

POTENSI ANTIOKSIDAN KOMBUCHA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA HEPAR TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK

Bagas Arioseto¹, Dini Sri Damayanti^{2*}, Silvy Amalia Falyani³

Universitas Islam Malang

¹. Prodi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, UNISMA, Malang, Indonesia.

Email: ariosetobagas@gmail.com

². Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, UNISMA, Malang, Indonesia.

*Korespondensi :Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

³. Departemen Paru, Fakultas Kedokteran, UNISMA, Malang, Indonesia.

Email: silvyamaliafalyani@unisma.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: Parasetamol adalah salah satu obat yang sering digunakan masyarakat. Namun, saat dikonsumsi berlebih dapat mengakibatkan hepatotoksik. Toksisitas disebabkan karena ketidakseimbangan stres oksidatif dan antioksidan. Antioksidan dapat diperoleh dari herbal daun sirsak yang mengandung fenol serta produk minuman kombucha yang mengaktifkan senyawa fenol. Tujuan penelitian membuktikan potensi Kombucha Daun Sirsak (KDS) pada hepar tikus Wistar jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik melalui kadar SOD dan MDA.

Metode: Penelitian berjenis laboratorium eksperimental dengan desain control group posttest only. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus jantan strain Wistar berumur 2-3 bulan dan berat 150-200 gram dibagi dalam 5 kelompok yang tiap kelompok berisi 5 ekor. Kelompok Negatif (KN) diinduksi aquades (2ml/hari), Kelompok Positif (KP) diinduksi parasetamol dosis toksik (2,5g/kgBB/hari) yang diberikan pada hari ke-8 sampai ke-14 serta KDS diinduksi selama 14 hari pada P1(0,5mL/hari), P2(1mL/hari), dan P3(1,5mL/hari). Semua induksi diberikan per sonde oral. Kadar SOD serta MDA dari hepar dianalisa melalui ANOVA serta Kruskal Wallis pada $p < 0,05$.

Hasil: Pemberian parasetamol dosis toksik dapat menurunkan kadar SOD (7.09 ± 1.16 ng/mL) serta meningkatkan kadar MDA (4.64 ± 0.98 nmol/mL) hepar dibandingkan KN ($p < 0,05$). Penginduksian KDS pada P1, P2, dan P3 menghasilkan peningkatan SOD secara berurutan 8.84 ± 2.19 , 15.05 ± 2.03 , dan 19.78 ± 1.61 (ng/mL) serta menurunkan MDA secara berurutan 3.55 ± 0.36 , 1.20 ± 0.07 , dan 0.93 ± 0.06 (nmol/mL) dibandingkan KP ($p < 0,05$). Hal tersebut diduga karena kandungan fenol dan senyawa organik KDS memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Kesimpulan: KDS mampu meningkatkan SOD serta menurunkan MDA terhadap tikus Wistar jantan yang diinduksikan parasetamol dosis toksik dengan dosis paling baik pada kelompok P3(1,5mL/hari).

Kata Kunci: kombucha daun sirsak; status oksidatif.; hepar; parasetamol; kadar SOD dan MDA hepar.

ABSTRACT

Introduction: Paracetamol is one of the most commonly used medications by the public. However, excessive consumption can lead to hepatotoxicity. This toxicity is caused by an imbalance between oxidative stress and antioxidants. Antioxidants can be obtained from soursop leaves, which contain phenols, as well as from kombucha drinks that activate phenolic compounds. The aim of the study is to prove the potential of Soursop Leaf Kombucha (SLK) on the liver of male Wistar rats induced with a toxic

dose of paracetamol through SOD and MDA levels.

Methods: The study utilized a laboratory experimental design with a posttest only control group. The animals were male Wistar rats (2–3months and 150–200grams), divided into 5 groups, each containing 5 rats. The negative control group (NC) was induced with water (2 mL/day), the positive control group (PC) was induced with a toxic dose of paracetamol (2.5 g/kgBW/day) on days 8-14, and the treatment groups P1 (0,5mL/day), P2 (1mL/day), and P3 (1,5mL/day) were induced with SLK for 14 days. All inductions were administered orally via gavage. Liver SOD and MDA levels were analyzed using ANOVA and Kruskal Wallis tests ($p < 0.05$).

Results: Administration of a toxic dose of paracetamol can decrease SOD levels ($7.09 \pm 1.16 \text{ ng/mL}$) and increase MDA levels ($4.64 \pm 0.98 \text{ nmol/mL}$) in the liver compared to NC ($p < 0.05$). Induction with KDS in groups P1, P2, and P3 resulted in a sequential increase in SOD levels of 8.84 ± 2.19 , 15.05 ± 2.03 , and 19.78 ± 1.61 (ng/mL) and a sequential decrease in MDA levels of 3.55 ± 0.36 , 1.20 ± 0.07 , and 0.93 ± 0.06 (nmol/mL) compared to PC ($p < 0.05$). This is thought to be due to the phenol and organic compound content in SLK, which exhibit antioxidant activity.

Conclusion: SLK effectively increases SOD and decreases MDA in paracetamol-induced male Wistar rats, with the optimal dose at P3 (1.5mL/day).

Keywords: soursop leaf kombucha; oxidative status; liver; paracetamol; SOD and MDA levels.

PENDAHULUAN

Parasetamol merupakan salah satu obat yang paling sering dimanfaatkan secara global oleh masyarakat sebagai antipiretik maupun analgetik. Di banyak negara, obat ini dapat diperoleh tanpa resep (Brune, 2015). Namun, hepatotoksitas dapat terjadi ketika konsumsi parasetamol dilakukan secara berlebih (overdosis) (Acheampong, 2016), adanya interaksi parasetamol dengan obat golongan psikotropika maupun alkohol (Luo, 2023). Hal ini menyebabkan terjadinya perdarahan saluran cerna dan kerusakan hepar yang fatal (Luo, 2023). Kerusakan hepar terjadi akibat *N-Asetil-P-Benzoquinoneimine* (NAPQI) yang terbentuk dari reaksi enzim sitokrom P450 (CYP450) menumpuk di hepar (Sayuti, 2015). Sehingga, metabolit radikal bebas terlalu banyak dan tidak bisa didetoksifikasikan oleh antioksidan endogen seperti GSH, SOD maupun CAT (Rai, 2023). Radikal bebas yang terbentuk salah satunya dapat berikatan dengan lipid membran hepar sehingga terjadi peroksidasi lipid yang akan merusak fosfolipid secara langsung dan dapat bertindak sebagai sinyal kematian sel yang menginduksi kematian sel terprogram (apoptosis) (Que, 2018). Peroksidasi lipid dapat dinilai secara tidak langsung dengan mengukur kadar MDA karena senyawa ini merupakan hasil produk dari proses peroksidasi lipid (Mulianto, 2020).

Herbal yang diketahui mempunyai efek sebagai antioksidan eksogen adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Daun sirsak dimanfaatkan sebagai obat alami karena mempunyai banyak manfaat kesehatan dan sebagai sumber antioksidan yang menghambat pembentukan peroksida (Mutakin, 2022). Kandungan fenol dalam daun sirsak dapat berikatan dengan atom hidrogen pada cincin aromatis radikal bebas (radikal fenoksi) sehingga menjadi lebih

stabil (Maryam, 2023). Selain itu, produk herbal lain yang berasal dari fermentasi bakteri dan khamir, yang biasa disebut kombucha, juga mengandung zat seperti polifenol, vitamin hingga asam organik (Martinez, 2018). Fermentasi yang terjadi akan memproduksi enzim hidrolisis seperti invertase, selulase, dan amilase yang akan mengubah senyawa fenolik menjadi monomer fenolik atau fenol aktif (Zubaidah, 2018).

Pencarian obat baru yang berasal dari herbal sebagai hepatoprotektif mulai banyak diteliti. Namun, belum ada penelitian yang membuktikan pengaruh hepatoprotektif dari kombucha daun sirsak (KDS). Hal ini menjadi alasan peneliti melakukan penelitian pada hewan coba tikus *Wistar* jantan yang diinduksi parasetamol dan KDS. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hepatoprotektif KDS melalui mekanisme antioksidan.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian yang dilakukan berjenis laboratorium eksperimental secara *in vivo* dengan *control group posttest only* melalui pemberian kombucha daun sirsak (KDS) setiap hari selama 14 hari kemudian diberikan parasetamol dosis toksik (2,5g/kgBB/hari) selama 7 hari pada hari ke-8 sampai hari ke-14. Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Maret 2025 bertempat di Klinik Hewan Satwa Sehat Indonesia (Tidar, Malang). Penelitian ini secara etik telah disahkan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Islam Malang (KEPK RSI) dengan nomor surat **No.05/KEPK/RSI-U/I/2025**.

Sampel dan Perlakuan Hewan Coba

Tikus akan dibagi menjadi 5 kelompok dengan banyak sampel yang dibutuhkan dalam 1 kelompok adalah 5 ekor. Pembagian kelompok meliputi: Kelompok Negatif(KN), Kelompok Positif(KP), Kelompok Perlakuan 1 (P1), Kelompok Perlakuan 2 (P2), serta Kelompok Perlakuan 3 (P3) (**Tabel 1**).

Tabel 1.
Pembagian Kelompok Hewan Coba

Kelompok	Perlakuan	Jumlah (n)
KN	- Aquades	5 ekor
KP	- Aquades	5 ekor
	- Parasetamol 2,5g/kgBB/hari	
P1	- Parasetamol 2,5g/kgBB/hari	5 ekor
	- KDS 0.5 mL/hari	
P2	- Parasetamol 2,5g/kgBB/hari	5 ekor
	- KDS 1 mL/hari	
P3	- Parasetamol 2,5g/kgBB/hari	5 ekor
	- KDS 1.5 mL	

Pembuatan, Penghitungan pH dan Induksi Kombucha Daun Sirsak

Pembuatan KDS dimulai dengan sediaan simplisia dari daun sirsak dimasukkan ke dalam kantong teh sejumlah 12 g/L. Selanjutnya, direbus dalam panci dan ditambahkan dengan gula sebanyak 100 g/L hingga mendidih. Setelah itu, larutan daun sirsak yang terbentuk dimasukkan ke dalam toples kaca/jar lalu didinginkan pada suhu ruang hingga $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Kemudian, larutan ditambahkan starter SCOBY sebanyak 2,5% (b/v) lalu ditutup dengan kain bersih lalu diikat menggunakan karet untuk mencegah masuknya kontaminan dari luar yang dapat mempengaruhi fermentasi. Toples diletakkan pada ruangan dalam suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari (Barkah, 2021).

Kadar pH kombucha dihitung melalui pH meter elektrik yang telah dikalibrasikan sebelum dan sesudah pengukuran. Cairan kombucha dimasukkan ke dalam *beaker glass* sebanyak 25 ml. Selanjutnya, ujung elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel kombucha sampai skalanya normal. Hasil dari penghitungan dicatat serta dilakukan penghitungan ulang sebanyak 3 kali (Barkah, 2021). Kandungan kombucha dapat digunakan secara optimal saat kadar pHnya mencapai angka 3-4.13, 14 KDS diinduksikan dalam waktu 14 hari pada kelompok P1 sebanyak 0,5 mL/hari, P2 sebanyak 1 mL/hari, dan P3 1,5 mL/hari secara per sonde oral.

Pembuatan dan Induksi Parasetamol

Pembuatan larutan parasetamol dilakukan dengan komposisi dosis parasetamol sebanyak 2,5 g/kgBB/hari dilarutkan dalam Na CMC 1 %. Induksi parasetamol diberikan secara oral menggunakan sonde selama 7 hari pada KP, P1, P2, serta P3 di hari ke-8 hingga ke-14 penelitian.

Pengorbanan dan Pengambilan Sampel Organ Hewan Coba

Pengorbanan hewan coba dikerjakan dengan cara tikus diinjeksi ketamin HCl sebanyak 5 mg/kgBB intramuskular (IM). Setelah itu, hewan coba difiksasi serta disemprotkan alkohol 70 % pada bagian thorak dan abdomen tikus untuk sterilisasi. Kemudian, tikus dibedah dengan membuat irisan vertikal dimulai dari bagian genital hingga daerah diafragma dengan pisau diseksi serta forceps dalam membuka bagian abdomen dan thorak (Tazkia, 2018). Organ hepar yang telah diambil, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung berisi kloroform. Lalu dilakukan preparasi jaringan hepar untuk pemeriksaan kadar SOD serta MDA (Tazkia, 2018).

Jaringan hepar yang sudah diambil kemudian diletakkan pada larutan *phosphate buffer saline* (PBS) dengan pH sekitar 6,8-7,4. Setelah itu, hepar diinkubasi pada suhu 4°C agar terjaga keutuhannya. Saat akan dilakukan pengukuran, jaringan hepar dihancurkan menggunakan mortar lalu ditambahkan cairan *sulfonyl flouride* (PMSF) dengan menggunakan perbandingan 1 mL: 100 mg. Setelah itu, bahan yang larut dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu didiamkan selama 30 menit – 2 jam. Selanjutnya, bahan dimasukkan ke dalam refrigotor dengan tujuan mempertahankan

suhunya pada 4°C. Jaringan organ hepar kemudian disentrifugasikan pada kecepatan 6.000-10.000 rpm selama $\pm 5-20$ menit agar diperoleh supernatannya (Tazkia, 2018).

Pengukuran Kadar SOD

Supernatan yang telah didapatkan selanjutnya dianalisis melalui metode ELISA dengan cara dimasukkan ke dalam sumuran dan ditambahkan dengan 200 μ l WST. Laju reduksi WST-1 diketahui dapat memediasi aktivitas penghambatan xanthine oxidase oleh SOD secara linear. Selanjutnya, ditambahkan 20 μ l larutan pengencer dan larutan kerja ke setiap sumuran. Inkubasi dilakukan selama 20 menit dan saat bersamaan diukur nilai absorbansinya pada 450 nm (Lee, 2022).

Pengukuran Kadar MDA

Supernatan yang diperoleh dari pengambilan sampel yang ditambahkan dengan deteksi biotinilasi ke dalam sumuran. Setelah itu, diinkubasi selama 45 menit lalu dilakukan aspirasi dengan 3 kali pencucian. Selanjutnya, 100 μ l konjugat HRP ditambahkan pada tiap sumuran. Lalu, diinkubasi selama 30 menit. Kemudian, sumuran dicuci 5 kali putaran dan ditambahkan reagen substrat 90 μ l. Setelah itu diinkubasi selama 15 menit. Lalu, diberikan *stop solution* 50 μ l dan diabsorbansi pada 450 nm (Lee, 2022).

Analisis Data

Data analisa ditampilkan pada nilai rata-rata $\pm$ SD dengan pengukuran kadar SOD dan MDA menggunakan *One Way Annova* pada nilai $p < 0,05$ dengan syarat data tersebar secara normal berdasarkan *Shapiro wilk Test* ($p > 0,05$) serta homogen berdasarkan *Levene Test* ($p > 0,05$). Apabila hasil analisa *One Way Annova* didapatkan nilai signifikansi pada $p < 0,05$ maka analisa dilanjutkan menggunakan *Tukey Test* untuk mengetahui kelompok yang menyebabkan terjadinya perbedaan yang signifikan. Apabila data tidak tersebar normal atau homogen atau keduanya maka analisa data menggunakan *Kruskal-Wallis Test* ($p < 0,05$) lalu dilanjutkan dengan *Mann Whitney Test*. *Software* yang digunakan pada analisa hasil menggunakan SPSS versi 25 (Barkah, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Hewan coba yang digunakan pada penelitian adalah tikus jenis *Wistar* jantan usia 2 – 3 bulan, berat badan berkisar 150 – 200 gram serta dalam kondisi sehat yang bisa dilihat dari ciri berikut: memiliki mata jernih bersinar, bulu bersih mengkilat, dan nafsu makan baik (Lee, 2022). Hasil pengukuran ditampilkan dalam **Tabel 2**.

Tabel 2.
Karakteristik Sampel

	KN	KP	Kelompok Perlakuan		
			P1	P2	P3
BB Awal (gram)	155,4± 2,30	162± 5,70	158,8± 10,13	170,4± 9,04	162± 8,68
BB Akhir (gram)	149± 21,93	161± 14,45	152,8± 7,15	158,8± 19,69	170,6± 40,04
Δ BB (%)	-2,85%	-0,36%	-11,58%	-5,56%	+5,3%

Keterangan: Hasil data ditampilkan dari penghitungan nilai rata-rata ±SD. Sampel hewan penelitian adalah tikus wistar jantan yang terbagi menjadi KN, KP, P1, P2, dan P3. Variabel yang diukur merupakan berat badan dari tikus *Wistar* yang ditimbang 1 minggu sebelum serta 2 minggu setelah induksi kombucha daun sirsak dan parasetamol dosis toksik.

(a) Tanda (–): terjadi penurunan berat badan

(b) Tanda (+): terjadi peningkatan berat badan

Hasil Kadar SOD dan MDA Tikus *Wistar* Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik dan Kombucha Daun Sirsak

Kadar SOD serta MDA jaringan hepar tikus *Wistar* yang diinduksi parasetamol dosis toksik serta diberikan KDS pada kelompok penelitian disajikan dalam **Tabel 3** dan **Tabel 4** di bawah.

Tabel 3.
Kadar SOD Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik dan Kombucha Daun Sirsak

	KN, (n=5)	KP, (n=5)	Kelompok Perlakuan		
			P1 (n=5)	P2 (n=5)	P3 (n=5)
Kadar SOD (ng/ml)	26.03± 2.18	7.09± 1.16 ^a	8.84± 2.19 ^a	15.05± 2.03 ^{abc}	19.78± 1.61 ^{abcd}

Keterangan: Data ditampilkan dari hasil penghitungan nilai rata-rata ±SD. Analisa statistik menggunakan ANOVA dilanjutkan *Tukey test* dengan nilai signifikansinya $p < 0,05$. Notasi (huruf) menandakan adanya perbedaan signifikan

Kadar SOD jaringan hepar pada kelompok penelitian yang ada dalam Tabel 3 menampilkan bahwa induksi parasetamol dosis toksik dapat menurunkan kadar SOD jaringan hepar sebesar 4 kali lipat dibandingkan kadar normalnya (KN) ($p<0,05$). Pada pemberian KDS dosis 0,5mL; 1mL; serta 1,5mL dapat meningkatkan kadar SOD secara berurutan sebanyak 1, 2, dan 3 kali lipat dibandingkan kelompok KP ($p<0,05$). Penginduksian KDS sebesar 1 mL dan 1,5 mL mampu meningkatkan SOD jaringan hepar hewan coba secara signifikan.

Tabel 4.
Kadar MDA Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik dan Kombucha Daun Sirsak

	KN (n=5)	KP, (n=5)	Kelompok Perlakuan		
			P1 (n=5)	P2 (n=5)	P3 (n=5)
Kadar MDA (nmol/ml)	0.71± 0.12	4.64± 0.98 ^a	3.55± 0.36 ^a	1.20± 0.07 ^{ab}	0.93± 0.06 ^{bc}

Keterangan: Data ditampilkan dari hasil penghitungan nilai rata-rata $\pm$ SD. Analisa statistik menggunakan *Kruskal wallis* dilanjutkan dengan *Mann Whitney* dengan nilai signifikansi $p<0,05$. Notasi (huruf) menandakan adanya perbedaan signifikan

Pada **Tabel 4** menunjukkan bahwa induksi parasetamol dosis toksik dapat menaikkan kadar MDA pada jaringan hepar sebesar 7 kali lipat dibandingkan dengan kadar normal (KN) ($p<0,05$). Pada pemberian KDS dosis 0,5mL; 1mL; serta 1,5mL dapat menurunkan kadar MDA secara berurutan sebesar 1, 4, dan 5 kali lipat dibandingkan kontrol positifnya (KP) ($p<0,05$). Pemberian KDS sebesar 1 mL dan 1,5 mL mampu menurunkan kadar MDA pada jaringan hepar tikus secara signifikan.

PEMBAHASAN

Pengaruh Induksi Parasetamol Dosis Toksik Terhadap Kadar SOD-MDA Jaringan Hepar Tikus Wistar

Pemberian parasetamol dosis toksik dapat menurunkan kadar SOD 4 kali lipat serta meningkatkan kadar MDA 7 kali lipat pada jaringan hepar tikus *Wistar* jantan. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Morsy (2015) yang menjelaskan SOD hepar dapat menurun secara signifikan setelah diberikan paparan parasetamol dosis toksik, dan penelitian oleh Liao (2023) yang membuktikan bahwa induksi parasetamol dapat meningkatkan kadar MDA tikus *Wistar*. Hal ini terjadi karena adanya stres oksidatif yang disebabkan oleh akumulasi NAPQI dalam tubuh (Katzung, 2018).

Parasetamol merupakan salah satu obat analgesik serta penurun demam yang kerap digunakan masyarakat karena mudah diperoleh tanpa menggunakan resep. Tingkatan nyeri yang dapat diredakan dengan parasetamol biasanya dari skala ringan hingga sedang seperti nyeri sakit kepala, myalgia maupun nyeri pasca operasi (McCrae, 2018). Akan tetapi,

parasetamol dapat menyebabkan kerusakan hepar saat dikonsumsi secara jangka panjang maupun pemberian yang melebihi dosis terapeutiknya (Goodman, 2018). Efek yang paling serius adalah terjadinya nekrosis hepatoseluler. Kematian sel hepar ini dapat berkontribusi terhadap pembentukan metabolit NAPQI yang bersifat toksik (Li, 2023).

Metabolisme parasetamol terjadi dalam hepar melalui dua fase yaitu fase 1 dan 2. Pada fase 1, parasetamol diubah menjadi senyawa metabolit glukoronidasi, sulfatasi, serta oksidasi. Sekitar 85% metabolit parasetamol yang sudah digunakan pada sel target tubuh akan diekskresikan melalui urin. Akan tetapi, sekitar 15% metabolit parasetamol lainnya akan mengalami proses oksidasi dari peran CYP450 sehingga membentuk NAPQI yang memiliki sifat toksik (Mazaleuskaya, 2015). Pada keadaan normal, NAPQI akan didetoksifikasi dalam fase 2 hepar dengan bantuan *glutathione* (GSH) yang akhirnya menjadi metabolit yang lebih tidak bersifat toksik serta dapat diekskresikan melalui urin dalam waktu 24 jam (Aini, 2024). Namun saat parasetamol dikonsumsi secara jangka panjang maupun pemberian yang melebihi dosis terapeutik, terjadi ketidakseimbangan antara kadar GSH dengan NAPQI. Sehingga hasil metabolit yang bersifat reaktif menumpuk lalu dapat memodifikasi protein serta saluran ion hingga mengakibatkan kegagalan produksi energi sel dan menyebabkan kematian dari hepatosit (Aini, 2024).

Pengaruh Kombucha Daun Sirsak Terhadap Kadar SOD dan MDA Jaringan Hepar Tikus Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik

Kelompok perlakuan yang diinduksi KDS pada dosis 0,5mL, 1mL, dan 1,5mL mampu meningkatkan SOD secara berurutan sebanyak 1, 2, dan 3 kali lipat serta menurunkan kadar MDA secara berurutan sebanyak 1, 4, dan 5 kali lipat dibandingkan kelompok positif ($p < 0,05$). Hasil dari uji statistik memperlihatkan perbedaan secara signifikan pada kelompok KP dengan P2 dan P3, tetapi tidak signifikan dengan P1. Hal ini menunjukkan bahwa KDS memiliki efek protektif terhadap stres oksidatif melalui aktivitas antioksidannya (Costa, 2023). Penelitian lain menunjukkan kombucha dapat menurunkan stres oksidatif pada tikus yang terpapar zat toksik melalui aktivitas senyawa fenol yang terkandung dalam KDS (Maryam, 2023). Senyawa fenol memiliki satu atau lebih cincin fenol yang merupakan gugus hidroksi yang melekat pada cincin aromatis sehingga cincin fenol rentan mengalami oksidasi. Gugus hidroksi fenol ini berfungsi mengikat atom dari hidrogen radikal bebas (yang akan membentuk radikal fenoksi) agar radikal bebas tersebut menjadi lebih stabil (Maryam, 2023).

KDS meningkatkan SOD dan menurunkan MDA pada tikus yang diberikan parasetamol dosis toksik, dengan pengaruh lebih besar pada dosis tinggi. Hal tersebut konsisten dengan penelitian yang menunjukkan bahwa kombucha dari daun sirsak memiliki kapasitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 1,5% (w/v), diukur melalui uji DPPH (Candra, 2023). Mekanismenya berkaitan dengan peningkatan konsentrasi senyawa

antioksidan seperti polifenol dan vitamin C. Mekanisme tersebut dapat menetralkan radikal bebas serta mengurangi peroksidasi lipid, sehingga meningkatkan aktivitas SOD dan menurunkan MDA.

Potensi KDS sebagai hepatoprotektif berkaitan dengan kandungan antioksidan yang dimiliki dalam KDS. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Damayanti (2024), KDS mempunyai kandungan senyawa polifenol yang paling tinggi dibandingkan dengan minuman serbuk daun sirsak maupun kombucha bunga telang. Hasil IC 50 DPPH yang dimiliki KDS lebih rendah (13991,44) dibandingkan dengan kombucha bunga telang maupun kombinasi kombucha daun sirsak dan bunga telang (23549,01 dan 32284,33) (Damayanti, 2024). Hasil IC 50 yang lebih rendah menandakan semakin besarnya potensi antioksidan yang dikandung dalam bahan tersebut.

Pada kelompok perlakuan yang diinduksi KDS dosis 0,5 mL (P1) tidak terlihat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KP. Hal tersebut diperkirakan karena pada dosis tersebut jumlah flavonoid tidak mencukupi untuk menghasilkan pengaruh yang diharapkan, sedangkan pada dosis yang lebih tinggi (P2 dan P3), jumlah flavonoid yang lebih besar menghasilkan pengaruh yang lebih signifikan.

Pengaruh Karakteristik Sampel Penelitian Pada Hasil Penelitian

Kelompok kontrol dan perlakuan (KN, KP, P1, P2, dan P3) yang diinduksi kombucha daun sirsak serta parasetamol dosis toksik masing – masing mengalami perubahan sebesar 2,85%, 0,36%, 11,58%, 5,56% dan 5,3%. Kelompok KN menunjukkan penurunan berat badan yang mencerminkan kondisi saat tikus diberikan induksi perorale dengan peningkatan stres dari hewan coba tersebut. Kelompok KP mengalami penurunan berat badan diduga karena efek toksik parasetamol yang terbatas pada berat badan dalam jangka waktu pengamatan. Pada kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan berat badan diduga karena efek sitotoksik kombucha daun sirsak atau interaksi dengan parasetamol sehingga mengganggu metabolisme dan asupan nutrisi. Sedangkan pada kelompok P3, peningkatan berat badan tikus diduga mencerminkan dosis optimal dari kombucha yang memiliki efek antioksidan pada tubuh.

Tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) jantan digunakan pada penelitian ini karena pada kelompok jenis kelamin jantan tidak dipengaruhi siklus hormonal estrogen dan kehamilan yang berpotensi bias dalam hasil penelitian (Frianto, 2015). Pemilihan hewan coba yang digunakan berumur 2–3 bulan serta berat badan 150–200 gram karena dianggap lebih ideal dari segi ukuran organ yang cukup besar agar mempermudah dalam proses pengambilan hepar. Sedangkan untuk berat badan tikus yang digunakan menjadi gambaran kesehatan hewan coba (Frianto, 2015). Lebih lanjut juga karena tikus *Wistar* memiliki DNA yang mirip dengan DNA manusia sehingga kerap dimanfaatkan dalam penelitian.

Kelebihan dan Kelemahan Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus *Wistar* jantan yang memiliki kesamaan DNA dan metabolisme dengan manusia serta tidak mengalami siklus hormonal estrogen yang mengurangi resiko bias pada penelitian. Temuan hasil penelitian KDS dosis 1mL/hari dan 1,5mL/hari dapat meningkatkan SOD dan menurunkan MDA hepar hewan coba secara signifikan. Hal tersebut menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang mampu berkontribusi dalam penelitian kedepannya.

Kelemahan penelitian yang dilakukan yaitu induksi parasetamol hanya dilakukan selama 7 hari serta dosis yang diberikan mungkin tidak cukup untuk mencerminkan efek jangka panjang dari kerusakan hepar kronis. Kemudian, belum diketahuinya dosis maksimal maupun durasi optimal dari KDS yang dapat diberikan kepada hewan coba.

KESIMPULAN

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

- Penginduksian parasetamol dosis toksik (2,5g/kgBB/hari) selama 7 hari mampu menurunkan kadar SOD serta meningkatkan kadar MDA jaringan hepar hewan coba.
- Pemberian kombucha daun sirsak (KDS) sebesar 1mL/hari dan 1,5mL/hari secara signifikan dapat menurunkan MDA jaringan hepar serta meningkatkan SOD jaringan hepar hewan coba.
- Semakin tinggi pemberian dosis KDS semakin tinggi pula pengaruh antioksidan terhadap jaringan hepar.

Saran

Berdasarkan data yang didapat, untuk meningkatkan serta mengembangkan lebih lanjut penelitian, maka disarankan:

- Melakukan penelitian dengan memberikan dosis parasetamol yang lebih besar untuk mencapai toksisitas lebih tinggi atau menggunakan obat lain yang memiliki nilai toksisitas lebih.
- Melakukan penelitian lebih mendalam terkait dengan variasi dari dosis KDS yang berbeda untuk mengetahui dosis maksimal serta dosis toksik yang bisa didapatkan dari KDS.
- Melakukan penelitian dengan durasi pemberian KDS yang berbeda untuk mengetahui durasi optimal yang bisa didapatkan dari KDS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada IOM Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang terkait bantuan pendanaan dalam pelaksanaan penelitian ini serta ucapan terima kasih kepada dosen pembimbing dan penguji sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

- Acheampong, P., & Thomas, S. H. L. (2016). Determinants of hepatotoxicity after repeated supratherapeutic paracetamol ingestion: systematic review of reported cases. In *British Journal of Clinical Pharmacology* (pp. 923–931).
- Aini, A. N., Aisha, A., Ginting, D., Aminulloh, G., Putri, O., & Rahmandah, S. (2024). Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Permen Jeli Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.). *WARTA AKAB*, 48(1), 68–73
- Barkah, M. H., Sri Damayanti, D., & Hakim, R. (2021). Pengaruh Lama Fermentasi Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine* (Vol. 8, No. 2).
- Brune, K., Renner, B., & Tiegs, G. (2015). Acetaminophen/paracetamol: A history of errors, failures and false decisions. *European Journal of Pain*, 19(7), 953–965.
- Candra, A., Prasetyo, B.E., & Darge, H.F. (2023). Honey utilization in soursop leaves (*Annona muricata*) kombucha: Physicochemical, cytotoxicity, and antimicrobial activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 52.
- Costa, M. A. de C., Vilela, D. L. de S., Fraiz, G. M., Lopes, I. L., Coelho, A. I. M., Castro, L. C. V., & Martin, J. G. P. (2023). Effect of
- Damayanti, D. S., & Bintari, Y. R. (2024). Antibacterial And Antioxidant Potential of Three Kinds of Kombucha. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan (JKS)*, 24(3).
- El Morsy, E. M., & Kamel, R. (2015). Protective effect of artichoke leaf extract against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical biology*, 53(2), 167–173
- Fraiz, G. M., Bonifácio, D. B., Lacerda, U. V., Cardoso, R. R., Corich, V., Giacomini, A., Martino, H. S. D., Esteban-Echeverría, S., Romo-Hualde, A., Muñoz-Prieto, D., Barros, F. A. R. de, Milagro, F. I., & Bressan, J. (2024). The Impact of Green Tea Kombucha on the Intestinal Health, Gut Microbiota, and Serum Metabolome of Individuals with Excess Body Weight in a Weight Loss Intervention: A Randomized Controlled Trial. *Foods*, 13(22), 3635.
- Frianto, F., (2015). Evaluasi Faktor Yang Mempengaruhi Jumlah Perkawinan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Secara Kualitatif. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan*, 3(1).
- Goodman, L., Gilman, A., Brunton, L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. (2018). The Pharmacological Basis of Therapeutics Thirteenth Edition (L. Brunton & R. Hilal-Dandan, Eds.; 13th ed.). *McGraw-Hill Medical*. 1,702
- Katzung, B. G., & Trevor, A. J. (2018). *Basic & clinical pharmacology* (B. G. Katzung, Ed.; 14th ed.). *McGraw-Hill Medical*. 1, 64-65
- kombucha intake on the gut microbiota and obesity-related comorbidities: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(19), 3851–3866.
- Lee, H. Y., Nam, Y., Choi, W. S., Kim, T. W., Lee, J., & Sohn, U. D. (2020). The

- hepato-protective effect of eupatilin on an alcoholic liver disease model of rats. *The Korean journal of physiology & pharmacology: official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 24(5), 385–394.
- Lee, M., McCarron, J., Balinski, A., & Bower, R. (2022). Intravenous acetaminophen associated with acute liver failure. *BMJ case reports*, 15(11).
- Li, Y., Hong, X., Liang, L., Wang, X., & Ladd-Acosta, C. (2023). Association between acetaminophen metabolites and CYP2E1 DNA methylation level in neonate cord blood in the Boston Birth Cohort. *Clinical Epigenetics*, 15(1).
- Liao, J., Lu, Q., Li, Z., Li, J., Zhao, Q., & Li, J. (2023). Acetaminophen-induced liver injury: Molecular mechanism and treatments from natural products. *Frontiers in pharmacology*, 14.
- Luo, G., Huang, L., & Zhang, Z. (2023). The molecular mechanisms of acetaminophen-induced hepatotoxicity and its potential therapeutic targets. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 248(5), 412–424.
- Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390–399.
- Maryam, S., & Suhaenah, A. (2023). Analisis Kandungan Senyawa Fenolik Dan Tanin Pada Isolat Fungi Endofit (IFEBK20) Bunga Kersen (*Muntingia calabura* L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, 1(2), 2023–2058.
- Maryam, S., & Suhaenah, A. (2023). Analisis Kandungan Senyawa Fenolik Dan Tanin Pada Isolat Fungi Endofit (IFEBK20) Bunga Kersen (*Muntingia calabura* L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, 1(2), 2023–2058.
- Mazaleuskaya, L. L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., Fitzgerald, G. A., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2015). PharmGKB summary: Pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenetics and Genomics*, 25(8), 416–426.
- McCrae, J. C., Morrison, E. E., MacIntyre, I. M., Dear, J. W., & Webb, D. J. (2018). Long-term adverse effects of paracetamol – a review. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 84(10), 2218–2230.
- Mulianto, N. (2020). Malondialdehid sebagai Penanda Stres Oksidatif pada Berbagai Penyakit. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(1), 39–44.
- Mutakin, M., Fauziati, R., Fadhillah, F. N., Zuhrotun, A., Amalia, R., & Hadisaputri, Y. E. (2022). Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata* Lin.). In *Molecules* (Vol. 27, Issue 4).
- Que, X., Hung, M. Y., Yeang, C., Gonen, A., Prohaska, T. A., Sun, X., Diehl, C., Määttä, A., Gaddis, D. E., Bowden, K., Pattison, J., MacDonald, J. G., Ylä-Herttuala, S., Mellon, P. L., Hedrick, C. C., Ley, K., Miller, Y. I., Glass, C. K., Peterson, K. L., Witztum, J. L. (2018). Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolaemic mice. *Nature*,

558(7709), 301–306.

- Rai, M., Paudel, N., Sakhrie, M., Gemmati, D., Khan, I. A., Tisato, V., Kanase, A., Schulz, A., & Singh, A. V. (2023). Perspective on Quantitative Structure–Toxicity Relationship (QSTR) Models to Predict Hepatic Biotransformation of Xenobiotics In *Livers* (Vol. 3, Issue 3, pp. 448–462).
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). Antioksidan Alami dan Sintetik: *Andalas University Press. Vol. I.*
- Tazkia, R. R., Amalia, Y., & Sri Damayanti, D. (2018). Efek Ekstrak Airdaun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Kadar SOD dan MDA Hepar Tikus Wistar Induksi Diet Tinggi Lemak Dan Tinggi Fruktosa. *Jurnal Bio Komplementer Medicine* (Vol. 6, No. 3).
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. In *Journal of Food Science* (Vol. 83, Issue 3, pp. 580–588).
- Zubaidah, E., Yurista, S., & Rahmadani, N. R. (2018). Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 131(1).