

PENURUNAN Kadar BILIRUBIN dan LAKTAT DEHIDROGENASE TIKUS WISTAR JANTAN yang DI INDUKSI PARASETAMOL dan KOMBUCHA DAUN SIRSAK

Muhammad Reza Alfian¹, Silvy Amalia Falyani², Dini Sri Damayanti³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Parasetamol dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel hepar akibat penumpukan radikal bebas, yang ditandai dengan peningkatan kadar *Laktat dehidrogenase* dan Bilirubin. Hal tersebut berkaitan dengan peningkatan radikal bebas parasetamol yang menyebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Kombucha daun sirsak mengandung senyawa fenol aktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh kombucha daun sirsak yang menyebabkan turunnya kadar bilirubin dan LDH tikus.

Metode: Penelitian eksperimental in vivo dengan desain *control group post-test only* menggunakan 25 tikus Wistar jantan usia 10-12 minggu yang dibagi menjadi lima kelompok yakni: kontrol negatif (aquades 2ml/hari), kontrol positif (parasetamol 2,5 g/kgBB/hari), dan tiga kelompok perlakuan (kombucha daun sirsak 0,5, 1, dan 1,5 mL selama 14 hari, dengan induksi parasetamol pada hari ke 8-14. Pengukuran menggunakan spektrofotometri. Data dianalisis dengan *One-Way ANOVA* dan *kruskal-wallis*, Dengan hasil *p value* <0,05.

Hasil: Perbedaan signifikan bilirubin didapatkan pada kelompok KP (0,777) dengan KN (0,252), P1 (0,662), P2 (0,507) dan P3 (0,412) (*p*<0,05) namun, antara P2 dan P3 tidak berbeda signifikan. Berdasarkan rata-rata, kadar Bilirubin tertinggi ada pada kelompok KP diikuti kelompok P1, P2, P3. Pada kadar LDH, perbedaan signifikan didapatkan pada kelompok KP (131,35) dengan KN (67,04), P1 (95,03), P2 (93,63), P3 (92,46) (*p*<0,05). Sedangkan antar kelompok perlakuan, tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Kadar LDH tertinggi didapatkan pada KP diikuti dengan P1, P2, dan P3.

Kesimpulan: Kombucha daun sirsak semua dosis dapat menurunkan kadar Bilirubin, dan dosis 1mL adalah dosis optimal. Pada LDH, kombucha semua dosis dapat menurunkan kadar LDH, dan dosis optimalnya adalah 0,5mL.

Kata Kunci: Parasetamol; Hepatotoksik; Kombucha Daun Sirsak; Bilirubin; LDH.

*Koresponden:

Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. MT.Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

REDUCTION of BILIRUBIN and LACTATE DEHYDROGENASE LEVELS in MALE WISTAR RATS INDUCED with PARACETAMOL and Soursop Leaf KOMBUCHA

Muhammad Reza Alfian, Silvy Amalia Falyani, Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, Islamic University of Malang

ABSTRACT

Introduction High doses paracetamol can induce hepatotoxicity due to the accumulation of free radicals, typically characterized by increased levels of LDH and bilirubin. This is related to the increase in paracetamol free radicals which causes an imbalance between free radicals and antioxidant. Soursop leaf kombucha, known for its active phenolic compounds, functions as an antioxidant. This study aims into investigate the impact of soursop leaf kombucha in reducing bilirubin and LDH levels in rats.

Methods: This experimental study employed a control group post-test only design using 25 male Wistar rats aged 10-12 weeks. The rats were randomly divided into five groups: a negative control (receiving 2 mL/day of distilled water), a positive control (induced with paracetamol at 2.5 g/kgBW/day), and three treatment groups (receiving soursop leaf kombucha at doses of 0.5mL, 1mL, and 1.5 mL for 14 days, with paracetamol induction at 2.5 g/kgBW/day administered from day 8 to 14). Measured using spectrophotometry. Data were analyzed using One-Way ANOVA and *kruskal-wallis*. Statistical significance (*p*< 0.05).

Result: Statistically in bilirubin, significant differences were observed in KP between KN (0,252), P1 (0,662), P2 (0,507) and P3 (0,412) (*p*<0,05). However, the difference between the P2 and P3 groups was not statistically significant. Based on the mean values, the highest bilirubin level was found in the KP group, followed by the P1, P2, and P3 groups. Regarding LDH levels, a statistically significant difference was observed between the positive control KP (131,35) between KN (67,04), P1 (95,03), P2 (93,63), P3 (92,46) (*p*<0,05). No statistically significant differences in LDH levels were found between treatment groups. The highest LDH level was observed in the KP group, followed by the P1, P2, and P3 groups.

Conclusion: : Soursop leaf kombucha at all doses can lower bilirubin levels, with 1 mL being the optimal dose. Kombucha at all doses can lower LDH levels, with 0.5 mL being the optimal dose.

Keywords: Paracetamol; Hepatototoxicity; Soursop Leaf Kombucha; Bilirubin; LDH

*Corresponding author:

Dini Sri Damayanti (dinisridamayanti@unisma.ac.id)

Jl. MT.Haryono 193 Malang, East Java Indonesia 65144

PENDAHULUAN

Xenobiotik adalah senyawa asing yang berasal dari bahan makanan atau tumbuhan dan berpotensi toksik, serta mencakup senyawa sintetik seperti obat-obatan, zat aditif makanan, dan polutan lingkungan¹. Parasetamol, sebagai senyawa sintetik, utamanya dimetabolisme di hepar, di sebabkan karena melewati berbagai proses metabolisme oleh enzim *CYP450* dengan bantuan isoenzim *CYP21E*, yang menyebabkan peningkatan metabolit reaktif toksik berupa *N-acetil-p-benzoquinon* dan radikal bebas.²

Parasetamol adalah obat analgesik dan antipiretik yang paling umum dikonsumsi oleh masyarakat³. Meskipun aman dikonsumsi dalam dosis terapeutik, overdosis parasetamol dikarenakan penyalahgunaan dengan dosis berlebih, konsumsi jangka panjang, dan interaksi obat dapat memicu hepatotoksitas yang dapat ditandai dengan meningkatnya kadar bilirubin total dan LDH. Hal ini salah satunya karena rentang dosis terapeutik yang sempit menyebabkan overdosis mudah terjadi. Metabolit reaktif toksik (*N-acetyl-p-benzoquinone*) merupakan produk hasil metabolisme parasetamol yang diproduksi oleh hepar dengan bantuan enzim sitokrom P450.²

Agar dapat mengurangi hepatotoksitas yang disebabkan karena obat, tubuh memerlukan antioksidan sebagai hepatoprotektor. Salah satu sumber antioksidan yang tinggi ada pada tanaman yaitu sirsak (*Annona Muricata L.*). Pada daunnya diketahui memiliki kandungan fenolik tinggi yang berperan sebagai antioksidan²⁹. Menurut penelitian yang dilakukan Khaerah (2018), peningkatan jumlah fenol didapat salah satunya dengan proses fermentasi yaitu kombucha. Kombucha merupakan suatu minuman tradisional yang dihasilkan dari fermentasi larutan teh yang ditambahkan gula dan SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast).¹⁰

Berdasarkan hal tersebut, dan belum adanya penelitian terkait pengembangan efek dari kombucha daun sirsak (*Annona Muricata L.*) pada hepar tikus wistar jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik, maka penelitian mengenai pengembangan kombucha yang sebagai sumber antioksidan serta daun sirsak yang merupakan tanaman yang memiliki kandungan tinggi antioksidan menjadi alasan utama penelitian ini dilakukan dengan cara pemberian kombucha daun sirsak secara *in vivo* pada tikus wistar jantan (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik dengan dosis 2,5g/kgBB/hari.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* yang dilaksanakan secara eksperimental laboratorium *control group posttest only*, dan tikus wistar jantan digunakan sebagai hewan coba untuk melihat pengaruhnya terhadap kadar bilirubin dan LDH setelah diinduksi dengan parasetamol dosis toksik.

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 23 Februari – 9 Maret 2025 di Laboratorium Central Riset dan Diagnostik Klinik Hewan Satwa Sehat Indonesia, dengan persetujuan Komite Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Islam Malang pada tanggal 15 Januari 2025 nomor 05/KEPK/RSI-U/I/2025.

Sampel dan Perlakuan Hewan Coba

Tikus wistar jantan dikelompokkan menjadi 5 kelompok meliputi: Kelompok Negatif (KN), Kelompok Positif (KP), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), dan Perlakuan 3 (P3) yang terdiri dari 5 ekor tiap kelompok menggunakan metode secara *random sampling* yang terdapat di **Tabel 1**.

Tabel 1. Pengelompokan Hewan Coba

Kelompok	Jumlah (n)	Perlakuan
Kontrol Negatif (KN)	5 ekor	• Aquades
Kontrol Positif (KP)	5 ekor	• Aquades + Parasetamol 2,5 g/kgBB/hari
Perlakuan 1 (P1)	5 ekor	• Parasetamol 2,5 g/kgBB/hari + Kombucha Daun Sirsak 0.5 mL
Perlakuan 2 (P2)	5 ekor	• Parasetamol 2,5 g/kgBB/hari + Kombucha Daun Sirsak 1 mL
Perlakuan 3 (P3)	5 ekor	• Parasetamol 2,5 g/kgBB/hari + Kombucha Daun Sirsak 1.5 mL

Pembuatan dan Induksi Parasetamol

Parasetamol yang diberikan sebesar 2,5 mg/kgBB yang diinduksikan setiap hari selama 7 hari dan disesuaikan dengan berat badan tikus. Selanjutnya dilarutkan dengan Na-CMC 1%. Parasetamol kemudian diberikan secara oral menggunakan alat sonde. Pemberian parasetamol ini diberikan pada kelompok KP, P1, P2, dan P3.

Pembuatan Kombucha Daun Sirsak

Serbuk daun sirsak sebanyak 24 gram dimasukkan kedalam kantung teh. Kemudian

menyiapkan wadah berisi air sebanyak 2 liter dan dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dimasukkan kedalam wadah, dilanjutkan direbus selama 15 menit¹². Setelah itu, rebusan ditambahkan gula sebanyak 10 % (b/v) dan diaduk. Larutan yang sudah diaduk dimasukkan kedalam bioreaktor berupa toples kaca steril dan ditutup dengan rapat.¹³ Selanjutnya adalah menambahkan starter *SCOBY* sebanyak 2,5% (b/v) kemudian toples kaca ditutup rapat menggunakan serbet kertas dan diletakkan ditempat yang terhindar sinar matahari langsung. Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-7 menggunakan kertas pH untuk analisis. Kombucha daun sirih dapat dikonsumsi pada rentang pH 2,5 hingga 4,2.¹⁴

Pengambilan Sampel Hewan Coba

Pada pengambilan sampel hewan coba, tikus wistar jantan mula mula diinjeksi ketamin HCl (15mg/kgBB) secara intraperitoneal. Selanjutnya, tikus dibedah vertikal pada abdomen sampai ke thorax menggunakan gunting. Setelah itu, sampel darah diambil sebanyak 5-10ml menggunakan spuit dengan cara diaspirasi perlahan. Darah yang sudah diambil dimasukkan kedalam tabung specimen darah untuk selanjutnya disentrifugasi dalam 3000rpm selama 10-15 menit untuk mendapatkan serum darah yang digunakan untuk uji kadar Bilirubin dan LDH.¹⁵

Pengukuran Kadar Bilirubin total

Pemeriksaan mengikuti dari metode *Jendrassik-grof*. Pemeriksaan diawali dengan menyiapkan serum darah sebanyak 3mL, yang selanjutnya menyiapkan 4 reagen. Reagen 1 (sulfanic acid dan HCL sebanyak 200 µl) reagen 2 (Sodium Nitrite 1 tetes), reagen 3 (cafein dan Sodium benzoate sebanyak 1,0 mL) dan reagen 4 (Tartarate dan sodium hydroxide sebanyak 1,0 mL). Pemeriksaan diawali dengan menambahkan reagen 1 dan reagen 3 serta sampel serum 200 µl ke tabung 1 dan 2. Pada tabung 1 (sampel blanko) tidak ditambahkan apapun sedangkan tabung 2 (sampel) diberi tambahan berupa reagen2. Kedua tabung dikocok dan diinkubasi selama 10 menit pada 20-25 °C. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi pada kedua tabung menggunakan metode spektrofotometri dengan $\lambda = 578\text{nm}$.^{13,6}

Pemeriksaan Kadar Bilirubin indirek

Pemeriksaan kadar bilirubin indirek menggunakan reagen yang sama yaitu dengan reagen 1 (sulfanic acid dan HCL sebanyak 200

µl) namun, ada penambahan dengan Saline 0,9% NaCl sebanyak 2,0 mL setelah itu sampel serum sebanyak 200 µl pada tabung 1 dan 2. Pada tabung 1 (sampel blanko) tidak diberi apapun, sedangkan tabung 2 (sampel) diberikan reagen2 (NaNO₃ sebanyak 1 tetes). Kedua tabung dikocok dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi pada kedua tabung menggunakan metode spektrofotometri dengan $\lambda = 546\text{nm}$.¹³

Hasil yang diperoleh dihitung dengan cara:

TBIL (mg/dL) = Absorbansi Sampel x 10,8

Direct (mg/dL) = Absorbansi Sample x 14,4

Indirect bilirubin = Total bilirubin - Bilirubin *direct*

Pengukuran Kadar LDH

Aktivitas LDH (Laktat Dehidrogenase) diukur menggunakan spektrofotometer ABX Pentra C200 pada panjang gelombang 340 nm. Proses ini melibatkan pencampuran reagen 1 (Tris buffer 110 mmol/L, L-aspartat 320 mmol/L) dan reagen 2 (2-oksoglutarat 65 mmol/L, NADH 1 mmol/L) dengan sampel serum. Setelah divortex dan diinkubasi 1 menit, campuran diukur absorbansinya. Prinsip pengukurannya didasarkan pada penurunan jumlah NADH yang diubah menjadi NAD⁺ per satuan waktu, dan hasilnya dinyatakan dalam Unit/Liter (U/L) serum.¹⁶

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil diuji secara statistik menggunakan uji *Onei Way ANOVA*. Hasil dikatakan bermakna apabila $p(<0,05)$. Kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan yang ada. Hasil dikatakan bermakna apabila $p(>0,05)$.¹⁷

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel Penelitiann

Hewan coba yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu tikus *wistar* jantan berusia sekitar 8-12 minggu dengan berat 150 – 200g. Dengan karakteristik sampel ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik sampel Penelitiann

Berat Tikus	KN	Kelompok Perlakuan			
		KP	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

Keterangan: Hasil data ditampilkan dari penghitungan nilai rata-rata $\pm$ SD. Sampel hewan penelitian adalah tikus wistar jantan yang terbagi menjadi KN, KP, P1, P2, dan P3. Variabel yang diukur merupakan berat awal dan berat akhir dari hewan coba tikus *Wistar* dengan satuan gram.

Hasil Bilirubin Tikus *Wistar* Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik dan Kombucha Daun Sirsak

Hasil analisa menunjukkan pemberian induksi parasetamol dosis toksik dapat menyebabkan peningkatan kadar bilirubin sebesar 208,3% atau sebanyak 3x lipat yang dapat dilihat pada KP dibanding kadar normalnya pada KN (0,777:0,252 mg/dL) ($p<0,05$) yang terdapat pada (tabel 3).

Pada dosis 0,5mL, 1mL dan 1,5mL menyebabkan penurunan kadar bilirubin dibandingkan kelompok KP berturut turut sebesar 14,8%, 34,7%, dan 46,9%. Penurunan signifikan ditunjukkan pada kelompok perlakuan dengan dosis 0,5mL dan 1mL ($p<0,05$).

Tabel 3. Kadar Bilirubin Pada Tikus *Wistar* Jantan yang Diinduksi Parasetamoli Dosis Toksik dan Kombucha Daun Sirsak

Kelompok Perlakuan	Jumlah (n)	Mean $\pm$ SD (mg/dL)
Kontrol Negatif	5 tikus	0,25 $\pm$ 0,58a
Kontrol Positif	5 tikus	0,777 $\pm$ 0,43b
Perlakuan 1 (0,5mL)	5 tikus	0,66 $\pm$ 0,15c
Perlakuan 2 (1mL)	5 tikus	0,50 $\pm$ 0,57d
Perlakuan 3 (1,5mL)	5 tikus	0,41 $\pm$ 0,87d

Keterangan:

a: Menunjukkan perbedaan signifikan antara KN dengan KP, P1, P2, P3

b: Menunjukkan perbedaan signifikan antara KP berbeda signifikan dengan KN, P1, P2, P3

c: Menunjukkan perbedaan signifikan antara P1 dengan KN, KP, P2, P3

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

Berdasarkan hasil uji statistik, setelah induksi parasetamol dosis toksik, terjadi peningkatan kadar LDH sebesar 95,6% atau hampir sebanyak 2x lipat pada kelompok kontrol positif (KP) dibanding kelompok normal (KN) ($p<0,05$) yang dapat terlihat pada (tabel 4).

Sedangkan pada kelompok perlakuan, setelah induksi kombucha daun sirsak dosis 0,5mL, 1mL, dan 1,5mL didapatkan penurunan kadar LDH berturut turut 27,6%, 28,7, dan

29,6%. Namun, berdasarkan hasil uji statistik antar kelompok perlakuan tidak didapatkan perbedaan yang signifikan ($p>0,05$). Dosis optimal yang menunjukkan hasil penurunan yang signifikan didapatkan pada perlakuan (P1) dengan dosis 0,5mL.

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

Kelompok Perlakuan	Jumlah (n)	Mean $\pm$ SD (U/L)
Kontrol Negatif	5 tikus	67,0 $\pm$ 6,79a
Kontrol Positif	5 tikus	131,35 $\pm$ 17,3b
Perlakuan 1 (0,5mL)	5 tikus	95,0 $\pm$ 5,48c
Perlakuan 2 (1mL)	5 tikus	93,6 $\pm$ 4,07c
Perlakuan 3 (1,5mL)	5 tikus	92,4 $\pm$ 8,67c

Keterangan:

a: Menunjukkan perbedaan signifikan antara KN dengan KP, P1, P2, P3

b: Menunjukkan perbedaan signifikan antara KP berbeda signifikan dengan KN, P1, P2, P3

PEMBAHASAN

*Pengaruh Parasetamol Dosis Toksik terhadap kadar Bilirubin dan LDH Tikus *Wistar* Jantan.*

Induksi parasetamol dosis toksik 2,5 g/kgBB/hari pada hewan coba tikus wistar jantan selama 7 hari menunjukkan bahwa kadar Bilirubin kelompok KP meningkat dibandingkan KN (0,777: 0,252 mg/dL) sebesar 208,3 % atau sebanyak 3x lipat, ($p<0,05$). Kadar normal bilirubin adalah 0,1-0,2 mg/dL.¹⁸ Pada kadar LDH meningkat sebesar 95,6% atau sebanyak 2x lipat KP meningkat dibandingkan KN (131,35: 67,04 U/L ($p<0,05$)). Kadar normal LDH adalah 80-240 U/L.²⁹ Keterkaitan hasil ini dan kerusakan hepar sesuai berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sukohar (2019) bahwa pemberian parasetamol dosis toksik 1,8 g/kgBB/hari selama 7 hari menyebabkan kerusakan sel hepar.¹⁹ Penelitian lain yang dilakukan Manatar (2013) bahwa pemberian parasetamol dosis toksik 2,5 g/kgBB/hari selama 4 hari menyebabkan kerusakan sel hepar pada gambaran histologi berupa degenerasi lemak, degenerasi hidropik, dan nekrosis hepatosit.²⁰

Parasetamol merupakan obat yang sering dikonsumsi sebagai analgesik dan antipiretik, parasetamol merupakan senyawa kimia yang diproses oleh tubuh melalui metabolisme, dan termasuk dalam xenobiotik. Xenobiotik adalah senyawa yang secara alaminya ada dalam bahan makanan tanaman

yang tidak memiliki nutrisi dan berpotensi toksik.³ Kerusakan hepar akibat parasetamol hepatotoksitas timbul dari pembentukan metabolit reaktif di dalam hepar. sebagian besar parasetamol dimetabolisme melalui konjugasi dengan asam glukuronat dan asam sulfat. Namun, sisanya dioksidasi oleh enzim sitokrom P-450 mikrosomal, menghasilkan metabolit elektrofilik yang disebut *N-asetyl-p-benzoquinonimin (NAPQI)*, yang bersifat hepatotoksik.²¹²²

Pengaruh Kombucha Daun Sirsak terhadap kadar Bilirubin dan LDH Tikus Wistar Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik

Pemberian kombucha daun sirsak (*Annona Muricata L.*) pada kelompok perlakuan dengan dosis 0,5mL, 1mL, 1,5mL terhadap kadar bilirubin menunjukkan hasil yang signifikan hampir di semua kelompok ($p < 0,05$). Pemberian kombucha daun sirsak pada ketiga dosis menyebabkan penurunan kadar bilirubin dibandingkan kelompok KP berturut turut sebesar 14,8%, 34,7%, dan 46,9%. Perbedaan signifikan antar perlakuan ditunjukkan pada kelompok perlakuan dengan dosis 0,5mL dan 1mL ($p < 0,05$). Namun, pada kelompok perlakuan dosis 1mL dan 1,5mL (P2 dan P3) dosis kombucha menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa kombucha daun sirsak dengan dosis 1mL merupakan dosis yang optimal untuk menurunkan kadar bilirubin, hal ini diduga kuat disebabkan karena metabolit reaktif toksik dan radikal bebas dapat mengganggu integritas membran sel dan menyebabkan kerusakan sel hepatosit. Kondisi ini menyebabkan gangguan sintesa bilirubin di hepar.

Secara fisiologis, eritrosit akan dipecah menjadi heme yang akan diubah menjadi biliverdin. Biliverdin akan dikonjugasi menjadi bilirubin. Selain itu, kerusakan sel hepatosit radikal bebas juga akan merusak epitel dari ductus biliaris yang menyebabkan penyumbatan dari duktus biliaris. Sehingga menyebabkan terganggunya fungsi hepar dan menyebabkan peningkatan kadar bilirubin dalam darah.⁷ Kombucha daun sirsak diduga kuat mencegah terjadi hal ini yang disebabkan oleh senyawa aktif dari kombucha daun sirsak yang memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mencegah terjadinya kerusakan sel hepatosit hepar yang disebabkan karena gangguan integritas membran sel setelah pemberian parasetamol dosis toksik. Dosis kombucha daun sirsak yang semakin tinggi menunjukkan semakin menurunkan kadar bilirubin.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rihaddatul (2021) kandungan senyawa aktif flavonoid, tannin, alkaloid yang terkandung didalam tanaman pepaya mampu menurunkan kadar bilirubin total pada tikus wistar setelah induksi parasetamol.²⁴ Kemudian penelitian Damayanti, *et al* (2024) membuktikan jika kombucha dari daun sirsak mempunyai potensi antioksidan lebih kuat dibandingkan kombucha dari bunga telang dan kombinasi keduanya yang mana hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Khaerah (2018), pada saat pembuatan kombucha, proses fermentasi oleh bakteri dan yeast didalamnya akan meningkatkan kandungan senyawa yang berperan dalam menangkal radikal bebas.²⁵

Pemberian kombucha daun sirsak (*Annona Muricata L.*) dosis 0,5mL, 1mL, dan 1,5mL didapatkan penurunan kadar LDH berturut turut 27,6%, 28,7, dan 29,6%. Berdasarkan hasil uji statistik yang sudah dilakukan, dapat diketahui bahwa kombucha daun sirsak dapat menurunkan kadar LDH pada penelitian ini. Namun, pada kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan meskipun kadarnya semakin menurun dengan dosis yang semakin tinggi. Hal ini diduga kuat disebabkan karena kerja kombucha dalam menghambat radikal bebas dan agen antiinflamasi sehingga nekrosis sel hepar tidak terjadi. Mekansime kombucha daun sirsak sebagai hepatoprotektif melalui kandungan senyawa fenolik yang berperan sebagai scavenger radikal bebas yang bekerja dengan cara mendonorkan elektron pada kondisi stress oksidatif dan pengaktifan reaksi fenton, serta kerjanya sebagai agen antiinflamasi dengan menghambat enzim mediator pro-inflamasi dan mencegah terjadinya inflamasi. Namun, pada kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan mungkin dikarenakan dosis yang diberikan tidak jauh berbeda.

Dalam kasus kerusakan sel hepar, terjadi peningkatan proses metabolisme oleh sel untuk melakukan proliferasi dan menghindari sinyal kematian sel. Salah satu jalur metabolik yang diaktifkan adalah glikolisis, yang penting untuk sintesis asam amino, asam lemak, dan produksi ATP. Laktat dehidrogenase (LDH) adalah salah satu enzim kunci dalam proses metabolisme ini. Fungsinya adalah mengubah piruvat menjadi laktat, yang berperan dalam produksi ATP. LDH sendiri adalah enzim yang melepaskan hidrogen dan ditemukan secara luas di berbagai jaringan, termasuk ginjal, otot rangka, hati, dan otot jantung. Oleh karenanya, peningkatan kadar LDH dalam darah menjadi indikator adanya

kerusakan jaringan pada organ-organ tersebut. Nilai normal LDH berkisar antara 80–240 U/L.⁹

Kombucha daun sirsak dengan dosis 0,5mL merupakan dosis optimal dalam menurunkan kadar LDH. Adapun dosis 1mL dan 1,5 mL tidak menunjukkan hasil rentang perbedaan yang berbeda jauh. Oleh karena itu, dosis 0,5 mL merupakan dosis yang optimal karena menunjukkan perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan (dosis 0,5mL) terhadap kelompok Kontrol Positif (KP). Sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis 0,5 mL merupakan dosis yang optimal.

Peran Karakteristik Pada Hasil Populasi Riset

Tikus Wistar Jantan (*Rattus Norvegicus*) digunakan sebagai hewan percobaan. Pemilihan tikus Wistar secara umum didasarkan berdasarkan karakteristiknya yang memiliki sekitar 90% gen yang identik dengan manusia.³⁰. Secara spesifik, tikus Wistar juga memiliki metabolisme yang relative cepat, menjadikannya lebih sensitif untuk penelitian yang berkaitan dengan metabolisme tubuh. Tikus Wistar berjenis kelamin jantan yang digunakan dalam penelitian ini agar terhindar dari siklus estrus atau kehamilan pada tikus betina.³¹

KESIMPULAN

1. Pemberian kombucha daun sirsak (*Annona muricata*L.) pada dosis 0,5ml, 1ml, dan 1,5ml dapat menurunkan kadar Bilirubin total dan kadar LDH tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik, dengan dosis 1mL menunjukkan hasil signifikansi tertinggi dalam menurunkan kadar Bilirubin serta dosis 0,5mL dalam menurunkan kadar LDH tikus.
2. Pemberian kombucha daun sirsak (*Annona muricata*L.) memiliki efek hepatoprotektif dan semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin menurunkan kadar Bilirubin total dan kadar LDH tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

SARAN

1. Perlu dilakukan perluasan terhadap dosis induksi kombucha daun sirsak (*Annona Muricata*L.) yang diberikan kepada hewan coba untuk memberikan hasil yang lebih signifikan.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut terkait lama pemberian kombucha daun sirsak (*Annona Muricata*L.) untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.

3. Konsistensi perlakuan pada semua kelompok dengan pemberian aquadest yang sama demi menghindari bias pada hasil penelitian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sehubungan atas perannya sebagai *peer reviewer*, penulis berterimakasih kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes., PhD dan kepada FK UNISMA serta ikatan Orangtau Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang sudah memberikan pendaan riset.

REFERENSI

1. Dwininda W, Dwira S, Paramita RI. Analisis Polimorfisme Gen CYP pada Metabolisme Obat Analisis Polimorfisme Gen CYP pada Metabolisme. **Pratista Patologi Journal** 2023;8(1):5–16.
2. Rodwell VW [et. al]. Harper's illustrated biochemistry 30th edition (30). New York: McGraw Hill. **Jurnal Pangan dan Agroindustri**. 2015;4(1):436–42.
3. Prawiti, Prabowo S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Jaringan Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi. **Hang Tuah Medical Journal**. 2018;15(2):177.
4. Bateman DJB, Dargan PI, Archer JRH, Davies CL, Dines AM, Wood DM, et al. Outcomes from massive paracetamol overdose: a retrospective observational study. **Journal Clinical Pharmacology**. 2017;83(6):1263–72.
5. Gumbrevičius G, Sveikata A, Sveikatiene R, Stankevičius E. Paracetamol and simvastatin: A potential interaction resulting in hepatotoxicity. **Medicina Kaunas**. 2012;48(7):379–81.
6. Suleman IF, Sulistijowati R, Manteu SH, Nento WR, Sukohar A, Soleha TU, et al. Analisis Polimorfisme Gen CYP pada Metabolisme Obat Analisis Polimorfisme Gen CYP pada Metabolisme. **Jambura Fish Process Journal**. 2018;12(1):123–8.
7. Kavita Gulati, Mohd Rafi Reshi, Nishant Rai, Arunabha Ray. Hepatotoxicity: Its Mechanisms, Experimental Evaluation and Protective Strategies. **American Journal Pharmacology**. 2018;1(1):1004.
8. Rusady DO. Pengaruh Waktu Penundaan

- 3 Jam Terhadap Kadar Bilirubin Total Dalam Serum. **Universitas Binawan, Indonesia**. 2022;1–67.
9. Darsini, Cahyono EA. Efektivitas Konsumsi Air Alkali Terhadap Kadar Ldh Penderita Kanker Kelenjar Getah Bening. **Jurnal Keperawatan**. 2017;10(1):1–9.
 10. Zubaidah E, Yurista S, Rahmadani NR. Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples. **IOP Conferencion Ser Earth Environ Sci**. 2018;131(1):0–8.
 11. Freo U, Ruocco C, Valerio A, Scagnol I, Nisoli E. Paracetamol: A review of guideline recommendations. **Journal Clinical Med**. 2021;10(15):1–22.
 12. Khakim MI. Program studi kedokteran fakultas kedokteran universitas islam malang 2020. **Repository Universitas Islam Malang**. 2020;1.
 13. Sativa AI, Zakiyah R, Damayant DS,. Effects Essential Oils of *Annona muricata* Linn . on Total Bilirubin , Bilirubin Direct and Indirect Bilirubin Serum in Male Rats Induced by Rifampicin. 2016. **Jurnal Fakultas Kedokteran UNISMA**.
 14. Aloulou A, Hamden K, Elloumi D, Ali MB, Hargafi K, Jaouadi B, et al. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. **BMC Complement Altern Medicine**. 2012;12.
 15. Beeton C, Garcia A, Chandy KG. Drawing blood from rats through the saphenous vein and by cardiac puncture. **Journal of Visualized Experiments**. 2007;(7):1–2.
 16. Fatimah F, Widyaningrum I, Triliana R. Pengaruh Frekuensi Stres Fisik terhadap Kadar Laktat Dehidrogenase (LDH) Serum dan Jumlah Neuromuscular Junction (NMJ) Otot paha Tikus Wistar Betina. **Journal Bio Komplementer Medicine**. 2020;7(1).
 17. Lukman M, Christin V. Analisis Profil Bobot Badan Tikus dan Gejala Toksis Pada Pemberian Ekstrak Etanol Daun Parang Romang (*Boehmeria virgata*) Terhadap Tikus Putih (*Rattus novergicus*). **Journal Farm Galen (Galenika J Pharmacy)**. 2020;6(1):1–6.
 18. Hansen TWR, Wong RJ, Stevenson DK. Molecular physiology and pathophysiology of bilirubin handling by the blood, liver, intestine, and brain in the newborn. **American Physiological Rev**. 2020;100(3):1291–346.
 19. Sukohar A, Soleha TU, Hafizfadillah D. Pengaruh Ekstrak Etanol Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn) Sebagai Antioksidan terhadap Kadar SGPT (Serum Glutamic Pyruvate Transaminase) serta SGOT (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase) Tikus Galur Sprague dawley yang Diinduksi Parasetamol. **Jurnal Kedokteran Unila**. 2019;3(19):123–8.
 20. Manatar AF, Wangko S, Kaseke MM. Gambaran Histologi Hati Tikus Wistar Yang Diberi Virgin Coconut Oil Dengan Induksi Parasetamol. **Journal Biomedik**. 2013;5(1):60–7.
 21. Nurfadhila L, Rahmawati M, Fitri NK, Nibullah SG, Windari W. Analisis senyawa acetaminophen dalam sampel biologis dengan berbagai macam metode. **Journal Pharmacy Science**. 2023;6(3):1221–37.
 22. Chang CW, Beland FA, Hines WM, Fuscoe JC, Han T, Chen JJ. Identification and categorization of liver toxicity markers induced by a related pair of drugs. **International Journal Medical Science**. 2011;12(7):4609–24.
 23. Mayang A, Abdul A, Ariastuti R. Uji Toksisitas Akut Infusa Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) pada Hewan Uji Mencit. **Jurnal Farmasetis**. 2021;10(1):37–44.
 24. Aisy AR, Ratnaningrum K, Nugraheni DM. Hepatoprotective Effects Of Papaya Leaves Extract (*Carica Papaya* L.) With Increased Dose: A Study Of Total Bilirubin Levels Of Wistar Rats That Given Paracetamol. **Ahmad Dahlan Medical Journal**. 2021;2(2):46–57.
 25. Damayanti YRB. Antibacterial And Antioxidant Potential of Three Kinds of Kombucha. 2024;1–10. **Jurnal fakultas kedoktearan UNISMA**
 26. Purwaningsih I, Sapriani R, Indrawati R. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kesum (*Polygo-num minus* Huds.) Metode DPPH. **Jurnal Laboratorium Khatulistiwa**. 2018;2(2):161–5.
 27. Rachman F. Uji Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT Pada

- Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida. **Digital Respiratory Universitas Jember**. 2020.
28. Suleman IF, Sulistijowati R, Manteu SH, Nento WR. Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia hemprichii*). **Jambura Fish Process Journal**. 2022;4(2):94–102. **Journal Repository Univ Hassanudin**
 29. McCready JL, Nichol B, Steen M, Unsworth J, Comparcini D, Tomietto M. Understanding the barriers and facilitators of vaccine hesitancy towards the COVID-19 vaccine in healthcare workers and healthcare students worldwide: **An Umbrella Review** . 2023 Vol. 18 page 1–41.
 30. Gelfand EW. Mice are a good model of human airway disease. **American Journal Respiratory Critical Care Medicine**. 2002;166(1):5–6.
 31. Verboket RD, Leiblein M, Janko M, Schaible A, Brune JC, Schröder K, et al. From two stages to one: acceleration of the induced membrane (Masquelet) technique using human acellular dermis for the treatment of non-infectious large bone defects. **Europa Journal Trauma Emergency Surgery**. 2020;46(2):317