

KOMBUCHA BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L.*) BERPENGARUH TERHADAP AST DAN ALT MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN.

Zulfa Nadiroh, Rangga Pragasta, Dini Sri Damayanti*
*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Kombucha dari bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) memiliki kandungan flavonoid tinggi yang diketahui dapat berefek sebagai antioksidan, dan antiinflamasi. Asam organik pada kombucha dapat menstabilkan flavonoid sehingga bioavailabilitasnya meningkat. Namun terdapat beberapa penelitian yang menyebutkan bahwa kombucha memiliki efek toksik terhadap hepar. Oleh sebab itu penelitian tentang pengaruh kombucha bunga telang terhadap kadar *Aspartate Amino Transferase* (AST) dan *Alanine Amino Transferase* (ALT) perlu dilakukan.

Metode: Penelitian *post-test only control group design* dengan hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan, yang dibagi dengan 4 kelompok yakni kelompok normal (KN, n=6), kelompok perlakuan 1 (K1, n=6), kelompok perlakuan 2 (K2, n=6), kelompok perlakuan 3 (K3, n=6). Kelompok KN disonde dengan 1 cc aquadest, K1 dengan 1cc kombucha bunga telang dosis 25%, K2 dengan 1cc kombucha bunga telang dosis 50%, dan K3 dengan 1cc kombucha bunga telang dosis 100%. Kadar AST diukur dengan metode *oxaloacetate colorimetric* dan kadar ALT diukur dengan metode *pyruvate colorimetric* spektrofotometer. Data dianalisa dengan $p < 0.05$ dianggap signifikan.

Hasil: Kadar AST kelompok KN, K1, K2, K3 secara berurutan 123.00 ± 24.38 , 125.83 ± 28.37 , 161.50 ± 31.27 , 92.50 ± 22.03 ($p = 0,003$). Pada kadar ALT kelompok KN, K1, K2, K3 secara berurutan 45.16 ± 13.18 , 41.16 ± 12.60 , 67.16 ± 26.14 , 41.66 ± 22.97 ($p = 0,100$). Hasil uji LSD menunjukkan perbedaan signifikan antara KN dan K2 ($p=0,022$) serta K1 dan K2 ($p=0,032$) pada kadar AST mencit. Hal ini diduga karena adanya kerusakan jaringan selain hepar pada mencit sebelum dilakukan penelitian.

Kesimpulan: Pemberian kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) pada dosis 50% selama 28 hari dapat meningkatkan kadar AST, namun tidak pada kadar ALT mencit jantan kondisi normal.

Kata Kunci: Kombucha, Bunga telang, *Clitoria ternatea*, serum AST, serum ALT

*Korespondensi:

Dr.dr. Dini Sri Damayanti, M.Kes (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

KOMBUCHA OF BUTTERFLY PEA FLOWER (*Clitoria ternatea L.*) EFFECTS ON AST AND ALT SERUM LEVELS OF MALE MICE (*Mus musculus*).

Zulfa Nadiroh, Rangga Pragasta SS, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang.

ABSTRACT

Introduction: kombucha from butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea L.*) has a high flavonoid content which is known to have antioxidant and anti-inflammatory effects. The organic acids in kombucha can stabilize flavonoids so that their bioavailability increases. However, there are several studies that say that kombucha has toxic effects on the liver. Therefore, research on the effect of butterfly pea flower kombucha on *Aspartate Amino Transferase* (AST) and *Alanine Amino Transferase* (ALT) levels needs to be carried out.

Method: Post-test only control group design study with male mice (*Mus musculus*) animals, which were divided into 4 groups, namely normal group (KN, n=6), treatment group 1 (K1, n=6), treatment group 2 (K2, n=6), treatment group 3 (K3, n=6). Group KN was treated with 1 cc of distilled water, K1 with 1cc of butterfly pea flower kombucha at a dose of 25%, K2 with 1 cc of butterfly pea flower kombucha at a dose of 50%, and K3 with 1cc of butterfly pea flower kombucha at a dose of 100%. AST levels were measured using the oxaloacetate colorimetric method and ALT levels were measured using the pyruvate colorimetric spectrophotometer method. Data were analyzed with $p < 0.05$ considered significant.

Results: AST levels in groups KN, K1, K2, K3 were respectively 123.00 ± 24.38 , 125.83 ± 28.37 , 161.50 ± 31.27 , 92.50 ± 22.03 ($p = 0.003$). The ALT levels in the KN, K1, K2, K3 groups were respectively 45.16 ± 13.18 , 41.16 ± 12.60 , 67.16 ± 26.14 , 41.66 ± 22.97 ($p = 0.100$). The results of the LSD test showed significant differences between KN and K2 ($p=0.022$) and K1 and K2 ($p=0.032$) in the AST levels of mice. This is thought to be caused by the telang flower kombucha content, namely organic acids and flavonoids.

Conclusion: Giving telang flower kombucha (*Clitoria ternatea L.*) at a dose of 50% for 28 days can increase AST levels, but not ALT in normal male mice.

Keywords: Kombucha, butterfly pea flower, *Clitoria ternatea*, AST serum, ALT serum

*Correspondence:

Dr. dr. Dini Sri Damayanti, M. Kes (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65145

PENDAHULUAN:

Pada saat ini konsumsi minuman herbal di Indonesia meningkat sebanyak 95,60% dan berdasarkan persentase tersebut 83,23% sampai 96,66% penduduk memperoleh manfaat dari konsumsi minuman herbal menurut laporan RISKESDAS¹. Salah satu produk minuman herbal yang memiliki manfaat fungsional yakni kombucha.

Kombucha merupakan salah satu minuman yang terdiri dari produk probiotik dan terbuat dari teh yang difermentasi menggunakan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*)². Manfaat proses fermentasi kombucha diantaranya sebagai sumber antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan juga berperan penting dalam memperbaiki mikroflora usus, dan antikanker³. Kombucha mengandung asam asetat, asam glukonat, asam glukoronat, etanol, glukosa, fruktosa, sukrosa, vitamin, dan mineral^{4,5}. Umumnya kombucha dibuat dengan menggunakan substrat tanaman yang memiliki kandungan fenolik yang tinggi sehingga memiliki aktivitas antioksidan⁶.

Indonesia merupakan negara dengan keberanekaragaman sumber daya hayati, yang memiliki berbagai khasiat untuk kesehatan seperti bunga telang. Bunga telang (*Clitoria ternatea L*) yaitu tanaman dengan kandungan flavonoid, alkaloid, antosianin, flavonol, tannin, tokoferol, saponin dan memiliki berbagai manfaat sebagai antioksidan, antikolesterol, dan antiinflamasi⁷. Antosianin yang terkandung dalam bunga telang akan jauh lebih stabil jika difermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) yang salah satunya terdapat pada kombucha⁸.

Kombucha terbukti memiliki efek antioksidan dengan efek proteksi pada hepar dengan menurunkan kadar AST dan ALT pada hewan coba yang diinduksi dengan karbon tetraklorida¹². Disamping memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan, kombucha diketahui memiliki efek toksik sehingga menyebabkan reaksi alergi, gagal ginjal akut, asidosis laktat, dan menginduksi kerusakan pada hepar⁹. Insiden kerusakan hepar akut di Amerika Serikat mencapai 2000 kasus dimana lebih dari 50% kasus disebabkan oleh intoksikasi acetaminophen (39%), dan akibat reaksi idiosinkratik obat (13%)¹⁰. Deteksi kerusakan hepar dapat dilihat dengan adanya peningkatan AST dan ALT serum sebagai indikator gangguan fungsi hepar. AST dan ALT serum akan tereksresi di dalam darah apabila terjadi kerusakan sel hepatosit terutama pada kondisi nekrosis sel¹¹. Namun penelitian kombucha bunga telang terhadap kadar AST ALT pada mencit belum didapatkan, sehingga penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombucha bunga telang terhadap hepar pada mencit normal dengan indikator enzim AST dan ALT serum sehingga minuman kombucha bunga telang (KBT) dapat dikonsumsi sebagai produk nutrasetikal yang bersifat mendukung kesehatan, dan pencegahan penyakit oleh masyarakat.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat Penelitian

Penelitian ini menggunakan eksperimen laboratorium secara *in vivo* metode *Post test control only group*. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Agustus – September 2023, bertempat di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB) Malang, dan Laboratorium Patologi Klinik (PK) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB) Malang. Penelitian telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dengan No. 069/L.E.003/VI/01/2023.

Pembuatan Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Pembuatan kombucha dilakukan dengan alat yang higienis dan tempat yang steril. Simplisia bunga telang siap pakai diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materi Medika Batu dengan Nomor surat 067/1097/102.20/2023. Pembuatan kombucha bunga telang dilakukan dengan merebus air dan simplisia bunga telang sebanyak 12 g hingga mendidih, setelah mendidih 150 g gula dimasukkan kedalam air dan diaduk selama 15 menit secara merata lalu disaring. Air bunga telang yang telah dingin dimasukkan kedalam jar kaca steril dan ditambahkan 5 g gel scoby dan 83 gr scoby cair, jar ditutup menggunakan kain steril serta diikat dengan karet. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang dan dihindarkan dari paparan sinar matahari secara langsung¹³. Pada hari ke 10 dilakukan pengecekan kadar pH pada kombucha, dan didapatkan pH sebesar 3,55.

Dosis diberikan sebanyak 1cc pada setiap perlakuan, dengan konsentrasi K1 terdiri dari 25 % kombucha bunga telang dan 75% aquadest, K2 terdiri dari 50 % kombucha bunga telang dan 50% aquadest, sedangkan K3 terdiri dari 100% kombucha bunga telang.

Pemberian Kombucha Bunga Telang pada Hewan Coba.

Setelah aklimatisasi di *Animal House* FK UB selama 2 minggu, mencit di randomisasi menjadi 4 kelompok seperti pada tabel 1 yang diberikan perlakuan peronde lambung selama 28 hari.

Tabel 1. Perlakuan hewan coba.

Kelompok	Aquades (ml)	KBT (ml)	n
KN	1	0	
K1	0,75	0,25	6
K2	0,5	0,5	
K3	0	1	

Keterangan: Pada tabel 3 menunjukkan aquadest dan kombucha bunga telang (KBT) dalam satuan mililiter (ml), dan n menunjukkan jumlah mencit pada setiap kelompok.

Pengorbanan Hewan Coba.

Pada hari ke 28 mencit dipuaskan selama 7 jam dan dianestesi dengan ketamin 1 mg/KgBB secara intra muskular (IM). Mencit difiksasi pada papan operasi dan dibedah secara vertikal dari abdomen ke torak,

Pengambilan Sampel Serum.

Darah diambil dari jantung sebanyak 1 cc dengan spuit dan dimasukkan kedalam tabung *specimen non-EDTA*, darah kemudian disentrifugasi untuk memisahkan plasma dan serum, serum yang didapatkan diambil menggunakan pipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi untuk dilakukan pemeriksaan kadar AST ALT.

Pemeriksaan AST dan ALT.

Pemeriksaan kadar AST menggunakan kit *AST Biosystem reagents and instruments*¹⁴. Pada pemeriksaan AST reagen 1 terdiri dari Tris, L-aspartic, malate dehydrogenase (MDH), lactate dehydrogenase (LDH), dan reagen 2 terdiri dari 2-oxoglutarate, NADH sedangkan pada ALT reagen 1 terdiri dari Tris, L-alanine, dan laktat dehydrogenase (LDH) pada reagen 2 terdiri dari 2-oxoglutarate, NADH¹⁵.

Sampel darah disentrifugasi selama 10-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Serum 100 μ L diambil dan direaksikan dengan *working reagent* 1 ml (perbandingan *buffer* substrat 4:1) lalu dipindahkan kedalam spektrofotometri untuk dibaca nilai absorbansinya. Hasil kadar AST dan ALT akan didapatkan dalam satuan U/L.¹⁶

Teknik Analisa Data.

Data dinyatakan dalam bentuk rerata \pm SD. Data kadar AST ALT serum yang telah terdistribusi homogen dan normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan melakukan uji komparasi parametrik *One Way ANOVA*, dan kemudian dilanjutkan uji Post -Hoc LSD dengan signifikansi $< 0,05$. Data diolah menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 25.

Tabel 2. Karakteristik Penelitian.

	Kelompok				p-value
	Normal (KN)	Kombucha 25% (K1)	Kombucha 50% (K2)	Kombucha 100% (K3)	
Induksi	0% kombucha 1 cc	25% kombucha 1 cc	50% kombucha 1 cc	100% kombucha 1 cc	
BB Sebelum perlakuan (g)	22 \pm 1.04	22,9 \pm 1.19	22,5 \pm 1.09	24,1 \pm 1.08	0,100
BB Setelah perlakuan (g)	26,6 \pm 1.81	26,5 \pm 1.85	23,4 \pm 1.85	28 \pm 1.42	0,073

Keterangan: Tabel 2 menunjukan rata-rata dalam bentuk \pm sd, sampel yang digunakan pada penelitian adalah hewan coba berupa mencit jantan. Kelompok terbagi menjadi KN, K1, K2, K3, seluruh kelompok diinduksi selama 28 hari. Variabel yang diukur yaitu AST serum dan ALT serum yang diambil dari darah jantung mencit.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel Penelitian.

Pada penelitian ini menggunakan mencit yang berumur 4-6 minggu dengan bobot badan 20-25 gr sebagai hewan coba yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan masing masing kelompok berisi 6 ekor. Populasi hasil dari pengukuran berat badan awal dan akhir pada **tabel 2**. Mencit diberi pencahayaan selama 12 jam, dengan suhu ruangan 18- 26°C, serta sirkulasi udara yang baik dan aman dari bahaya. Mencit diberi jenis pakan PARS 15% dari berat badan mencit.

Hasil Kadar Serum AST Mencit Selama Pemberian Minuman Fermentasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L).

Rerata kadar AST serum pada mencit kelompok kontrol (KN) dan perlakuan (K1, K2, dan K3) yang diberi kombucha bunga telang dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Nilai Rata-Rata Kadar AST Serum Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Disonde Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea*).

	Kelompok	n	AST (U/L)	p value
1	KN	6	123.00 \pm 24.38	
2	K1	6	125.83 \pm 28.37	0,003
3	K2 ^a	6	161.50 \pm 31.27	
4	K3 ^b	6	92.50 \pm 22.03	

Keterangan: Tabel 3 menunjukkan data dalam rata-rata standar deviasi (SD), dengan n adalah jumlah mencit dalam 1 kelompok, dan hasil $K2 > KN$ ($p < 0,22$), dan dilakukan menggunakan uji statistik *posthoc* LSD.

Secara statistik K2 menunjukkan kadar AST tertinggi (161.50 \pm 31.27) dan terendah pada K3 (92.50 \pm 22.03). Pada hasil *One Way Anova* pemberian KBT KN dan kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p = 0,003$). Hasil Analisa LSD didapatkan KN tidak berbeda signifikan dengan K1 ($p < 0,856$) dan K3 ($p < 0,062$) serta didapatkan perbedaan signifikan antara KN dan K2 ($p > 0,022$) serta K2 terhadap K3 ($p > 0,00$).

Tabel 4. Nilai Rata-Rata Kadar ALT Serum Mencit Jantan yang Disonde Kombucha Bunga Telang.

	Kelompok	n	Mean±sd	Kolmogorov tes	p(Homogenitas)	p value
1	KN	6	45.16 ± 13.18	0,425		
2	K1	6	41.16 ± 12.60	0,110	0,317	0,100
3	K2	6	67.16 ± 26.14	0,980		
4	K3	6	41.66 ± 22.97	0,193		

Keterangan: Tabel 4 menunjukkan data dalam rata-rata ± standar deviasi (SD), signifikansi ditunjukkan dari uji Kolmogorov, dan p homogenitas dari pengujian kadar ALT serum mencit (*Mus musculus*) dalam satuan (U/L) yang diinduksi kombucha bunga telang.

Rerata kadar SGPT tertinggi terdapat pada kelompok 2, namun secara data statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,100$) antara kelompok normal dengan kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji analisa data statistik One Way Anova, didapatkan nilai kadar SGPT tertinggi pada K2 (67.16 ± 26.14 U/L). Nilai ini lebih tinggi dari kadar SGPT KN (45.16 U/L ± 13.18 U/L). Nilai kadar SGPT pada KN, K1, K2, dan K3 masih tergolong normal, meskipun didapatkan sedikit peningkatan pada kelompok perlakuan 50%.

Berdasarkan hasil kesimpulan diatas, pemberian kombucha bunga telang dosis 25%, 50% dan 100% tidak memiliki pengaruh signifikan terhadap kadar SGPT mencit *Mus musculus* jantan jika dibandingkan dengan KN ($p = 0.100$).

PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*) Terhadap Kadar AST pada Mencit Jantan.

Berdasarkan hasil analisa data *One Way Anova* terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian kombucha bunga telang kadar AST kelompok K2 ($p=0,003$). Pasa hasil analisa LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan anatara K2 dan KN (0,022). AST didapatkan meningkat pada kombucha bunga telang dosis 50% dibanding dengan kelompok KN, hal ini diduga disebabkan pada K2 kandungan antioksidan belum optimal, sehingga dapat meningkatkan kadar AST.

AST merupakan enzim yang dapat ditemukan di paru-paru, otot jantung, ginjal eritosit, otot rangka, pankreas, tulang dan otak dan AST terletak di sitoplasma dan mitokondria. Kadar normal AST pada mencit berkisar 30-314 U/L^{17,18}. Enzim AST akan meningkat dalam sirkulasi perifer, apabila terjadi infeksi atau nekrosis pada suatu jaringan, namun dianggap kurang spesifik terhadap kerusakan hepar¹⁹.

Pada penelitian ini kadar AST cenderung meningkat pada kelompok kontrol diduga disebabkan adanya beberapa faktor yang dapat meningkatkan kadar AST pada mencit meskipun dalam batas normal. Dalam kondisi normal, proses kerusakan sel hepatosit dapat terjadi, hal ini diduga disebabkan adanya beberapa faktor yang diantaranya diakibatkan oleh berat badan, faktor genetik, dan infeksi atau kondisi pemeliharaan mencit sebelum dilakukannya penelitian.

Kandungan kombucha bunga telang terdiri dari tannin, serta banyak senyawa fenol dan flavonoid (*Unpublished data*)²⁰. Senyawa flavonoid yang merupakan turunan dari polifenol diketahui memiliki sifat sebagai antioksidan maupun prooksidan, bergantung pada strukturnya, semakin banyak gugus OH bebas maka aktivitas prooksidannya juga akan semakin kuat.

Sebagian kecil senyawa ini berikatan dengan sel target untuk memberikan efek, namun sebagian besar akan melalui sirkulasi enterohepatika dan akan mengalami metabolisme xenobiotik di retikulo endoplasma (RE) halus hepar. Senyawa flavonoid di hepar akan mengalami reaksi hidroksilasi pada fase I metabolisme xenobiotik dengan menggunakan enzim sitokrom P450 (transkripsi DNA gen CYP3A4)²¹. Reaksi ini melibatkan oksigen dan NADPH sebagai kofaktor, sehingga akan terjadi peningkatan substrat hasil oksidatif. Hasil metabolit menghasilkan radikal bebas (ROS) seperti superoxide (O_2^-), hidroksil (OH^-), atau hydrogen peroksida (H_2O_2) dalam darah. Penumpukan ROS di hepar yang tidak diimbangi dengan antioksidan yang cukup menyebabkan membran sel yang terdiri dari *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) mengalami peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid menyebabkan sel kehilangan polaritas membran mitokondria, membuat permeabilitas sel meningkat, menurunkan fluiditas membran sel, dan menyebabkan inaktivasi protein membran. Akibat dari semua itu kadar kalsium intrasel atau di sitosol meningkat. Peningkatan kalsium terjadi akibat menurunkan aktivitas Na-K-ATPase yang menyebabkan Kalium (K) ekstrasel meningkat dan klorida (Cl) masuk ke dalam sel serta menghambat kanal $3 Na^+/Ca_2^+$ dan menyebabkan pembengkakan sel. Peningkatan Ca_2^+ dalam sitosol akan menyebabkan masuknya Ca ke mitokondria sehingga menimbulkan gangguan aktivitas mitokondria^{22,23}.

Dari hasil uraian diatas, kombucha bunga telang dosis K2 aktivitas antioksidan belum optimal sehingga terjadi penumpukan ROS yang diduga terjadi karena kerusakan pada hepar yang sudah diderita mencit sebelumnya sehingga terjadi peningkatan kadar AST. Selain itu kadar AST bukan merupakan pengukuran yang spesifik untuk kerusakan hepar karena enzim AST juga berada di sel otot rangka, jantung, dan ginjal, sehingga peningkatan kadar AST juga dapat diduga berasal dari jaringan tersebut selama penelitian, misalnya dikarenakan perkelahian antar tikus yang menyebabkan trauma pada otot skeletal atau karena

adanya penyakit dan kelainan pada ginjal/jantung pada mencit sebelumnya²⁴.

Pengaruh Pemberian Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea L*) Terhadap Kadar ALT pada Mencit Jantan.

ALT merupakan enzim intraselular yang lebih spesifik untuk pemeriksaan biokimia kerusakan sel hepar. Enzim ALT digunakan untuk mengkatalisis reaksi antara alanine menjadi piruvat, dimana piruvat bersama dengan NADH diubah menjadi laktat, dan reaksi ini bersifat *reversible*. Rata-rata kadar ALT normal pada mencit berkisar 76-208 U/L, dan terjadinya peningkatan pada kadar ALT dapat menunjukkan adanya kerusakan pada sel hepar.

ALT merupakan enzim yang terdapat di sitoplasma dan jumlahnya banyak terdapat pada hepar serta sedikit keberadaannya pada jantung, ginjal, dan otot rangka. Sehingga terjadinya kerusakan membran sel hepar yang di dalamnya terdapat sitoplasma sel, dapat mengakibatkan peningkatan kadar ALT¹⁷.

Pada hasil analisa data perlakuan kombucha bunga telang terhadap kadar ALT tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok normal dan kelompok perlakuan semua dosis, hal ini diduga senyawa flavonoid yang terkandung pada kombucha bunga telang diperkirakan memiliki aktivitas sebagai antioksidan *scavenger* radikal bebas, dengan mendonorkan 1 elektron bebas sehingga menghasilkan molekul yang lebih stabil, atau dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivitas *nuclear factor erythroid-2 related factor (Nrf-2)*^{25,26}. Kandungan pada kombucha seperti asam organik yang terbentuk dari hasil konversi senyawa etanol oleh bakteri asam asetat menyebabkan nilai pH pada kombucha rendah sehingga senyawa flavonoid menjadi lebih stabil²⁷.

Peran Karakteristik Populasi pada Hasil Penelitian.

Pada penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang berjenis kelamin jantan, karena mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormonal sebagaimana mencit betina, selain itu mencit jantan hanya memiliki sedikit hormon estrogen serta kondisi hormonal yang lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina, karena pada mencit betina terdapat perubahan kondisi hormonal pada masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Selain itu tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu pada saat pengujian²⁸. Mencit yang dapat dijadikan subjek penelitian adalah mencit yang sehat, mencit dikatakan sehat apabila memiliki ciri-ciri, seperti warna bulu putih bersih dan tidak berdiri, mata jernih bersinar²⁹.

penelitian dihitung menggunakan rumus Federer dengan hasil perhitungan pada setiap kelompok

terdiri dari 6 ekor mencit. Dalam etika penelitian ini memiliki prinsip kesejahteraan hewan yaitu 3R berupa *replacement, reduction dan refinement*. *Replacement* fokus pada penggantian penggunaan hewan penelitian dan mempertimbangkan penggunaan hewan yang dalam hierarki lebih rendah. *Reduction*, mengurangi jumlah hewan yang digunakan untuk penelitian dengan ketetapan menghasilkan data yang relevan. Hal ini dilakukan untuk meminimalisir penderitaan dan jumlah hewan uji. *Refinement*, upaya untuk memodifikasi pemeliharaan dan prosedur penelitian untuk kesejahteraan hewan meningkat serta rasa stress pada hewan coba dikurangi³⁰.

Penelitian ini dilakukan menggunakan mencit jantan berusia 4 sampai 6 minggu dengan berat badan 20-25 g. Pemilihan usia tersebut dilakukan karena mencit belum dalam masa perkawinan. Mencit dapat dikawinkan pada usia dewasa yaitu usia 8 minggu³¹.

Kombucha bunga telang pada penelitian ini terdiri dari dosis konsentrasi kombucha bunga telang 25%, 50% dan 100% sebanyak 1 cc sebagai trial dose karena pada penelitian sebelumnya mengenai KTB belum ditemukan fixed dose. Menurut pedoman uji farmakodinamik praklinik obat tradisional menyebutkan bahwa mencit memiliki kapasitas lambung sebanyak 1 cc, sehingga volume maksimal pemberian pada mencit yaitu sebanyak 1 cc baik diberikan secara per oral atau per sonde, sehingga dosis yang di berikan pada kelompok perlakuan mencit dilarutkan terlebih dahulu menggunakan aquades hingga mencapai 1cc, serta pada kelompok normal (KN) juga diberikan aquades 1cc agar tidak ada bias pada penelitian³².

Penetapan perlakuan subkronik terhadap kombucha bunga telang dilakukan guna mengetahui tingkat keamanan kombucha bunga telang jika digunakan pada waktu lama dan berulang dengan berpedoman pada BPOM. Pengujian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang keamanan pemberian berulang kombucha bunga telang setiap hari selama periode tertentu (28 hari)³³.

Pada Perhimpunan Bangsa-Bangsa Asia seperti Malaysia dan Indonesia. Menurut MUI kadar etanol yang aman untuk dikonsumsi sebanyak 0,5% atau kurang dari kadar tersebut untuk mengurangi efek yang lebih berbahaya³⁴, sehingga penelitian selanjutnya dapat dilakukan untuk mengetahui kandungan kadar etanol dalam kombucha.

Kelebihan dan Kelemahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan mencit jantan sebagai hewan coba karena mencit memiliki metabolisme tubuh hampir mirip dengan manusia, serta manajemen kandang lebih efisien karena membutuhkan ruang yang lebih kecil, selain itu mencit jantan tidak memiliki siklus reproduksi sehingga mengurangi resiko perubahan hormonal yang terkait dengan siklus reproduksi

Kelemahan penelitian ini kurangnya variabel penelitian terutama pada organ hepar,

sehingga tidak didapatkan gambaran histologi organ hepar pada penelitian ini, serta tidak mengetahui apakah kandungan senyawa etanol yang terdapat pada kombucha bunga telang aman untuk di konsumsi.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil analisa data yang telah didapatkan serta pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dosis 50% sebanyak 1cc selama 28 hari meningkatkan kadar SGOT serum mencit (*Mus musculus*) jantan.
2. Pemberian kombucha bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan dosis 50% sebanyak 1cc selama 28 hari meningkatkan kadar SGPT serum mencit (*Mus musculus*) jantan namun tidak signifikan, dan peningkatan masih dalam batas normal.

SARAN

Saran yang dapat diberikan pada pengembangan penelitian ini, yaitu:

1. Melakukan penelitian untuk menghitung kadar etanol pada kombucha.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek kadar etanol pada kombucha bunga telang.
3. Melakukan penelitian serupa dengan mengamati perubahan histologi organ pada hepar.
4. Melakukan penelitian serupa dengan mengamati histologi organ lain yang menyebabkan peningkatan pada AST, seperti histologi organ ginjal, jantung, dan sel otot.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan dana penelitian serta dr. Rahma Triliana, M. Kes, Ph.D sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. RISKESDAS. Riset Kesehatan Dasar 9]] (RISKESDAS). Lap Nas. 2013;1–384. (2013).
2. Wijaya, H., Muin, R. & Permata, E. Karakteristik Fisik Produk Fermentasi Kombucha dari Berbagai Daun Berflavanoid Tinggi. *J. Tek. Kim.* 23, 255–262 (2017).
3. Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y. & Choo, W. S. Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *J. Food Sci. Technol.* 58, 2054–2067 (2021)
4. Laavanya, D., Shirkole, S. & Balasubramanian, P. Current challenges,

- applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *J. Clean. Prod.* 295, 126454 (2021).
5. Marpaung, A. M. Tinjauan manfaat bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) bagi kesehatan manusia. *J. Funct. Food Nutraceutical* 1, 63–85 (2020).
 6. Purwanto, U. M. S., Aprilia, K. & Sulistiyani. Antioxidant Activity of Telang (*Clitoria ternatea L.*) Extract in Inhibiting Lipid Peroxidation. *Curr. Biochem.* 9, 26–37 (2022)
 7. Purba, E. C. Kembang telang (*Clitoria ternatea L.*): pemanfaatan dan bioaktivitas. *EduMatSains* 4, 111–124 (2020).
 8. Amal, S. (2022). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) Pada Mencit Betina Dengan Metode Fified Dose. *Journal of Pharmacopolium*, 5(2), 190–198.
 9. Sannapaneni S, Philip S, Desai A, Mitchell J, Feldman M. Kombucha-Induced Massive Hepatic Necrosis: A Case Report and a Review of Literature. *Gastro Hep.* 2(2):196–8. Metha, N. Drug Induced Hepatotoxicity. Artikel e-medicine. *Medscape*(2016).
 10. Lee, TH, Kim WR, Petherucha JJ. Evaluation of Elevated Liver Enzymes. *Clinics in Liver Disease*, 16(2); 183-198. Elsevier (2012).
 11. Murugesan, G. S., Sathishkumar, M., Jayabalan, R., Binupriya, A. R., Swaminathan, K., & Yun, S. E. Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against Carbon tetrachloride-induced toxicity. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 397–402 (2009).
 12. Permatasari, H. K., Nurkolis, F., Gunawan, W. Ben, Yusuf, V. M., Yusuf, M., Kusuma, R. J. *et al.* Modulation of gut microbiota and markers of metabolic syndrome in mice on cholesterol and fat enriched diet by butterfly pea flower kombucha. *Current Research in Food Science*, 5, 1251–1265 (2022).
 13. Sari, E. D., Falyani, S. A., & Damayanti, D. S. Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Kadar ASTC dan ALT Serum Serta Jumlah Nekrosis Sel Hepar Tikus Model Hiperlipidemia. *Jurnal Kedokteran Komunitas*,1(1), 1–10. (2019).
 14. Kunsah, B., & Samsudin, R. R. Aktivitas Antioksidan Kulit Jeruk Pacitan (*Citrus sinensis L.*) Terhadap Kadar AST dan ALT *Rattus norvegicus* Dengan Paparan Logam Berat Timbal (Pb). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(3), 357. (2022).
 15. Ramadhani MR, Bachri MS, Widyaningsih

- W. Effects of Ethanolic Extract of Arrowroot Tubers (Maranta Arundinacea L.) on the Level of Mda, Sgpt and Sgot in Ethanol Induced Rats. *J Kedokt dan Kesehat Indones.* 8(1):10–8. (2017).
16. Prahastuti, S., Ladi, J. E., Dewi, K., Albertina, F., & Imam, M. K. The Effect of Bee Pollen on AST, ALT Levels and Liver Histopathological Images of Male Rats Wistar Induced by High Fat Diet. *Journal of Medicine and Health*, 2(5), 51–60. (2020)..
 17. Peanasari, A. Pengaruh Formalin Peroral Terhadap Kadar AST dan ALT Tikus Wistar. *J. Kedokt. Muhammadiyah* 2, 34–38 (2015).
 18. Rosida, A. ‘Pemeriksaan laboratorium penyakit hati’, *Berkala Kedokteran*, 12; pp. 123–13. (2016).
 19. Damayanti, D. S., & Bintari, Y. R. Probiotic And Antioxidant Potential Of 3 Types Of Kombucha Soursop Leaves (*Annona Muricata*), Butterfly Pea Flowers (*Clitoridea Ternateae*) And Combination of Both. (*Unpublish*) . 2024
 20. Rodwell, V.W.;Bender, D.A.;Botham, K.M.;Kennelly, P.J.;Weil, P.A. Harper’s Illustrated Biochemistry 30th ed. New York:McGraw-Hill Education. (2015).
 21. Mittal, M, Mohammad, R.S., Khiem, T.,Sekhar, P.R, Ashror, B.M. *Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissues Injury*. Antioxidant and Redox Signaling, 20 (7). 1126-1151. Marry Ann Liebert, Inc. 37. (2014).
 22. Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. Robbins Basic Pathology 9th ed., Philadelphia:Elsevier. (2015).
 23. Wijayanti R, Rosyid A. Efek Antipiretik Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium sativum, L*) dan Pengaruhnya Terhadap Kadar AST dan ALT Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Vaksin Dtp-Hb-Hib. *Cendekia J Pharm.* 2(1):39–49. (2018).
 24. Kombinasi Minyak Ramidengan Minyak Wijen Terhadap Kadar ALT Sprague Dawley Dislipidemia. *J. Nutr. Coll.* 5, 504 (2016).
 25. Nimse, SB dan Dilipkumar P. Free Radicals, Natural Antioxidants, and their Reaction Mechanisms. *Journal The Royal Society of Chemistry.* pp. 1-21. (2015).
 26. Sari, H. K., Budiragharjo, R. & Sulistiyani, E. Kadar serum glutamat piruvat transaminase (ALT) pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dipapar stresor rasa sakit berupa electrical foot shock selama 28 Hari. *e-Jurnal Pustaka Kesehat.* 3, 205–211 (2015)
 27. Yusuf, M. et al. Teknik Manajemen dan pengelolaan Hewan Percobaan. Jurusan Biologi FMIPA Prgram Studi Biologi (jurusan Biologi FMIPA Prgram Studi Biologi, 2022).
 28. Toemon, A. N., Carmelita, A. B., Widiarti, A. & Mutiasari, D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Buah Masisin (*Rhodomyrtus tomentosa* Wight) terhadap Frekuensi, Konsistensi, dan Durasi Diare pada Hewan Coba Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Oleum Ricini. *J. Surya Med.* 5, 22–40 (2019).
 29. MacArthur Clark, J. The 3Rs in research: A contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *Br. J. Nutr.* 120, S1–S7 (2018)
 30. Muliani, H. Pertumbuhan Mencit (*Mus Musculus L.*) Setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*). *Buku Anat. dan Fisiol.* XIX, 44–54 (2011).
 31. Amal, S. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) Pada Mencit Betina Dengan Metode Fifed Dose. *J. Pharmacopolium* 5, 190–198 (2022).
 32. Dewi, S., Astuti, K. I. & Rusida, E. R. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria Ternatea L.*) Terhadap Tikus Betina Galur Wistar Dengan Metode OECD 425. *J. Ilm. Farm. Farmasyifa* 6, 60–66 (2023).
 33. Nurpalah R, Kusmiati M, Saproh J. Gambaran Kadarr ALT Pada Obesitas Sentral. S. ISBN: 97-602-72636-3-5 (2018).
 34. Sapitri, M., Ramallah, I., Muzaifa, M., Abubakar, Y. & Ifan, S. Ulasan pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol Kombucha. *Pengabd. Teknol. Has. Pertan.* 2, 76–80 (2022)

