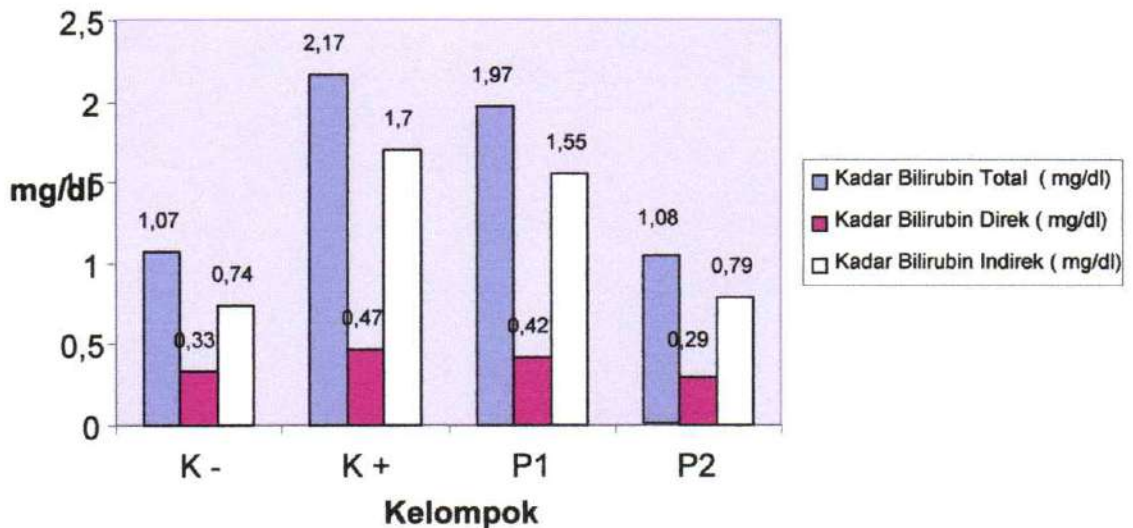
5.2.9 Kadar Bilirubin Direk

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data pemeriksaan kadar Bilirubin Direk mempunyai distribusi yang normal (menurut uji *Kolmogorov-Smirnov*; $p>0,01$), lihat tabel 5.2, tetapi memiliki varians yang tidak homogen (menurut uji *Levene*; $p>0,01$), lihat tabel 5.3. Hasil analisis multivariat menunjukkan bahwa kadar Bilirubin Direk pada masing-masing kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,01$) seperti terlihat pada tabel 5.4. Sedangkan hasil uji *Tamhane* menunjukkan bahwa juga tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p>0,01$) pada Bilirubin Direk antar kelompok perlakuan seperti terlihat pada tabel 5.5. Artinya kadar Bilirubin Direk antar kelompok adalah sama.

5.2.10 Kadar Bilirubin Indirek

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa data pemeriksaan kadar Bilirubin Indirek mempunyai distribusi yang normal (menurut uji *Kolmogorov-Smirnov*; $p>0,01$), lihat tabel 5.2, dan memiliki varians yang homogen (menurut uji *Levene*; $p>0,01$), lihat tabel 5.3. Hasil analisis multivariat menunjukkan bahwa kadar Bilirubin Indirek pada masing-masing

kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$) seperti terlihat pada tabel 5.4. Sedangkan hasil uji LSD menunjukkan bahwa juga terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$). Kecuali antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 dan kelompok parasetamol dengan perlakuan 1 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,01$). Artinya kadar Bilirubin Indirek kelompok perlakuan yang diberikan jinten hitam dengan dosis berturut-turut 1,25 gram/KgBB/hari dan 2,5 gram/KgBB/hari lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan tidak lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.



Grafik 5.1. Rata-rata , Bilirubin Total, Bilirubin Direk, dan Bilirubin Indirek menurut kelompok

5.2.11 Berat Badan Tikus Wistar

Berdasarkan hasil analisis statistik data penelitian, menunjukkan bahwa berat badan tikus Wistar mempunyai distribusi yang normal (menurut uji *Kolmogorov-Smirnov*; $p > 0,01$), lihat tabel 5.2, memiliki varians yang homogen (menurut uji *Levene*; $p > 0,01$), lihat tabel 5.3. Berat badan tikus *Wistar* antar

kelompok sebelum perlakuan (BB 1) dan antar kelompok setelah perlakuan (BB 10) tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0.01$), lihat tabel 5.4 dan tabel 5.5. Kemudian untuk mengetahui perbedaan BB sebelum dan sesudah perlakuan perlu dilakukan *Paired T-Test*. Berdasarkan tabel 5.6 didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0.01$) antara berat badan tikus sebelum (hari ke-1) dan sesudah perlakuan (hari ke-10) dan berat badan tikus Wistar sesudah perlakuan terdapat peningkatan yang bermakna ($p < 0.01$) dibandingkan dengan sebelum perlakuan.

Tabel 5.6. Hasil Uji *Paired T-Test*

Berat badan	t	Sig(p)
Berat badan hari ke-1 dengan hari ke-8	8,025	.000
Berat badan hari ke-1 dengan hari ke-10	8,224	,000
Berat badan hari ke-8 dengan hari ke-10	2,467	,000

*Keterangan: $p < 0,01$ berarti ada perbedaan bermakna antar kelompok

BAB 6

PEMBAHASAN

BAB 6

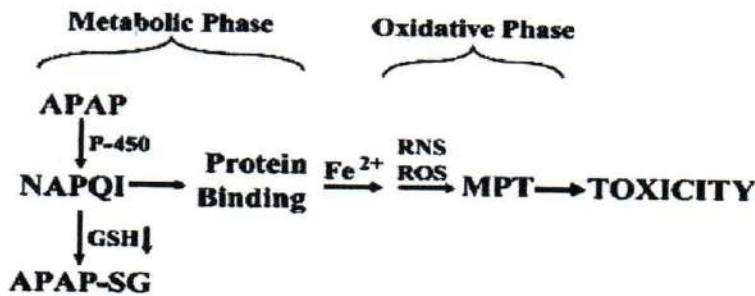
PEMBAHASAN

Tujuan utama penelitian ini adalah membuktikan bahwa pemberian ekstrak jinten hitam dapat memberikan efek protektif pada hepar dari bahan-bahan asing yang merusak. Pada penelitian ini model bahan asing yang merusak tersebut adalah dengan induksi oleh parasetamol dosis tinggi.

Sampel pada penelitian ini adalah tikus putih jantan, berumur sekitar 3 - 4 bulan, dengan berat badan kurang lebih 200 gram, dengan pertimbangan bahwa hewan ini mudah didapatkan, mudah beradaptasi sesuai dengan lingkungan yang baru serta cukup mudah untuk di manipulasi sehingga jumlah sampel dapat dikendalikan dengan baik. Tikus putih juga sering digunakan pada penelitian sehingga banyak referensi tentang tikus putih sebagai hewan coba. Dipilih kelamin jantan karena tidak mengalami siklus hormonal yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian dan untuk homogenitas sampel (Smith JB, 1988). Pemilihan umur 3 bulan didasarkan pada pertimbangan sudah mencapai umur dewasa, sedangkan berat badan dapat menggambarkan kesehatan hewan coba. Hewan coba telah diusahakan homogen, dengan memilih hewan coba dari strain yang sama dan satu galur keturunan, jenis kelamin yang sama yaitu jantan serta memiliki umur dan berat badan rata-rata yang tidak berbeda bermakna. Semua hewan coba dalam kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif dan tidak luka (Wattimena, 1993).

Pemilihan parasetamol untuk digunakan dalam penelitian ini karena parasetamol sering dipakai dalam berbagai penelitian terdahulu. Parasetamol (*acetaminophen*) adalah suatu analgetika yang cukup banyak digunakan. Beberapa

merek dagang obat analgesik yang secara generik berisi kandungan parasetamol dijual secara bebas. Parasetamol akan di metabolisir di sitokrom P450 dalam mikrosom sel hepar yang menghasilkan suatu *reactive intermediete* yang disebut *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) atau disebut juga *quinonemine* (Kourounakis, *et al* , 1997). Metabolit toksik ini dapat berikatan dengan molekul target melalui ikatan kovalen atau ikatan non kovalen ataupun dapat berikatan dengan target molekul melalui keduanya (Zakim, *et al*, 1990)



Gambar 6.1. mekanisme toksisitas dari parasetamol (Easvold, 2005 ; Reid B, *et al*, 2005)

Pada keadaan overdosis parasetamol, NAPQI yang dihasilkan sangat banyak akibatnya persediaan glutation untuk meredam senyawa tersebut cepat habis, sehingga NAPQI dengan cepat berikatan dengan protein, keadaan ini terdapat pada fase metabolik. Akibat ikatan kovalen antara protein dengan NAPQI akan menghasilkan *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) yang akan mengakibatkan terjadinya perubahan permeabilitas membran mitokondria atau *Mitochondrial Permeability Transition* (MPT. Bila berkepanjangan akan mengakibatkan kerusakan sel. Selain itu ROS dan RNS yang terbentuk juga akan memicu terjadinya peroksidasi lipid yang dapat mengakibatkan kerusakan *lipid membrane* (Knight, *et al*, 2003; Reid B, *et al*, 2005; Koymans, *et al*, 1998).

Terjadinya deplesi GSH juga akan mengakibatkan terjadinya peningkatan hidrogen peroksida, keadaan ini memicu terbentuknya radikal bebas dan juga memicu terjadinya peroksidasi lipid yang akan mengakibatkan kerusakan sel yang lebih hebat (Knight, *et al*, 2003; Reid B, *et al*, 2005; Koymans, *et al*, 1998).

Pada penderita yang mengalami kerusakan hepar akibat overdosis parasetamol juga ditemukan kadar besi dan tembaga yang cukup tinggi, dimana pemecahan kedua logam tersebut dari protein pengikatnya dapat memicu terjadinya radikal bebas dalam tubuh. Mekanisme inilah yang disebut reaksi radikal bebas sekunder oleh parasetamol. Jadi kerusakan jaringan akibat oksidasi oleh parasetamol tidak hanya disebabkan oleh satu macam mekanisme di hepar saja melainkan juga reaksi radikal bebas sekunder di seluruh tubuh (Halliwell, Gutteridge, 1999).

Pada penelitian ini digunakan ekstrak jinten hitam untuk mencegah kerusakan hepar akibat parasetamol dosis tinggi karena jinten hitam merupakan salah satu bahan tradisional yang sudah lama dipakai sebagai obat terhadap berbagai macam penyakit, dan dari beberapa penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa jinten hitam mengandung bahan-bahan aktif yang bersifat sebagai antioksidan. Bahan aktif tersebut antara lain: *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethol* dan *4-terpineol* (Burist dan Bucar, 2000). Meskipun untuk saat ini untuk mendapatkan ekstrak Jinten hitam masih dibutuhkan dana yang cukup besar, dan sebagai bahan xenobiotik, Jinten hitam juga memiliki efek toksik bagi tubuh bila dikonsumsi dalam dosis besar. Efek toksik Jinten hitam mulai nampak pada pemberian ekstrak Jinten hitam lebih dari 10 ml/KgBB/hr (Zaoui, *et al.*, 2002).

6.1 Kadar SGPT

SGPT merupakan enzim sitoplasma dan konsentrasi yang tinggi hanya terdapat pada sel hepar. Enzim ini dilepas dari sel yang rusak, berkaitan dengan peningkatan permeabilitas membran sel atau nekrosis sel hepar. SGPT serum yang tinggi relatif spesifik untuk kerusakan sel hepar (Sulaiman, *et al*, 1990). Pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok hewan coba yang hanya diberikan sonde parasetamol tanpa ekstrak Jinten hitam menunjukkan peningkatan kadar SGPT yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu kelompok hewan coba yang hanya diberikan sonde CMC Na 0,5 %. Keadaan ini menunjukkan telah terjadi kerusakan sel hepar yang cukup bermakna akibat induksi parasetamol dosis tinggi dengan satu kali pemberian.

Kelompok perlakuan 1 dan 2 menunjukkan penurunan kadar SGPT yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam dapat mencegah terjadinya kerusakan sel hepar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, meskipun kadar SGPT pada kelompok kontrol negatif berbeda secara bermakna dengan kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak Jinten hitam 1,25g/KgBB/hr maupun kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak Jinten hitam 2,5g/KgBB/hr. Hal ini berarti bahwa kelompok yang diberi ekstrak Jinten hitam tidak mengalami kerusakan sel hepar yang berarti, meskipun secara angka nominal kadar SGPT masih di atas angka yang ditunjukkan pada kelompok kontrol negatif dan ini juga berarti bahwa sampai dengan dosis 2,5g/KgBB/hr belum menunjukkan efek protektif yang maksimal. Peningkatan dosis ekstrak Jinten hitam yang diberikan tidak mempengaruhi penurunan kadar SGPT secara signifikan meskipun secara angka nominal terjadi penurunan. Dapat ditarik kesimpulan bahwa mulai pada dosis ekstrak Jinten hitam 1,25g/KgBB/hr

sudah memberikan efek proteksi terhadap penurunan kadar SGPT akibat induksi parasetamol dosis tinggi dengan satu kali pemberian.

Mekanisme perlindungan ekstrak Jinten hitam terhadap hepatotoksisitas akibat induksi parasetamol dosis tinggi adalah perannya sebagai anti oksidan. Hepatotoksisitas akibat induksi parasetamol dosis tinggi dapat diatasi dengan bahan yang bersifat sebagai antioksidan, penghambat terbentuknya radikal bebas yang bersifat lebih reaktif dan pencegah terjadinya peroksidasi lipid pada membran plasma (Chattopadhyay RR, Bandyopadhyay M, 2005; Halliwell, Gutteridge, 1999).

Jinten hitam mengandung bahan aktif antara lain *thymoquinon*, *carvacrol*, *t-anethol* dan *4-terpineol*, keempat bahan tersebut memiliki aktifitas sebagai *OH radical scavenging* (Burits, Bucar, 2000) dan sebagai *anion superoxide scavenger* (Badary, *et al*, 2000), sehingga ekstrak Jinten hitam dapat mencegah terjadinya ikatan antara protein sel dengan produk toksik parasetamol yaitu NAPQI. Selanjutnya dapat dicegah terbentuknya ROS dan RNS, hal ini berarti bahwa terjadinya stress oksidatif dapat dicegah dengan pemberian ekstrak Jinten hitam. Karena pembentukan ROS dan RNS serta stres oksidatif dapat dicegah akibatnya kerusakan sel yang lebih luas dapat di cegah pula. (Knight, *et al*, 2003; Reid, *et al*, 2005; Koymans, *et al*, 1998).

Thymoquinon, *carvacrol*, *t-anethol* dan *4-terpineol*, juga dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid dengan cara bereaksi dengan radikal lipid dan radikal peroksi lipid menjadi senyawa yang kurang reaktif. Pencegahan terjadinya peroksidasi lipid dengan pemberian ekstrak Jinten hitam menyebabkan tidak terjadinya kerusakan membran sel akibat pemakaian parasetamol dosis tinggi

(Burits & Bucar, 2000; Young IS, Woodside JV, 2000; Halliwell, Gutteridge, 1999).

Thymoquinone dalam ekstrak Jinten hitam dapat mencegah sistem biologis dari kerusakan akibat proses oksidasi oleh senyawa pengikat *singlet* oksigen (1O_2) yang dapat dihasilkan pada pemberian parasetamol dosis tinggi. (Young IS, Woodside JV, 2000; Halliwell, Gutteridge, 1999)

Dapat disimpulkan bahwa kandungan antioksidan dalam ekstrak Jinten hitam dapat mencegah kerusakan sel akibat stress oksidatif yang ditimbulkan oleh pemberian parasetamol dosis tinggi. (Burits & Bucar, 2000; Badary, *et al*, 2000; El Dakhakhny, 2000; Halliwell, Gutteridge, 1999; Young IS, Woodside JV, 2000)

6.2 Kadar γ Glutamyl Transpeptidase (γ -GT)

Enzim γ -glutamyl transpeptidase merupakan enzim yang terletak pada membran sel beberapa jaringan diantaranya pada sel hepar, ginjal bagian tubulus proksimal, pankreas, limpa, jantung, otak dan vesika seminalis. Enzim γ -GT yang beredar di serum terutama berasal dari hepar dan saluran empedu, sehingga jika terjadi peningkatan kadar enzim γ -GT dalam serum, maka mengarah kepada penyakit hepatobilier (Zakim *et al.*, 1990; Shift *et al.*, 1999). Kerusakan hepatoseluler dapat mengakibatkan peningkatan kadar γ -GT dalam jumlah yang sedang. Toksisitas terhadap sel hepar (contohnya keracunan parasetamol) dapat mengakibatkan peningkatan kadar γ -GT (Sulaiman, *et al.*, 1990).

Terjadinya peningkatan kadar enzim γ -GT pada kelompok kontrol positif yang berbeda bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif pada penelitian ini menunjukkan bahwa telah terjadi kerusakan sel hepar akibat pemakaian parasetamol dosis tinggi.

Kadar γ -GT pada kelompok kontrol positif berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan 1 dan 2 hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar γ -GT yang bermakna pada kelompok perlakuan 1, 2 dan yang diberikan ekstrak Jinten hitam dengan dosis masing-masing 1,25g/KgBB/hr dan 2,5g/KgBB/hr. Keadaan ini dapat pula diartikan bahwa ekstrak Jinten hitam dapat mencegah terjadinya kerusakan sel hepar akibat induksi parasetamol dosis tinggi.

Kelompok perlakuan 1 yang diberikan ekstrak Jinten hitam 1,25g/KgBB/hr terdapat perbedaan kadar γ -GT yang bermakna dengan kelompok kontrol positif dan negatif. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak Jinten hitam tersebut dapat menurunkan kadar γ -GT dibandingkan dengan kontrol positif, tetapi penurunannya hanya sedikit sehingga masih berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan 2 yang diberikan dosis ekstrak Jinten hitam yang lebih besar yaitu 2,5g/KgBB/hr memberikan kadar γ -GT yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif, meskipun secara angka nominal masih lebih tinggi. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam dengan dosis 2,5g/KgBB/hr dapat mencegah kerusakan sel yang bermakna sehingga kadar γ -GT tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diinduksi parasetamol. Peningkatan pemberian ekstrak Jinten hitam akan memberikan proteksi yang lebih baik terhadap kerusakan sel hepar yang diinduksi parasetamol dosis tinggi.

Berdasarkan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam dengan dosis 1,25g/KgBB/hr sudah mengakibatkan penurunan kadar SGPT dan γ -GT yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang tidak diberi ekstrak Jinten hitam dan diberi parasetamol dosis tinggi dengan satu kali pemberian. Namun pemakaian ekstrak Jinten hitam dosis

2,5g/KgBB/hr akan memberikan hasil yang lebih optimal, karena terjadi penurunan kadar SGPT dan γ -GT yang secara statistik tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan parasetamol dan tidak diberikan ekstrak Jinten hitam. Hal tersebut dapat pula diartikan bahwa tidak terjadi kerusakan sel hepar yang bermakna apabila digunakan ekstrak Jinten hitam dengan dosis 2,5g/KgBB/hr meskipun diinduksi dengan parasetamol dosis tinggi dengan sekali pemberian.

6.3 Kadar Bilirubin

Bilirubin merupakan hasil dari katabolisme heme. Konversi kimiawi heme menjadi bilirubin dilakukan oleh sel retikuloendotelial, kemudian bilirubin yang terbentuk dalam jaringan perifer akan diangkut ke dalam hati oleh albumin plasma (disebut sebagai Bilirubin *Unconjugated*/Bilirubin Indirek) dan selanjutnya mengalami tiga proses metabolisme yaitu: (1) pengambilan bilirubin oleh sel hati, (2) konjugasi bilirubin dalam retikulum endoplasma (disebut sebagai Bilirubin *Conjugated*/Bilirubin Direk), (3) Sekresi ke dalam saluran empedu (Murray RK *et al.*, 2003).

Pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok hewan coba yang hanya diberikan sonde parasetamol tanpa ekstrak Jinten hitam menunjukkan peningkatan yang bermakna kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek ($p < 0,01$) tetapi tidak dengan kadar Bilirubin Direk ($p > 0,01$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Keadaan ini menunjukkan telah terjadi gangguan pada metabolisme bilirubin yang cukup bermakna akibat induksi parasetamol dosis tinggi dengan satu kali pemberian (Reed D, 1990; Roberts LJ, Morrow JD, 2001).

Kelompok perlakuan 1 menunjukkan penurunan kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek yang tidak bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, tetapi kelompok perlakuan 2 menunjukkan penurunan kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek yang bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, hal ini dapat diartikan bahwa pemberian ekstrak Jinten hitam dapat mencegah terjadinya peningkatan bilirubin akibat pemberian parasetamol dosis tinggi.

Kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek pada kelompok kontrol negatif tidak berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan 2 yang diberikan ekstrak Jinten hitam 2,5g/KgBB/hr, hal ini berarti peningkatan dosis ekstrak Jinten hitam yang diberikan mempengaruhi penurunan kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek secara bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Antara kelompok perlakuan 1 dan 2 dengan kelompok kontrol positif tidak terdapat penurunan kadar Bilirubin Direk yang bermakna meskipun secara angka nominal terjadi penurunan. Dapat ditarik kesimpulan bahwa mulai pada dosis ekstrak Jinten hitam 1,25g/KgBB/hr sudah memberikan efek proteksi dari peningkatan bilirubin akibat pemberian parasetamol dosis tinggi dengan satu kali pemberian, namun bagaimana parasetamol dapat menyebabkan gangguan tersebut belum dapat dijelaskan. Gangguan tersebut diduga disebabkan oleh gangguan *uptake* bilirubin dan gangguan konjugasi bilirubin yang menyebabkan kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek meningkat di dalam darah (Davis M, *et al.*, 1995; R.Schiff ER, *et al.*, 1999).

BAB 7
PENUTUP

BAB 7

PENUTUP

7.1 KESIMPULAN

Dari hasil penelitian tersebut di atas dapat di simpulkan:

1. Pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi dapat menurunkan kadar SGPT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi dapat menurunkan kadar γ -GT tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Pemberian ekstrak Jinten hitam (per oral) pra pemberian parasetamol dosis tinggi dapat menurunkan kadar Bilirubin Total dan Bilirubin Indirek tikus putih dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tetapi tidak didapatkan perbedaan kadar Bilirubin Direk yang bermakna antar kelompok.

Pada penelitian ini juga dapat dilihat bahwa efek hepatoprotektif Jinten hitam sudah terlihat pada pemberian ekstrak Jinten hitam dosis 1,25g/KgBB/hr.

7.2. SARAN

1. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek samping pemakaian ekstrak Jinten hitam pada penggunaannya baik jangka panjang maupun jangka pendek.
2. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek perlindungan ekstrak Jinten hitam terhadap efek pemakaian parasetamol jangka panjang pada sel hepar.

3. Perlunya dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah bubuk Jinten hitam memiliki efek sama dengan ekstrak Jinten hitam.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Al Jassir MS, 1997. Chemical Composition of Black Cumin (*Nigella sativa*) Seed Growing in Saudi Arabia Food Chemistry. Saud. Arab. p 239-242.
- Anonim, (<http://class.fst.ohio-state.edu/fst605/lectures/lect6.html>), diakses 23 Juli 2008.
- Aviesiena, 2000, Primary Properties of Black Seed (Online), (<http://www.blackseedusa.com/black.seed.htm>), diakses 13 april 2006).
- Badary OA, Gamal El din AM, 2001. Inhibitory Effects of Thymoquinone against Methylcholanthrene-Induced Fibrosarcoma Tumorigenesis. Abstract Cancer Detect Prev 25(4). p 362 – 368.
- Badary OA, Taha RA, Gamal AM, Abdel-Wahab MH, 2003. Thymoquinone is A Potent Superoxide Anion Scavenger. Abstract of Drug Chem. Tox.26(2). p 87 - 98.
- Basir FA. 1998. *Nigella sativa*. USA. Kesseli Lab. (Online) (<http://bio.umb.edu/index.htm>), diakses 13 april 2006).
- Benet LZ., Kroetz DL., Sheiner LB., 1996. The Dynamic of Drug Absorbtion, Distribution and Elimination. In Goodmen & Gillman ed. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York. Pergusen Press Inc. pp. 617 – 622.
- BPS, 2006. Statistik Kesejahteraan Rakyat 2006. Jakarta.
- Burist M, Bucar F, 2000. Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. Abstract of Phytotherapy 14(5). p 323 – 328.
- Daba MH, Abdel Rahman MS, 1998. Hepatoprotective Activity of Thymoquinone in Isolates Rat Hepatocytes, Abstract of Toxicology Letter 95(1). p 23 – 29.
- Dufour DR, Lott JA, Nolte FS, Gretch DR, Koff RS, Seeff and Leonard B,2000. Diagnosis and Monitoring of Hepatic Injury. I. (Performance Characteristics of Laboratory Tests), National Academy of Clinical Biochemistry, *Clinical Chemistry* 46:12:2027–2049
- El Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim MA, Aly SM, 2000. Effects of *Nigella sativa* oil on Gastric Secretion and Ethanol Induced Ulcer in Rats, Abstract of J. Ethnopharm. 72 (1-2). p 299 – 304
- Eastvold JS, 2005. Acetaminophen Hepatotoxicity: Underlying Mechanisms of Toxicity and the Protective Role of N-acetylcysteine *Free Radicals in Biology and Medicine* University of Iowa 77:222.

- Ghosh MN, 1971. *Fundamentals of Experimental Pharmacology*. Scientific Book Agency, Calcutta, pp 85.
- Gilani AH, Jabeen Q, Ullah Khan MA, 2004. A Review of Medicinal Uses and Pharmacological Activities of *Nigella sativa* Pakistan Journal of Biological Sciences 7 (4): 441-451.
- Halliwell B, Gutteridge J, 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford Science Publicatio. p 442 –467.
- Hamzah, 1999. Potensi Ekstrak Bawang Putih (*Alium Sativum*) Sebagai Hepatoprotektor. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
- Houghton PJ, Zarka R, de las Heras B, Hoult JR. 2000. Fixed Oil of *Nigella Sativa* and Derived Thymoquinone Inhibit Eikosanoid Generation in Leucocytes and Membranes Lipid Peroxidation. Abstract Planta Med. 61 (1) p:33-36.
- Jason DM, Joseph AA, Kato T, Takahashi K, Kamal FB, Roberts LJ, Raymond FB, 1992. Formation of Novel Non- cyclooxygenase-derived Prostanoids (F2-Isoprostanes) in Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity. An Animal Model of Lipid Perxidation. J. Clin. Invest. 90: 2502-2507.
- Julia AR., 1988. Perubahan Histologis Sel Hati Tikus Putih Jenis Wistar Akibat Pemberian Parasetamol Dosis Tinggi Per-oral. Tesis. Fakultas Pascasarjana UNAIR. Surabaya.
- Junquiera LC, Carneiro J, 1980. *Histologi Dasar*. Terjemahan (Dharma A). Basic Histologi, Jakarta : EGC, pp 496.
- Koymans Luc, Lenthe JH, Straat R, Kedler GM, Vermeulen NPE, 1998. A theoretical study on the metabolic activation of paracetamol by cytochrom P450: indication for a uniform oxidation mechanism. Chem. Res. Toxicol. 2, 60-66
- Katzung BG, 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed. Lange Medical Book/McGraw-Hill, Medical Publishing Devison, USA.
- Laura C, Carlo V, Sebastian C, Gianluca T, 2004. The Importace of Redox State in Liver Damage. *Annals of Hepatology*.
- Liu J, Liu Y, Madhu C, Klaasan CD, 1993. Protective Effect of Oleanolic Acid on Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. *The Journal of Pharmacology & exp. Therapeutic*. 266 : 1607 – 1613.
- Lutz WD, Meinrad Boll, and Andreas Stampfl, 2003. Hepatotoxicity and Mechanism of Action Haloalkanes: Carbon Tetrachloride as a Toxicological Model. *Critical Reviews in Toxicology* ;33,2:Pro Quest Medical Library, pp105- 136

- Manyike PT., 2000. Contribution of CYP2E1 and CYP3A to Acetaminophen Reactive metabolite Formation. Clin. Pharmacol Ther. 275 – 76.
- Martindale. 1992. The extra Pharmacoepe. 30th ed. The Pharmaceuticals Pres. London. pp 32 – 34.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, 2003. Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Sixth Edition. The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Oki AS, 2001. Pengaruh Pemberian Kombinasi Vit E Terhadap Hambatan Kerusakan Membran Sel Akibat Pemberian Parasetamol Dosis Tinggi. Tesis. Fakultas Pascasarjana UNAIR. Surabaya.
- Pagola S, Benavent A, Raschi A, Romano E, Molina MAA, Stephens PW, 2003. Crystal Structure Determination of Thymoquinone by High-Resolution X-Ray Powder Diffraction. AAPS Pharm. Sci. Tech.; 5 (2) Article 28.
- Paulsen DF., 1993. Basic Histology examination and Board Review. 2nd ed. Lange Medical Book Prentice-Hall International Inc. pp 229 – 33.
- Randhawa MA, Al-Ghamdi MS, 2002. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa* Pakistan J. Med. Res. Vol.41, No.2.
- Rang HP, Dale MM., 1993. Pharmacology. 3rd ed. Churchill Livingstone. pp 901.
- Ray SD, Mumau VR., Raje RR, 1996. Protection of Acetaminophen-Induced Hepatocellular Apoptosis and Necrosis by Cholesterol Hemisuccinate Pretreatment. The Journal of Pharmacology & exp. Therapeutics. 279 : 1470 – 1483.
- Reed D, 1990. Chemical Mechanisms In Drug-Induced Liver Injury. In (Zakim D, Ed). Hepatology Textbook Of Liver Disease, 2nd Ed. Philadelphia: WB Saunders Company, Pp 737-750.
- Robert DD, Lott JA, Nolte F S, Gretch DR, Koff RS, Seeff LB, 2000. Diagnosis and monitoring of Hepatic Injury. Performance Characteristics of Laboratory Tests. American Association for Clinical Chemistry, Inc.
- Roberts LJ, Morrow JD. 2001. Analgesic-Antipiretic and Antiinflammatory Agents and Drugs employed in the Treatment of Gout. In Goodman & Gillman ed. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. New York. Pergusen Press Inc. pp 687.
- Rosalky SB, Mc Intyre N., 1999. Biochemical Investigations in the Management of Liver Disease in Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Bircher J et al ed. Oxford University Press. pp 500 – 504.
- Rumack BH, Augenstein WL., 1990. Acetaminophen in Clinical Management of Poisoning & Drug Overdose. 2nd ed. Haddad LM ed. WB. Saunders Company. pp 893 – 900.

- Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, 1999. Diseases of the Liver. Evaluation of the Liver : Laboratory Tests. Lippincott Williams & Wilkins, pp 219-223, 229-230.
- Shoker A, 2003. Improvement of Experimental Allergic Encephalitis (EAE) by Thymoquinone; an Oxidative Stress Inhibitor. Abstract of Biomed. Sci. Instr. 39. p 440 – 445.
- Sulaiman HA, Daldiyono, Akbar HN, Rani AA, 1990. Gastroenterologi Hepatologi. Biokimia Penyakit Hati. CV. Infomedika Jakarta, hlm 58-61.
- Steel RGD, Torrie JH, 1991. Prinsip dan Prosedur Statistik. Suatu Pendekatan Biometrik. Ed 1, Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Suryohudoyo P, 2000. Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler, Sagung Seto. Jakarta. Hlm: 31 – 47.
- Turkdogan MK, Agaoglu Z, Yener Z, Sekeroglu R, Akkan HA, Avci ME. 2001. The Role Of Antioxidant Vitamins (C And E), Selenium And Nigella Sativa In The Prevention Of Liver Fibrosis And Cirrhosis In Rabbits: New Hopes. Dtsch Tierarztl Wochenschr. Pp:71-3.
- Widmann FK, 1994. Tinjauan Klinis atas Hasil pemeriksaan Laboratorium.. Terjemahan Siti Boedina Kresno, R. Gandasoebrata, J. Latu. Edisi 9. Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 303-304, 309-310, 327-331.
- Wilson and Gisvold, 1982. Kimia Farmasi dan Medicinal Organik. Edisi ke-8. IKIP Semarang Press Inc. p 1566 – 69.
- Wijaya A, 1996. Radikal Bebas Dan Parameter Rtatus Anti Oksidan. Forum Diagnosticum Prodia Diagnostic Educational Services. Hlm: 1-12.
- Young IS, Woodside JV, 2000. Antioxidants in Health and Disease. J. Clinical Pathology (54): 176- 186.
- Zainuddin, 2000. Metodologi Penelitian. Universitas Airlangga, Surabaya. Hlm 53-54.
- Zakim D, Boyer TD, 1990. Hepatology A Textbook of Liver Disease. Biochemical Tests for Liver Disease. 2nd Ed. W. B. Saunders Company, pp 658 – 659.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Penghitungan Besar Sampel

Data hasil penelitian pendahuluan

Variabel Tergantung (n = 2)	Perlakuan		
	K - (X ± SD)	K + (X ± SD)	P1 (X ± SD)
Kadar SGPT (u/l)	110,500± 6,36	416 ± 138,59	222 ± 52,33
Kadar γ -GT (u/l)	1,77 ± 1,56	2,34 ± 0,07	0,63± 0,03
Kadar Bilirubin Total (mg/dl)	0,9 ± 0,00	1,05 ± 0,07	0,65 ± 0,07
Kadar Bilirubin Direk (mg/dl)	0,05 ± 0,07	0,20 ± 0,00	0,10 ± 0,14
Kadar Bilirubin Indirek (mg/dl)	0,85 ± 0,07	0,85 ± 0,07	0,55 ± 0,07

Rumus;

$$n = \frac{\sigma}{(u_0 - u_s)^2} (Z\alpha + Z\beta)^2$$

keterangan:

n = Besar unit eksperimen

u_0 = Rata-rata kelompok eksperimen

u_s = Rata-rata kelompok kontrol

σ = Simpang baku kelompok kontrol

$Z\alpha = 2,58$ ($\alpha = 0,01$)

$Z\beta = 1,28$ ($\beta = 0,10$)

Dari data kadar SGPT, jumlah sampel:

$$n = \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_0 - \mu_s)^2}$$

$$n = \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_0 - \mu_s)^2}$$

$$= \frac{19207,1881 (14,8996)}{37636}$$

$$= \frac{286179.9419814}{37636}$$

$$= 7,60$$

Dari data Kadar γ -GT, jumlah sampel:

$$n = \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_0 - \mu_s)^2}$$

$$= \frac{0.0049 (14,8996)}{2,9241}$$

$$= 0.03$$

Dari data Kadar Bilirubin Total, jumlah sampel:

$$n = \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_0 - \mu_s)^2}$$

$$= \frac{0.0049 (14,8996)}{2,89}$$

$$= 0,03$$

$$n = \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(\mu_0 - \mu_s)^2}$$

$$= \frac{0.00 (14,8996)}{0.01}$$

$$= 0$$

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{\sigma^2 (Z\alpha + Z\beta)^2}{(u_0 - u_s)^2} \\
 &= \frac{0.0049 (14,8996)}{0,09} \\
 &= 0,8
 \end{aligned}$$

Dari kelima hasil penelitian pendahuluan untuk lima parameter dengan jumlah sampel 2 ekor, dapat disimpulkan bahwa angka tertinggi perhitungan sampel yang didapat adalah 7,6 ekor yang dibulatkan menjadi 8.

LAMPIRAN 2

Pemeriksaan SGPT

Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT dalam darah ditentukan dengan metode *Bergmeyer (1978)*, dengan menggunakan kit dari *Diasys* dan *kat no. 10 260 021* dengan cara sebagai berikut:

SGPT

Reagen

- R1 : *TRIS* pH= 7,15 100 mmol/L, *L-Alanin* 500 mmol/L, *LDH* 1700 mmol/L
- R2 : *2-oxoglutarat* 15 mmol/L, *NADH* 0,18 mmol/L

Prinsip

ALAT/SGPT



LDH (lactate dehydrogenase)



Cara

Pipetkan campuran reagen **R1** dan **R2** dalam tabung reaksi dengan perbandingan 4:1 kemudian dicampur dengan baik dan inkubasi selama 1 menit. Siapkan tabung dan isi dengan 1 ml Reagen yang sudah dcampur tadi dan 0,1 ml serum yang akan diperiksa dan inkubasi. Setelah 1 menit kemudian absorbansi dibaca pada fotometer dengan program SGPT, dan secara otomatis serelah 4 menit hasil akan keluar. Pembacaan ini dilakukan pada panjang gelombang 340 nm.

Perhitungan :

Hitung nilai rata-rata dari perbedaan Absorbansi per menit dan nilai tersebut dipakai untuk kalkulasi hasil analisis.

Kalkulasi : $u/1 = 1745 \times A_{340 \text{ nm}}$ per menit.

$u/1$ = Aktivitas Enzim

1745 = faktor koreksi

$A_{340 \text{ nm}}$ = Absorbansi pada panjang gelombang 340 nm

LAMPIRAN 3

Pemeriksaan γ -GT

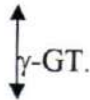
Pengukuran kadar enzim γ -GT dalam darah ditentukan dengan metode test warna enzimatik, sesuai dengan *Szasz/Persijn* dan menggunakan kit dari *DiaSys* dengan *kat* No. 10 280 021.

Reagen

- R1 : *Tris buffer pH 8,25* 100 mmol/L dan *Glycyl glycine* 100 mmol/L
- R2 : *L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide* 4 mmol/L

Prinsip

L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide + *Glycyl glycine*



gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide + *5-amino-2-nitrobenzoat*

γ -GT mengkatalisa pemindahan asam glutamat pada akseptor *glycylglycine*. Dalam proses ini *5-amino-2-nitrobenzoat* terlepas yang dapat diukur pada 405 nm. Peningkatan absorpsi berhubungan langsung dengan aktivitas

Cara:

Pipetkan campuran reagen **R1** dan **R2** dalam tabung reaksi dengan perbandingan 4:1 kemudian dicampur dengan baik dan inkubasi selama 1 menit. Siapkan tabung dan isi dengan 1 ml Reagen yang sudah dcampur tadi dan 0,1 ml serum yang akan diperiksa dan inkubasi. Setelah 1 menit kemudian absorbansi dibaca pada fotometer dengan program γ -GT, dan

secara otomatis serelah 4 menit hasil akan keluar. Pembacaan ini dilakukan pada panjang gelombang 405 nm.

Perhitungan : $U_1 = 1309 \times A_{405 \text{ nm}}$ per menit.

U_1 = Aktivitas Enzim

1309 = faktor koreksi

$A_{405 \text{ nm}}$ = Absorbansi pada panjang gelombang 405 nm

LAMPIRAN 4

Pemeriksaan Bilirubin

Pemeriksaan kadar bilirubin dalam darah ditentukan dengan metode *Diazo*, dengan menggunakan kit dari *Merckotest* dan *kat no. 1.03333.0001*.

Prinsip kerja:

Bilirubin bereaksi dengan asam sulfanilik diazo untuk membentuk azo yang berwarna merah dalam suasana netral dan berwarna biru dalam suasana alkalis.

Reagen:

1. Asam sulfanilik 29 mmol/L
2. Natrium nitrit 29 mmol/L
3. *Accelerator* (130 mmol/L Kafein, 156 mmol/L Natrium Benzoat, 460 mmol/L Natrium Asetat)
4. Larutan Fehling II

Cara/Prosedur:

Bilirubin total

- Campur 0,2ml serum dengan satu tetes natrium nitrit, 0,2ml asam sulfanilik, dan 1ml *accelerator* diamkan pada suhu kamar selama 10 menit
- Kemudian tambahkan larutan *Fehling* II sebanyak 1ml dan campurkan dengan baik
- Setelah 5 menit baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 578nm.

- Perhitungan;

$$K = A_{578\text{nm}} \times 10,5 \text{ mg/dl}$$

K = konsentrasi bilirubin total

$A_{578\text{nm}}$ = Absorbansi pada panjang gelombang 578nm.

Bilirubin direk

- Campur 0,2 ml serum dengan satu tetes natrium nitrit, 0,2ml asam sulfanilik dan 1ml *normal saline* dan diamkan pada suhu kamar selama 5menit
- Setelah 5 menit baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546nm.
- Perhitungan;

$$K = A_{546\text{nm}} \times 14,0 \text{ mg/dl}$$

K = konsentrasi bilirubin total

$A_{546\text{nm}}$ = Absorbansi pada panjang gelombang 546nm.

Bilirubin indirek

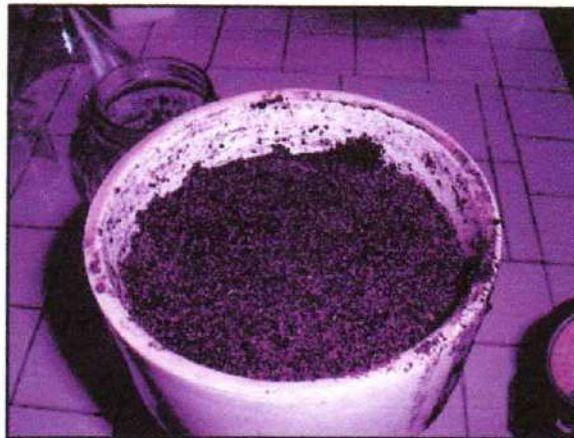
Nilai bilirubin indirek didapatkan dari selisih bilirubin total dengan bilirubin direk.

LAMPIRAN 5

Proses Pembuatan dan Penghitungan Dosis Ekstrak Jinten Hitam

Cara Pembuatan Ekstraksi Biji Nigella sativa Metode Sohlet

1. Nigella sativa dihaluskan dengan blender hingga menyerupai bubuk, kemudian ditimbang dengan timbangan analitik (misal a gr).



2. Selanjutnya direndam dengan ethanol 96% (a ml) selama 1 hari, terlindung dari cahaya sambil diaduk berulang-ulang lalu disaring dan diperas. Ampas saringan direndam lagi dengan ethanol selama 1 hari. Hal ini dilakukan berulang-ulang selama 5 hari terhitung perendaman pertama.



3. Hasil saringan (filtrate) yang didapat dicuci dengan ethanol 96% kembali kemudian dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan di tempat yang sejuk, terlindung dari cahaya matahari selama 2 hari. Setelah itu disaring kembali.



4. Tahap selanjutnya adalah penyulingan dengan menggunakan mesin *rotary evaporator* pada tekanan rendah dengan suhu tidak lebih dari 50° C hingga didapatkan ekstrak yang kental dengan asumsi seluruh kandungan ethanol telah menguap.



5. Selanjutnya untuk mendapatkan ekstrak biji *Nigella sativa* yang steril untuk dikonsumsi, maka dilakukan penyaringan dengan menggunakan mikroporous membrane dengan diameter 0,02 μm .

PENENTUAN DOSIS EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM PADA MENCIT

- Hasil ekstraksi dari 2 kg biji Jinten hitam menghasilkan ekstrak biji jinten hitam sebanyak 535 gram dan dari pengukuran diperoleh volume sebanyak 580 cc minyak jinten hitam.

→ $580 \text{ cc} \approx 535 \text{ gram ekstrak jinten}, \frac{535}{580} \times 100 \% = 92 \%$

580

$\Delta 1 \text{ cc} \approx 0,92 \text{ gram ekstrak jinten hitam}$

➤ Hitungan dosis tikus yang digunakan dalam penelitian ini:

- Dosis 1 : $1,25 \text{ g / kgBB / hr}$ sama dengan $1,36 \text{ cc / kgBB/hr}$, untuk tikus dengan berat rata-rata 200g, maka ekstrak Jinten hitam yang diberikan adalah $1/5 \times 1,36 \text{ cc} = 0,272 \text{ cc/hr}$.
- Dosis 2 : $2,5 \text{ g / kgBB / hr}$ sama dengan $2,72 \text{ cc / kgBB}$, untuk tikus dengan berat rata-rata 200g, maka ekstrak Jinten hitam yang diberikan adalah $1/5 \times 2,72 \text{ cc} = 0,544 \text{ cc/hr}$.

LAMPIRAN 6

Tabel Konversi (berdasarkan rasio luas permukaan tubuh yang dikutip dari Ghosh BN, 1971)

	Mouse (20 g)	Rat (200g)	Guinea pig (400g)	Rabbit (1,5 kg)	Cat (2 kg)	Monkey (4kg)	Dog (12kg)	Man (70 kg)
Mouse (20 g)	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Rat (200g)	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Rat (200g)	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Rabbit (1,5 kg)	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Cat (2 kg)	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Monkey (4kg)	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Dog (12kg)	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Man (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

LAMPIRAN 7

Komposisi Pakan Tikus

Pakan tikus hadala pellet kering yang berasal dari PT. Charoen Pokphand Indonesia, dengan komposisi:

KOMPOSISI	PROSENTASE (%)
Air	13
Protein	18
Lemak	3
Serat	6
Abu	12
Ca	3,6
P	0,6
Karbohidrat	43,8

Bahan-bahan yang dipakai :

Jagung, Dedak, Tepung ikan, Kedelai, Kelapa, Gandum, Bungkil karang, Kacang tanah, Kanola, Vitamin, Kalsium, Phospat, dan *Trace mineral* (kode produksi: 108811115)

LAMPIRAN 8**Data Mentah Hasil Penelitian****Kadar SGPT**

No	Perlakuan			
	K -	K +	P1	P2
1	91	778	595	283
2	95	799	527	474
3	89	842	448	335
4	86	793	332	316
5	84	719	303	343
6	85	671	482	388
7	88	793	411	350
8	89	823	450	311
9	79	781	412	463
10	84	979	348	321
(X ± SD)	87,00 ± 4,42	797,80 ± 80,56	430,80 ± 90,18	358,40 ± 64,26

Kadar γ -GT

No	Perlakuan			
	K -	K +	P1	P2
1	0,983	4,881	1,421	2,521
2	1,341	5,52	4,361	1,607
3	1,165	4,896	4,893	1,232
4	1,385	4,66	3,377	2,651
5	0,987	6,185	2,563	1,407
6	0,9	6,33	2,968	2,695
7	1,54	7,583	3,604	1,164
8	1,162	9,088	2,967	1,807
9	0,882	4,39	2,344	5,281
10	1,556	9,516	4,197	2,175
(X ± SD)	1,19 ± 0,25	6,30 ± 1,85	3,27 ± 1,04	2,25 ± 1,21

Kadar Bilirubin Total

No	Perlakuan			
	K -	K +	P1	P2
1	0,9	2,4	2,1	1,2
2	1,3	2,8	2,8	0,5
3	1,2	1,6	2,5	1,3
4	0,8	2,6	2,5	1,3
5	0,9	1,8	1,7	0,4
6	1,2	2,1	2	1,2
7	1,3	2,3	1,9	0,6
8	0,8	2,1	1,1	1,1
9	1,4	2,6	1,3	1,2
10	0,9	1,4	1,8	2
(X ± SD)	1,07 ± 0,23	2,17 ± 0,46	1,97 ± 0,54	1,08 ± 0,47

Kadar Bilirubin Direk

No	Perlakuan			
	K -	K +	P1	P2
1	0,3	0,8	0	0,4
2	0,3	0,5	0,1	0,4
3	0,5	0,2	0,7	0,4
4	0,2	0,1	1	0,4
5	0,4	1	0,1	0,1
6	0,3	0,6	1	0,2
7	0,5	0,5	0,5	0,4
8	0,3	0,5	0,3	0,1
9	0,3	0,1	0,2	0,2
10	0,2	0,4	0,3	0,3
(X ± SD)	0,33 ± 0,11	0,47 ± 0,29	0,42 ± 0,37	0,29 ± 0,13

Kadar Bilirubin Indirek

No	Perlakuan			
	K -	K +	P1	P2
1	0,6	1,6	2,1	0,8
2	1	2,3	2,7	0,1
3	0,7	1,4	1,8	0,9
4	0,6	2,5	1,5	0,9
5	0,5	0,8	1,6	0,3
6	0,9	1,5	1	1
7	0,8	1,8	1,4	0,2
8	0,5	1,6	0,8	1
9	1,1	2,5	1,1	1
10	0,7	1	1,5	1,7
(X ± SD)	0,74 ± 0,21	1,70 ± 0,57	1,55 ± 0,48	0,79 ± 0,48

LAMPIRAN 9

Hasil Perhitungan Statistik

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	SGPT	Gamma G	Bilirubin total	Bilirubin direk	Bilirubin indirek	berat badan hari ke 1	berat badan hari ke 8	berat badan hari ke 10
N	40	40	40	40	40	40	40	40
Normal Parameters	Mean 18,5000	3,2546	1,5725	,3775	1,1950	214,5750	219,8500	220,3000
	Std. Deviation 5,2628	2,2640	,6618	,2496	,6373	15,7674	15,2459	15,0932
Most Extreme Differences	Absolute	,139	,150	,160	,164	,170	,153	,118
	Positive	,139	,150	,160	,164	,170	,153	,118
	Negative	-,112	-,147	-,069	-,108	-,063	-,103	-,112
Kolmogorov-Smirnov Z	,877	,951	1,010	1,038	1,076	,969	,747	,743
Asymp. Sig. (2-tailed)	,425	,326	,259	,232	,197	,305	,632	,639

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

General Linear Model

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
kelompok	,00 kontrol	10
perlakuan	1,00 parasetamol	10
	2,00 parasetamol+jinten 1	10
	3,00 parasetamol+jinten 2	10

Descriptive Statistics

	kelompok perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
SGPT	kontrol	87,0000	4,4222	10
	parasetamol	797,8000	80,5754	10
	parasetamol+jinten 1	430,8000	90,1835	10
	parasetamol+jinten 2	358,4000	64,2602	10
	Total	418,5000	265,2628	40
Gamma GT	kontrol	1,1901	,2542	10
	parasetamol	6,3049	1,8471	10
	parasetamol+jinten 1	3,2695	1,0417	10
	parasetamol+jinten 2	2,2540	1,2093	10
	Total	3,2546	2,2640	40
Bilirubin total	kontrol	1,0700	,2312	10
	parasetamol	2,1700	,4596	10
	parasetamol+jinten 1	1,9700	,5355	10
	parasetamol+jinten 2	1,0800	,4733	10
	Total	1,5725	,6618	40
Bilirubin direk	kontrol	,3300	,1059	10
	parasetamol	,4700	,2908	10
	parasetamol+jinten 1	,4200	,3676	10
	parasetamol+jinten 2	,2900	,1287	10
	Total	,3775	,2496	40
Bilirubin indirek	kontrol	,7400	,2066	10
	parasetamol	1,7000	,5869	10
	parasetamol+jinten 1	1,5500	,5563	10
	parasetamol+jinten 2	,7900	,4771	10
	Total	1,1950	,6373	40
berat badan hari ke 1	kontrol	212,5000	18,4827	10
	parasetamol	212,7000	15,6706	10
	parasetamol+jinten 1	223,2000	13,1724	10
	parasetamol+jinten 2	209,9000	14,1771	10
	Total	214,5750	15,7674	40
berat badan hari ke 8	kontrol	215,5000	18,4887	10
	parasetamol	218,1000	17,1429	10
	parasetamol+jinten 1	226,9000	12,4316	10
	parasetamol+jinten 2	218,9000	11,6757	10
	Total	219,8500	15,2459	40
berat badan hari ke 10	kontrol	215,6000	17,9580	10
	parasetamol	218,4000	16,9063	10
	parasetamol+jinten 1	227,4000	12,1491	10
	parasetamol+jinten 2	219,8000	12,0996	10
	Total	220,3000	15,0932	40

Multivariate Tests^f

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,986	588,790 ^a	4,000	33,000	,000
	Wilks' Lambda	,014	588,790 ^a	4,000	33,000	,000
	Hotelling's Trace	71,368	588,790 ^a	4,000	33,000	,000
	Roy's Largest Root	71,368	588,790 ^a	4,000	33,000	,000
KELPK	Pillai's Trace	1,300	6,693	12,000	105,000	,000
	Wilks' Lambda	,034	19,049	12,000	87,601	,000
	Hotelling's Trace	19,429	51,271	12,000	95,000	,000
	Roy's Largest Root	18,963	165,926 ^b	4,000	35,000	,000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept+KELPK

Levene's Test of Equality of Error Variances^g

	F	df1	df2	Sig.
SGPT	4,071	3	36	,014
Gamma GT	4,924	3	36	,006
Bilirubin total	1,193	3	36	,326
Bilirubin direk	5,760	3	36	,003
Bilirubin indirek	1,865	3	36	,153
berat badan hari ke 1	,884	3	36	,459
berat badan hari ke 8	1,893	3	36	,148
berat badan hari ke 10	1,648	3	36	,196

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+KELPK

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	SGPT	2575240,400 ^a	3	858413,467	182,890	,000
	Gamma GT	145,679 ^b	3	48,560	32,245	,000
	Bilirubin total	10,101 ^c	3	3,367	17,368	,000
	Bilirubin direk	,203 ^d	3	6,758E-02	1,093	,365
	Bilirubin indirek	7,521 ^e	3	2,507	10,850	,000
	berat badan hari ke 1	1040,675 ^f	3	346,892	1,443	,246
	berat badan hari ke 8	725,900 ^g	3	241,967	1,045	,385
	berat badan hari ke 10	763,600 ^h	3	254,533	1,128	,351
Intercept	SGPT	7005690,000	1	7005690,000	1492,605	,000
	Gamma GT	423,703	1	423,703	281,350	,000
	Bilirubin total	98,910	1	98,910	510,212	,000
	Bilirubin direk	5,700	1	5,700	92,146	,000
	Bilirubin indirek	57,121	1	57,121	247,218	,000
	berat badan hari ke 1	1841697,225	1	1841697,225	7660,351	,000
	berat badan hari ke 8	1933360,900	1	1933360,900	8346,243	,000
	berat badan hari ke 10	1941283,600	1	1941283,600	8605,828	,000
KELPK	SGPT	2575240,400	3	858413,467	182,890	,000
	Gamma GT	145,679	3	48,560	32,245	,000
	Bilirubin total	10,101	3	3,367	17,368	,000
	Bilirubin direk	,203	3	6,758E-02	1,093	,365
	Bilirubin indirek	7,521	3	2,507	10,850	,000
	berat badan hari ke 1	1040,675	3	346,892	1,443	,246
	berat badan hari ke 8	725,900	3	241,967	1,045	,385
	berat badan hari ke 10	763,600	3	254,533	1,128	,351
Error	SGPT	168969,600	36	4693,600		
	Gamma GT	54,215	36	1,506		
	Bilirubin total	6,979	36	,194		
	Bilirubin direk	2,227	36	6,186E-02		
	Bilirubin indirek	8,318	36	,231		
	berat badan hari ke 1	8655,100	36	240,419		
	berat badan hari ke 8	8339,200	36	231,644		
	berat badan hari ke 10	8120,800	36	225,578		
Total	SGPT	9749900,000	40			
	Gamma GT	623,597	40			
	Bilirubin total	115,990	40			
	Bilirubin direk	8,130	40			
	Bilirubin indirek	72,960	40			
	berat badan hari ke 1	1851393,000	40			
	berat badan hari ke 8	1942426,000	40			
	berat badan hari ke 10	1950168,000	40			
Corrected Total	SGPT	2744210,000	39			
	Gamma GT	199,894	39			
	Bilirubin total	17,080	39			
	Bilirubin direk	2,430	39			
	Bilirubin indirek	15,839	39			
	berat badan hari ke 1	9695,775	39			
	berat badan hari ke 8	9065,100	39			
	berat badan hari ke 10	8884,400	39			

- a. R Squared = ,938 (Adjusted R Squared = ,933)
- b. R Squared = ,729 (Adjusted R Squared = ,706)
- c. R Squared = ,591 (Adjusted R Squared = ,557)
- d. R Squared = ,083 (Adjusted R Squared = ,007)
- e. R Squared = ,475 (Adjusted R Squared = ,431)
- f. R Squared = ,107 (Adjusted R Squared = ,033)
- g. R Squared = ,080 (Adjusted R Squared = ,003)
- h. R Squared = ,086 (Adjusted R Squared = ,010)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
SGPT	kontrol	parasetamol	-710.8000*	30.63854	.000	-794.1210	-627.4790
		parasetamol+jinten 1	-343.8000*	30.63854	.000	-427.1210	-260.4790
		parasetamol+jinten 2	-271.4000*	30.63854	.000	-354.7210	-188.0790
	parasetamol	kontrol	710.8000*	30.63854	.000	627.4790	794.1210
		parasetamol+jinten 1	367.0000*	30.63854	.000	283.6790	450.3210
		parasetamol+jinten 2	439.4000*	30.63854	.000	356.0790	522.7210
	parasetamol+jinten 1	kontrol	343.8000*	30.63854	.000	260.4790	427.1210
		parasetamol	-367.0000*	30.63854	.000	-450.3210	-283.6790
		parasetamol+jinten 2	72.4000	30.63854	.024	-10.9210	155.7210
	parasetamol+jinten 2	kontrol	271.4000*	30.63854	.000	188.0790	354.7210
		parasetamol	-439.4000*	30.63854	.000	-522.7210	-356.0790
		parasetamol+jinten 1	-72.4000	30.63854	.024	-155.7210	10.9210
Gamma GT	kontrol	parasetamol	-5.1148*	.54881	.000	-6.6073	-3.6223
		parasetamol+jinten 1	-2.0794*	.54881	.001	-3.5719	-.5869
		parasetamol+jinten 2	-1.0639	.54881	.060	-2.5564	.4286
	parasetamol	kontrol	5.1148*	.54881	.000	3.6223	6.6073
		parasetamol+jinten 1	3.0354*	.54881	.000	1.5429	4.5279
		parasetamol+jinten 2	4.0509*	.54881	.000	2.5584	5.5434
	parasetamol+jinten 1	kontrol	2.0794*	.54881	.001	.5869	3.5719
		parasetamol	-3.0354*	.54881	.000	-4.5279	-1.5429
		parasetamol+jinten 2	1.0155	.54881	.072	-.4770	2.5080
	parasetamol+jinten 2	kontrol	1.0639	.54881	.060	-.4286	2.5564
		parasetamol	-4.0509*	.54881	.000	-5.5434	-2.5584
		parasetamol+jinten 1	-1.0155	.54881	.072	-2.5080	.4770
Bilirubin total	kontrol	parasetamol	-1.1000*	.19691	.000	-1.6355	-.5645
		parasetamol+jinten 1	-.9000*	.19691	.000	-1.4355	-.3645
		parasetamol+jinten 2	-.0100	.19691	.960	-.5455	.5255
	parasetamol	kontrol	1.1000*	.19691	.000	.5645	1.6355
		parasetamol+jinten 1	.2000	.19691	.317	-.3355	.7355
		parasetamol+jinten 2	1.0900*	.19691	.000	.5545	1.6255
	parasetamol+jinten 1	kontrol	.9000*	.19691	.000	.3645	1.4355
		parasetamol	-.2000	.19691	.317	-.7355	.3355
		parasetamol+jinten 2	.8900*	.19691	.000	.3545	1.4255
	parasetamol+jinten 2	kontrol	.0100	.19691	.960	-.5255	.5455
		parasetamol	-1.0900*	.19691	.000	-1.6255	-.5545
		parasetamol+jinten 1	-.8900*	.19691	.000	-1.4255	-.3545
Bilirubin direk	kontrol	parasetamol	-.1400	.11123	.216	-.4425	.1625
		parasetamol+jinten 1	-.0900	.11123	.424	-.3925	.2125
		parasetamol+jinten 2	.0400	.11123	.721	-.2625	.3425
	parasetamol	kontrol	.1400	.11123	.216	-.1625	.4425
		parasetamol+jinten 1	.0500	.11123	.656	-.2525	.3525
		parasetamol+jinten 2	.1800	.11123	.114	-.1225	.4825
	parasetamol+jinten 1	kontrol	.0900	.11123	.424	-.2125	.3925
		parasetamol	-.0500	.11123	.656	-.3525	.2525
		parasetamol+jinten 2	.1300	.11123	.250	-.1725	.4325
	parasetamol+jinten 2	kontrol	-.0400	.11123	.721	-.3425	.2625
		parasetamol	-.1800	.11123	.114	-.4825	.1225
		parasetamol+jinten 1	-.1300	.11123	.250	-.4325	.1725
Bilirubin indirek	kontrol	parasetamol	-.9600*	.21497	.000	-1.5446	-.3754
		parasetamol+jinten 1	-.8100*	.21497	.001	-1.3946	-.2254
		parasetamol+jinten 2	-.0500	.21497	.817	-.6346	.5346
	parasetamol	kontrol	.9600*	.21497	.000	.3754	1.5446
		parasetamol+jinten 1	.1500	.21497	.490	-.4346	.7346
		parasetamol+jinten 2	.9100*	.21497	.000	.3254	1.4946
	parasetamol+jinten 1	kontrol	.8100*	.21497	.001	.2254	1.3946
		parasetamol	-.1500	.21497	.490	-.7346	.4346
		parasetamol+jinten 2	.7600*	.21497	.001	.1754	1.3446
	parasetamol+jinten 2	kontrol	.0500	.21497	.817	-.5346	.6346
		parasetamol	-.9100*	.21497	.000	-1.4946	-.3254
		parasetamol+jinten 1	-.7600*	.21497	.001	-1.3446	-.1754

*. The mean difference is significant at the .01 level.

Multiple Comparisons

Tamhane

Dependent Variable	(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
SGPT	kontrol	parasetamol	-710,8000*	30,6385	,000	-823,3100	-598,2900
		parasetamol+jinten 1	-343,8000*	30,6385	,000	-469,7453	-217,8547
		parasetamol+jinten 2	-271,4000*	30,6385	,000	-361,0901	-181,7099
	parasetamol	kontrol	710,8000*	30,6385	,000	598,2900	823,3100
		parasetamol+jinten 1	367,0000*	30,6385	,000	225,5597	508,4403
	parasetamol+jinten 1	parasetamol+jinten 2	439,4000*	30,6385	,000	318,1009	560,6991
		kontrol	343,8000*	30,6385	,000	217,8547	469,7453
	parasetamol+jinten 2	parasetamol	-367,0000*	30,6385	,000	-508,4403	-225,5597
		parasetamol+jinten 1	72,4000	30,6385	,288	-59,2167	204,0167
	kontrol	parasetamol	271,4000*	30,6385	,000	181,7099	361,0901
		parasetamol+jinten 1	-439,4000*	30,6385	,000	-560,6991	-318,1009
		parasetamol+jinten 2	-72,4000	30,6385	,288	-204,0167	59,2167
Gamma GT	kontrol	parasetamol	-5,1148*	,5488	,000	-7,6846	-2,5450
		parasetamol+jinten 1	-2,0794*	,5488	,001	-3,5192	-,6396
		parasetamol+jinten 2	-1,0639	,5488	,124	-2,7387	,6109
	parasetamol	kontrol	5,1148*	,5488	,000	2,5450	7,6846
		parasetamol+jinten 1	3,0354*	,5488	,003	,4433	5,6275
	parasetamol+jinten 1	parasetamol+jinten 2	4,0509*	,5488	,000	1,4025	6,6993
		kontrol	2,0794*	,5488	,001	,6396	3,5192
	parasetamol+jinten 2	parasetamol	-3,0354*	,5488	,003	-5,6275	-,4433
		parasetamol+jinten 1	1,0155	,5488	,309	-,8541	2,8851
	kontrol	parasetamol	1,0639	,5488	,124	-,6109	2,7387
		parasetamol+jinten 1	-4,0509*	,5488	,000	-6,6993	-1,4025
		parasetamol+jinten 2	-1,0155	,5488	,309	-2,8851	,8541
Bilirubin total	kontrol	parasetamol	-1,1000*	,1969	,000	-1,7387	-,4613
		parasetamol+jinten 1	-,9000*	,1969	,002	-1,6391	-,1609
		parasetamol+jinten 2	-1,0000E-02	,1969	1,000	-,6665	,6465
	parasetamol	kontrol	1,1000*	,1969	,000	,4613	1,7387
		parasetamol+jinten 1	,2000	,1969	,944	-,6268	1,0268
	parasetamol+jinten 1	parasetamol+jinten 2	1,0900*	,1969	,000	,3200	1,8600
		kontrol	,9000*	,1969	,002	,1609	1,6391
	parasetamol+jinten 2	parasetamol	-,2000	,1969	,944	-1,0268	,6268
		parasetamol+jinten 1	,8900*	,1969	,006	5,379E-02	1,7262
	kontrol	parasetamol	1,000E-02	,1969	1,000	-,6465	,6665
		parasetamol+jinten 1	-1,0900*	,1969	,000	-1,8600	-,3200
		parasetamol+jinten 2	-,8900*	,1969	,006	-1,7262	-5,3779E-02
Bilirubin direk	kontrol	parasetamol	-,1400	,1112	,695	-,5405	,2605
		parasetamol+jinten 1	-9,0000E-02	,1112	,979	-,5970	,4170
		parasetamol+jinten 2	4,000E-02	,1112	,975	-,1557	,2357
	parasetamol	kontrol	,1400	,1112	,695	-,2605	,5405
		parasetamol+jinten 1	5,000E-02	,1112	1,000	-,5020	,6020
	parasetamol+jinten 1	parasetamol+jinten 2	,1800	,1112	,461	-,2216	,5816
		kontrol	9,000E-02	,1112	,979	-,4170	,5970
	parasetamol+jinten 2	parasetamol	-5,0000E-02	,1112	1,000	-,6020	,5020
		parasetamol+jinten 1	,1300	,1112	,895	-,3762	,6362
	kontrol	parasetamol	-4,0000E-02	,1112	,975	-,2357	,1557
		parasetamol+jinten 1	-,1800	,1112	,461	-,5816	,2216
		parasetamol+jinten 2	-,1300	,1112	,895	-,6362	,3762
Bilirubin indirek	kontrol	parasetamol	-,9600*	,2150	,003	-1,7682	-,1518
		parasetamol+jinten 1	-,8100*	,2150	,007	-1,5761	-4,3873E-02
		parasetamol+jinten 2	-5,0000E-02	,2150	1,000	-,7086	,6086
	parasetamol	kontrol	,9600*	,2150	,003	,1518	1,7682
		parasetamol+jinten 1	,1500	,2150	,993	-,7942	1,0942
	parasetamol+jinten 1	parasetamol+jinten 2	,9100*	,2150	,008	2,097E-02	1,7990
		kontrol	,8100*	,2150	,007	4,387E-02	1,5761
	parasetamol+jinten 2	parasetamol	-,1500	,2150	,993	-1,0942	,7942
		parasetamol+jinten 1	,7600	,2150	,025	-9,8690E-02	1,6187
	kontrol	parasetamol	5,000E-02	,2150	1,000	-,6086	,7086
		parasetamol+jinten 1	-,9100*	,2150	,008	-2,0969E-02	,6086
		parasetamol+jinten 2	-,7600	,2150	,025	-1,6187	9,869E-02

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,01 level.

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
berat badan hari ke 1 kontrol	10	212,5000	18,4827	5,8448	199,2783	225,7217	197,00	243,00
parasetamol	10	212,7000	15,6706	4,9555	201,4900	223,9100	194,00	240,00
parasetamol+jinten	10	223,2000	13,1724	4,1655	213,7771	232,6229	202,00	242,00
parasetamol+jinten	10	209,9000	14,1771	4,4832	199,7583	220,0417	194,00	239,00
Total	40	214,5750	15,7674	2,4930	209,5324	219,6176	194,00	243,00
berat badan hari ke 8 kontrol	10	215,5000	18,4887	5,8467	202,2740	228,7260	199,00	246,00
parasetamol	10	218,1000	17,1429	5,4210	205,8367	230,3633	199,00	246,00
parasetamol+jinten	10	226,9000	12,4316	3,9312	218,0070	235,7930	205,00	242,00
parasetamol+jinten	10	218,9000	11,6757	3,6922	210,5477	227,2523	202,00	242,00
Total	40	219,8500	15,2459	2,4106	214,9741	224,7259	199,00	246,00
berat badan hari ke 10 kontrol	10	215,6000	17,9580	5,6788	202,7536	228,4464	199,00	246,00
parasetamol	10	218,4000	16,9063	5,3462	206,3060	230,4940	200,00	247,00
parasetamol+jinten	10	227,4000	12,1491	3,8419	218,7091	236,0909	207,00	244,00
parasetamol+jinten	10	219,8000	12,0996	3,8262	211,1445	228,4555	202,00	244,00
Total	40	220,3000	15,0932	2,3864	215,4730	225,1270	199,00	247,00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
berat badan hari ke 1 Between Groups	1040,675	3	346,892	1,443	,246
Within Groups	8655,100	36	240,419		
Total	9695,775	39			
berat badan hari ke 8 Between Groups	725,900	3	241,967	1,045	,385
Within Groups	8339,200	36	231,644		
Total	9065,100	39			
berat badan hari ke 10 Between Groups	763,600	3	254,533	1,128	,351
Within Groups	8120,800	36	225,578		
Total	8884,400	39			

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
berat badan hari ke 1	,884	3	36	,459
berat badan hari ke 8	1,893	3	36	,148
berat badan hari ke 10	1,648	3	36	,196

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
berat badan hari ke 1	kontrol	parasetamol	-,2000	6,9343	,977	-19,0576	18,6576
		parasetamol+jinten 1	-10,7000	6,9343	,132	-29,5576	8,1576
		parasetamol+jinten 2	2,6000	6,9343	,710	-16,2576	21,4576
	parasetamol	kontrol	,2000	6,9343	,977	-18,6576	19,0576
		parasetamol+jinten 1	-10,5000	6,9343	,139	-29,3576	8,3576
		parasetamol+jinten 2	2,8000	6,9343	,689	-16,0576	21,6576
	parasetamol+jinten 1	kontrol	10,7000	6,9343	,132	-8,1576	29,5576
		parasetamol	10,5000	6,9343	,139	-8,3576	29,3576
		parasetamol+jinten 2	13,3000	6,9343	,063	-5,5576	32,1576
	parasetamol+jinten 2	kontrol	-2,6000	6,9343	,710	-21,4576	16,2576
		parasetamol	-2,8000	6,9343	,689	-21,6576	16,0576
		parasetamol+jinten 1	-13,3000	6,9343	,063	-32,1576	5,5576
berat badan hari ke 8	kontrol	parasetamol	-2,6000	6,8065	,705	-21,1103	15,9103
		parasetamol+jinten 1	-11,4000	6,8065	,103	-29,9103	7,1103
		parasetamol+jinten 2	-3,4000	6,8065	,620	-21,9103	15,1103
	parasetamol	kontrol	2,6000	6,8065	,705	-15,9103	21,1103
		parasetamol+jinten 1	-8,8000	6,8065	,204	-27,3103	9,7103
		parasetamol+jinten 2	-,8000	6,8065	,907	-19,3103	17,7103
	parasetamol+jinten 1	kontrol	11,4000	6,8065	,103	-7,1103	29,9103
		parasetamol	8,8000	6,8065	,204	-9,7103	27,3103
		parasetamol+jinten 2	8,0000	6,8065	,248	-10,5103	26,5103
	parasetamol+jinten 2	kontrol	3,4000	6,8065	,620	-15,1103	21,9103
		parasetamol	,8000	6,8065	,907	-17,7103	19,3103
		parasetamol+jinten 1	-8,0000	6,8065	,248	-26,5103	10,5103
berat badan hari ke 10	kontrol	parasetamol	-2,8000	6,7168	,679	-21,0663	15,4663
		parasetamol+jinten 1	-11,8000	6,7168	,087	-30,0663	6,4663
		parasetamol+jinten 2	-4,2000	6,7168	,536	-22,4663	14,0663
	parasetamol	kontrol	2,8000	6,7168	,679	-15,4663	21,0663
		parasetamol+jinten 1	-9,0000	6,7168	,189	-27,2663	9,2663
		parasetamol+jinten 2	-1,4000	6,7168	,836	-19,6663	16,8663
	parasetamol+jinten 1	kontrol	11,8000	6,7168	,087	-6,4663	30,0663
		parasetamol	9,0000	6,7168	,189	-9,2663	27,2663
		parasetamol+jinten 2	7,6000	6,7168	,265	-10,6663	25,8663
	parasetamol+jinten 2	kontrol	4,2000	6,7168	,536	-14,0663	22,4663
		parasetamol	1,4000	6,7168	,836	-16,8663	19,6663
		parasetamol+jinten 1	-7,6000	6,7168	,265	-25,8663	10,6663

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	berat badan hari ke 1	214,5750	40	15,7674	2,4930
	berat badan hari ke 8	219,8500	40	15,2459	2,4106
Pair 2	berat badan hari ke 1	214,5750	40	15,7674	2,4930
	berat badan hari ke 10	220,3000	40	15,0932	2,3864
Pair 3	berat badan hari ke 8	219,8500	40	15,2459	2,4106
	berat badan hari ke 10	220,3000	40	15,0932	2,3864

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 berat badan hari ke 1 & berat badan hari ke 8	40	,965	,000
Pair 2 berat badan hari ke 1 & berat badan hari ke 10	40	,960	,000
Pair 3 berat badan hari ke 8 & berat badan hari ke 10	40	,997	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	99% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	berat badan hari ke 1 & berat badan hari ke 8	-5,2750	4,1571	,6573	-7,0549	-3,4951	-8,025	39	,000
Pair 2	berat badan hari ke 1 & berat badan hari ke 10	-5,7250	4,4027	,6961	-7,6101	-3,8399	-8,224	39	,000
Pair 3	berat badan hari ke 8 & berat badan hari ke 10	-,4500	1,1536	,1824	-,9439	,392E-02	-2,467	39	,018

Data Hasil Penelitian

kel	sgpt	γ -gt	bili tot	bili dir	bili indir	BB 1	BB 8	BB 10
0	91	0,983	0,9	0,3	0,6	243	246	246
0	95	1,341	1,3	0,3	1	202	204	205
0	89	1,165	1,2	0,5	0,7	240	245	243
0	86	1,385	0,8	0,2	0,6	199	206	206
0	84	0,987	0,9	0,4	0,5	197	205	207
0	85	0,9	1,2	0,3	0,9	201	202	202
0	88	1,54	1,3	0,5	0,8	208	208	208
0	89	1,162	0,8	0,3	0,5	204	206	206
0	79	0,882	1,4	0,3	1,1	233	234	234
0	84	1,556	0,9	0,2	0,7	198	199	199
1	778	4,881	2,4	0,8	1,6	218	228	228
1	799	5,52	2,8	0,5	2,3	194	199	200
1	842	4,896	1,6	0,2	1,4	197	199	201
1	793	4,66	2,6	0,1	2,5	199	201	201
1	719	6,185	1,8	1	0,8	217	221	222
1	671	6,33	2,1	0,6	1,5	228	232	231
1	793	7,583	2,3	0,5	1,8	198	202	201
1	823	9,088	2,1	0,5	1,6	210	218	219
1	781	4,39	2,6	0,1	2,5	226	235	234
1	979	9,516	1,4	0,4	1	240	246	247
2	595	1,421	2,1	0	2,1	211	216	216
2	527	4,361	2,8	0,1	2,7	228	232	230
2	448	4,893	2,5	0,7	1,8	232	236	236
2	332	3,377	2,5	1	1,5	234	235	235
2	303	2,563	1,7	0,1	1,6	237	242	244
2	482	2,968	2	1	1	217	221	223
2	411	3,604	1,9	0,5	1,4	212	216	216
2	450	2,967	1,1	0,3	0,8	242	242	242
2	412	2,344	1,3	0,2	1,1	217	224	225
2	348	4,197	1,8	0,3	1,5	202	205	207
3	283	2,521	1,2	0,4	0,8	209	214	214
3	474	1,607	0,5	0,4	0,1	230	234	234
3	335	1,232	1,3	0,4	0,9	204	216	216
3	316	2,651	1,3	0,4	0,9	239	242	244
3	343	1,407	0,4	0,1	0,3	202	213	214
3	388	2,695	1,2	0,2	1	214	217	220
3	350	1,164	0,6	0,4	0,2	203	212	214
3	311	1,807	1,1	0,1	1	194	202	202
3	463	5,281	1,2	0,2	1	199	214	213
3	321	2,175	2	0,3	1,7	205	225	227

