

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah sebagai Hepatoprotektor terhadap Kadar ALP Serum Mencit yang Diinduksi Isoniazid

*(Hepatoprotective Activity of Red Spinach (*Amaranthus tricolor* L.) Leaves Ethanolic Extract on ALP Serum Mice Induced by Isoniazid)*

Shinta Madyaning Wuri, Aris Prasetyo, Elly Nurus Sakinah
Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jl. Kalimantan no.37 Tegalboto Jember
Email: aprasetyo08@gmail.com

Abstract

*Isoniazid (INH) is metabolized become hidrazine that depleted glutation (GSH) in hepatocytes, resulted imbalance oxidant and antioxidant along with increased of free radicals, which can increase alkaline phosphatase (ALP). Ethanolic extract of red spinach (*Amaranthus tricolor* L.) leaves contains antioxidant which can donates the electron so free radical can be stabilized. The aim of this study was to investigate the effect of ethanolic extract of red spinach leaves on ALP levels of mice induced by INH and its effective dose. This research used 28 mice that divided into seven groups: K(N) was given normal saline, K(-) was given INH 100 mg/kgBW, K1, K2, K3, K4 and K5 group which given INH 100 mg/kgBW peroral and after 2 hours would be given ethanolic extract of red spinach leaves in the dose 1,05 mg/20gBW, 2,1 mg/20gBW, 4,2 mg/20gBW, 8,4 mg/20gBW and 16,8 mg/20gBW for ten days. ALP serum was measured on the day 11th. The result of average ALP levels were K(N) 41,36 U/L, K(-) 110,97 U/L, K1 79,26 U/L, K2 71,34 U/L, K3 66,51 U/L, K4 62,82 U/L and K5 47,21 U/L. In conclusion the ethanolic extract of red spinach leaves could prevent the increasing of ALP levels and the effective dose of the extract was 6,75 mg/20gBW.*

Keywords: red spinach leaves, ALP, INH

Abstrak

Isoniazid (INH) dimetabolisme menjadi hidrazin yang mengurangi glutation (GSH) di hepatosit, sehingga terjadi ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan serta bertambahnya radikal bebas yang menyebabkan meningkatnya enzim alkalin fosfatase (ALP). Ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.), mengandung antioksidan yang mendonorkan elektronnya sehingga dapat meredam reaktivitas radikal bebas. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun bayam merah terhadap kadar ALP serum mencit yang diinduksi INH dan dosis efektifnya. Penelitian dilakukan selama sepuluh hari menggunakan 28 mencit yang dibagi menjadi tujuh kelompok, yaitu K(N) diberikan normal salin peroral, K(-) diberikan INH 100 mg/kgBB/hari peroral, kelompok perlakuan K1, K2, K3, K4 dan K5 diberikan INH 100 mg/kgBB/hari peroral, selang 2 jam diberikan ekstrak etanol daun bayam merah dosis 1,05 mg/20gBB; 2,1 mg/20gBB; 4,2 mg/20gBB; 8,4 mg/20gBB; dan 16,8 mg/20gBB. Pengukuran ALP pada hari ke-11. Hasil penelitian didapatkan kadar rata-rata ALP K(N) sebesar 41,36 U/L, K(-) sebesar 110,97 U/L, K1 sebesar 79,26 U/L, K2 sebesar 71,34 U/L, K3 sebesar 66,51 U/L, K4 sebesar 62,82 U/L dan K5 sebesar 47,21 U/L. Pada penelitian ini ekstrak etanol daun bayam merah berpengaruh mencegah peningkatan kadar ALP mencit dan didapatkan dosis efektif sebesar 6,75 mg/20gBB.

Kata kunci: daun bayam merah, ALP, INH

Pendahuluan

Drug induced liver injury (DILI) atau hepatotoksik imbas obat merupakan komplikasi potensial pada beberapa obat yang diberikan [1]. Secara umum DILI dibagi menjadi dua yaitu intrinsik/ *dose-dependent* dan idiosinkrasi/ *dose-independent*. Obat yang tidak dapat diprediksi toksisitasnya karena tidak tergantung dosis disebut DILI idiosinkrasi, contohnya isoniazid (INH). Insiden DILI akibat INH kurang dari 200.000 resep per tahun bertanggung jawab untuk 50 kasus DILI per tahun [2]. Hepatotoksitas INH karena terbentuknya asetilhidrazin dan hidrazin oleh enzim N-asetiltransferase 2 dan amidase [3]. Hidrazin mengurangi jumlah glutathion (GSH) hepatosit menyebabkan radikal bebas bertambah banyak sehingga menyebabkan hepatotoksik [4]. Radikal bebas dapat mengaktifasi *Ca²⁺ dependent protein kinase isoform* (cPKCs) yang menyebabkan perubahan fungsi dan struktur yang berhubungan dengan pembentukan empedu seperti sitoskeleton, kanalikular transporter dan komponen *tight junctional* yang mengganggu sekresi bilier dan retensi lebih lanjut dari zat terlarut yang mendorong terbentuknya empedu. Hal ini menyebabkan kolestasis [5]. Target toksisitas INH adalah hepatosit dan endotel saluran empedu mengakibatkan terjadinya hepatitis dan kolestasis sehingga dapat meningkatkan kadar ALP [6].

Berkurangnya antioksidan alami dalam tubuh menyebabkan ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan, sehingga diperlukan antioksidan dari luar tubuh. Antioksidan dapat diperoleh dari bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) karena merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung polifenol, flavonoid, betalains, fenolik, anthocyanin, vitamin A, vitamin B6, vitamin C, klorofil, β -karoten dan riboflavin [7,8]. Oleh karena itu perlu diteliti pengaruhnya pada kadar ALP mencit yang diinduksi INH. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap kadar ALP pada mencit yang diinduksi INH dan dosis efektifnya.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian yaitu *post test only control group design*. Penelitian menggunakan sampel berjumlah 28 ekor mencit yang diambil dari populasinya dengan cara *simple random sampling*. Penelitian ini sudah mendapat persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada tanggal 12 Oktober 2016. Mencit yang digunakan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Pada penelitian ini dilakukan adaptasi selama tujuh hari dan perlakuan selama sepuluh hari. Mencit dikelompokkan menjadi tujuh kelompok sehingga tiap kelompok berjumlah empat ekor. Kelompok kontrol (K(N)) diberikan normal salin dan selang 2 jam diberikan tween 80 1%. Kelompok kontrol negatif (K(-)) diberikan INH 100 mg/kgBB/hari per oral, selang 2 jam diberikan tween 80 1%. Kelompok K1, K2, K3, K4 dan K5 diberikan INH 100 mg/kgBB/hari peroral, selang 2 jam diberikan ekstrak etanol daun bayam merah dosis 1,05 mg/20gBB, 2,1 mg/20gBB, 4,2 mg/20gBB, 8,4 mg/20gBB, dan 16,8 mg/20gBB secara oral.

Analisis data yang digunakan adalah uji *One Way Anova* untuk membandingkan kadar ALP mencit antar kelompok, uji *Post Hoc* yaitu *Least Significance Different* untuk mengetahui antar kelompok manakah yang kadar ALP berbeda, *software* yang digunakan dalam pengolahan data adalah IBM SPSS versi 21. Analisis probit untuk menentukan dosis efektif menggunakan *software* minitab versi 17.

Hasil Penelitian

Hasil penelitian rata-rata kadar ALP terlihat seperti tabel berikut.

Tabel 1. Rata-rata kadar ALP

Kelompok	ALP (U/L \pm SD)
K(N)	41,36 \pm 21,80
K(-)	110,97 \pm 35,53
K1	79,26 \pm 6,80
K2	71,34 \pm 18,16
K3	66,51 \pm 8,15
K4	62,82 \pm 2,36
K5	47,21 \pm 15,20

Berdasarkan uji normalitas *Shapiro Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ untuk semua kelompok. Uji homogenitas *Levene's test* menunjukkan nilai $p = 0,064$. Uji *One Way Anova*

menunjukkan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$), yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Uji ini kemudian dilanjutkan dengan uji LSD. Hasil uji LSD menunjukkan $p<0,05$ yang artinya terdapat perbedaan signifikan kadar ALP antar kelompok. K(N) berbeda signifikan dengan kelompok K(-), K1 dan K2. Kelompok K(-) berbeda signifikan dengan kelompok K1, K2, K3, K4 dan K5. Hasil analisis probit diketahui bahwa ED95 ekstrak etanol daun bayam merah sebesar 6,75.

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan rata-rata kadar ALP pada kelompok K(N) sebesar 41,36 U/L, sedangkan pada kelompok K(-) menjadi 110,97 U/L. Hasil uji LSD K(N) dan K(-) menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian INH dosis 100 mg/kgBB selama 10 hari dapat meningkatkan kadar ALP mencit secara signifikan. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa, induksi INH dosis 100 mg/kgBB per oral selama 10 hari dapat menimbulkan hepatotoksik [9].

Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung antioksidan tinggi. Pada penelitian ini, rata-rata ALP pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun bayam merah lebih rendah daripada K(-). Hasil uji LSD K(-) memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok K1, K2, K3, K4 dan K5. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol daun bayam merah sebesar 1,05 mg/20gBB, 2,1 mg/20gBB, 4,2 mg/20gBB, 8,4 mg/20gBB dan 16,8 mg/20gBB mampu mencegah peningkatan kadar ALP secara signifikan ($p<0,05$). Penurunan yang bermakna tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah memiliki kemampuan sebagai hepatoprotektor dari hepatotoksik akibat radikal bebas. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah mampu menurunkan kadar ALP pada tikus yang diinduksi CCl_4 , dengan hasil ALP 622.83 ± 15.43 dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi CCl_4 sebesar 748.16 ± 20.91 [10].

Data tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah dengan dosis di atas mampu mencegah peningkatan kadar ALP mencit yang diinduksi INH secara signifikan. Hal ini disebabkan komponen antioksidan ekstrak etanol daun bayam merah berupa polifenol (flavonoid), betalain, dan anthocyanin [7]. Bayam merah juga kaya akan

mineral seperti vitamin A, vitamin B6, vitamin C, klorofil, β -karoten dan riboflavin [8]. Cara kerja flavonoid, klorofil, vitamin C dan betalain sebagai antioksidan melalui donor elektron sehingga radikal bebas tidak mencari elektron pada atom lain dan rantai reaksi radikal bebas terputus. Berkurangnya radikal bebas karena antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bayam merah mampu mencegah hepatotoksik dan kolestasis sehingga mencegah peningkatan kadar ALP.

Rata-rata kadar ALP K(N) lebih rendah daripada K1 dan K2. Hasil uji LSD kadar ALP kelompok kontrol memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok K1 dan K2. Hal ini menunjukkan bahwa pencegahan peningkatan ALP ekstrak etanol daun bayam merah dosis 1,05 mg/20gBB dan 2,1 mg/20gBB belum optimal karena belum bisa mencapai kelompok K(N). Jumlah antioksidan mempengaruhi efektivitas pencegahan peningkatan kadar ALP [10].

Hasil uji LSD kadar ALP pada K(N) tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok K3, K4 dan K5. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan hepatoprotektor dosis ekstrak etanol daun bayam merah sebesar 4,2 mg/20gBB, 8,4 mg/20gBB dan 16,8 mg/20gBB mampu mencegah peningkatan kadar ALP serum mencit mendekati kadar ALP pada K(N). Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bayam merah dosis 500 mg/kgBB pada tikus (14 mg/20gBB pada mencit) dapat mencegah peningkatan ALP secara signifikan terhadap kelompok pemberian CCl_4 , sedangkan dosis 250 mg/kgBB pada tikus (7 mg/20gBB pada mencit) dapat menurunkan kadar ALP tapi tidak signifikan [10].

ED95 (*effective dose 95*) adalah dosis yang menimbulkan efek terapi pada 95% individu. Hasil uji analisis probit mengambil patokan interval kadar ALP pada K(N) didapatkan bahwa ED95 ekstrak etanol daun bayam merah sebesar 6,75 mg/20gBB (apabila dikonversikan untuk dosis manusia sebesar 38,556 mg/kgBB). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 6,75 mg/20gBB dapat mencegah peningkatan ALP pada 95% mencit pada penelitian ini dan ada 5% kegagalan pada dosis tersebut, sehingga dosis 6,75 mg/20gBB merupakan dosis efektif ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai hepatoprotektor mencit yang diinduksi INH.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak etanol daun bayam merah dalam mencegah peningkatan kadar ALP serum mencit yang diinduksi isoniazid dan dosis efektifnya sebesar 6,75 mg/20gBB.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak etanol daun bayam merah terhadap hepatotoksik akibat isoniazid dengan menilai kadar katalase dan GSH, bahan aktif yang terkandung dalam *Amaranthus tricolor* L., efektivitas ekstrak etanol daun bayam merah yang dikombinasikan dengan silymarin (hepatoprotektor yang sekarang digunakan).

Daftar Pustaka

- [1] Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Smiadibrata MK. Buku ajar ilmu penyakit dalam. 5th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2009.
- [2] Licata A. Adverse drug reaction and organ damage: the liver. Eur J Int Med. 2016 Jan 28; 28: 9-10.
- [3] Wang P, Prandhan K, Zhong X, Ma X. 2016. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. APSB. 2016 Jun 27.
- [4] Kumar S, Kumar R, Dwivedi A, Pandey AK. in vitro antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activity and in vivo effect of syngonium phodophyllum and eichornia crassipes leaf extract on isoniazid induce oxidative stress and hepatic marker. Hindawi. 2014 Aug 4; 1-11
- [5] Pal S, Ghatak S, Chowdhury A. Implications of oxidative stress in pathogenesis of cholestasis. Trop Gastroenterol. 2011; 11-22.
- [6] Tasduq SA, Kaiser P, Sharma SC, Johri RK. Potentiation of isoniazid-induced liver toxicity by rifampicin in a combinational therapy of antitubercular drugs (rifampisin, isoniazid, pyrazinamide) in wistar rat: a toxicity profile study. Hepatology. 2007 Mar 26; 37: 845-853.
- [7] Amornrit W, Santiyant R. Effect of amaranthus on advanced glycation end-products induced cytotoxicity and proinflammatory cytokine gene expression in SH-SY5Y cells. Molecule. 2015 Sep 18; 20: 17288-17308
- [8] Rajalaksmi K, Haribabu T, Sudha P. Toxicokinetic studies of antioxidant of *Amaranthus tricolor* and Marigold (*Calendula Oficenalis* L.) plants exposed to heavy metal lead. IJPAES. 2011; 1(2): 105-109.
- [9] Dong Y, Huang J, Lin X, Zhang S, Jiao Y, Liang T. Hepatoprotective effects of *Yulansan polysaccharide* against isoniazid and rifampicin-induced liver injury in mice. J Ethnopharmacol. 2014 Jan 8; 152: 201-206.
- [10] Al-Dosari M. The effectiveness of ethanolic extract of *Amaranthus tricolor* L. : a natural hepatoprotective agent. Am J Chin Med. 2010; 38(6): 1051-1064.