



Pengaruh Pemberian Madu Trigona Terhadap Perbaikan Tes Fungsi Hati Tikus yang Mengalami *Drug-induced Liver Injury*

Sigit Dwi Pramono^{1*}, Rosdiana Natzir², Syahrijuita Kadir³, Gita Vita Soraya⁴,
Muhammad Husni Cangara⁵, Burhanuddin Bahar⁶

^{1*}Konsentrasi Studi Biokimia dan Biologi Molekuler, Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Universitas Hasanuddin Makassar, Email: sigitdwipramono09@gmail.com, Tlp: +6281241485691

²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin Makassar, Email: rosdianarnatzir@yahoo.com

³Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin Makassar, Email: syahrikdr@yahoo.com

⁴Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin Makassar, Email: gsorayawahab@gmail.com

⁵Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin Makassar, Email: drhusni1977@gmail.com

⁶Departemen IKM-IKK, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin Makassar
* Alamat korespondensi: sigitdwipramono09@gmail.com

Diterima: Februari 2022

Direview: Maret 2022

Dimuat: Juli 2022

ABSTRACT

Drug-induced Liver Injury (DILI) can be caused by the use of drugs such as acetaminophen which are metabolized in the liver. Liver damage is detected through an increase in the transaminase enzyme. Trigona honey contains high flavonoids and has a protective role against inflammation and oxidative stress. This study aims to determine the effect of trigona honey as a heat protector on the levels of the enzyme transaminase in Sprague-Dawley (SD) rats induced by acetaminophen. This study used a post-test design with a control group design where 12 Rattus norvegicus SD strains were divided into four groups: negative control, positive control, treatment 1, and treatment 2. treatment groups 1 and 2 with a dose of 9.3 g/kg BW and 18.6 g/kg BW for 7 days, respectively. Measurement of ALT and AST on days 1, 8, and 15 using spectrophotometry. Statistical test using One Way Anova. The results showed a significant difference in ALT (p-value=0.000) and AST (p-value=0.000) levels on day 15 between the group that was given trigona honey and not after the induced acetaminophen. In conclusion, trigona honey has a hepatoprotective effect in reducing ALT and AST levels.

Keywords: Acetaminophen, Drug-induced liver injury (DILI), Trigona Honey, Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST)

ABSTRAK

Drug-induced Liver Injury (DILI) dapat disebabkan oleh penggunaan obat seperti acetaminophen yang mengalami metabolisme di hati. Kerusakan hati dideteksi melalui peningkatan enzim transaminase. Madu trigona mengandung flavonoid yang tinggi dan memiliki peran protektif terhadap inflamasi dan stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian madu trigona sebagai hepatoprotektor terhadap kadar enzim transaminase tikus Sprague-Dawley (SD) yang diinduksi acetaminophen. Penelitian ini menggunakan desain post-test with control group design dimana 12 ekor *Rattus norvegicus* galur SD dibagi dalam empat kelompok: kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2. Semua kelompok kecuali kontrol negatif diinduksi acetaminophen selama 7 hari dilanjutkan pemberian madu kelulut pada kelompok perlakuan 1 dan 2 dengan dosis masing-masing 9,3 g/kgBB dan 18,6 g/kgBB selama 7 hari. Pengukuran ALT dan AST pada hari ke-1, ke-8 dan ke-15 menggunakan spektrofotometri. Uji statistik menggunakan *One Way Anova*. Hasil penelitian didapatkan perbedaan signifikan kadar ALT (nilai $p=0,000$) dan AST (nilai $p=0,000$) pada hari ke-15 antara kelompok yang diberikan madu trigona dengan tidak diberikan setelah diinduksi acetaminophen. Sebagai kesimpulan, madu trigona memiliki efek hepatoprotektor menurunkan kadar ALT dan AST.

Kata kunci: Acetaminophen, *Drug-induced Liver Injury* (DILI), Madu Trigona, Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST)

PENDAHULUAN

Drug-induced Liver Injury (DILI) atau kerusakan hati karena imbas obat merupakan masalah yang sering timbul akibat penggunaan obat-obatan. Sebagian besar kasus DILI bersifat ringan dan membaik setelah penghentian obat. Namun, beberapa kasus dapat menjadi berat dan menyebabkan gagal hepar akut atau *Acute Liver Failure* (ALF) (1).

Alasan utama yang menjelaskan kerentanan hati terhadap reaksi obat yang merugikan kemungkinan berhubungan dengan peran sentralnya dalam biotransformasi (metabolisme) senyawa xenobiotik yang masuk ke dalam saluran pencernaan (2). Di Amerika Serikat dan Inggris Raya penggunaan obat acetaminophen yang berlebihan merupakan penyebab paling sering dari gagal hati akut. Evaluasi mekanisme kerusakan hati karena imbas obat (DILI) menunjukkan bahwa mitokondria adalah target penting untuk toksisitas obat, baik secara langsung maupun tidak langsung melalui pembentukan metabolit reaktif (3).

Selama lima belas tahun terakhir terjadi peningkatan publikasi mengenai kerusakan hati karena imbas obat (DILI). Hal ini menunjukkan bahwa DILI adalah topik hangat dikalangan akademisi, klinisi, perusahaan farmasi, dan pengatur regulasi. Di Amerika Serikat sekitar 1600 hingga 2000 orang per tahun mengalami gagal hepar akut. Acetaminophen (paracetamol) adalah obat yang menjadi penyebab pada 40%-50% kasus tersebut, hampir sama dengan frekuensi gagal hepar akut karena hepatitis virus akut (4).

Acetaminophen atau yang lebih dikenal dengan nama paracetamol adalah senyawa kimia yang berasal dari nama kimianya N-acetyl-para-aminophenol. Senyawa kimia ini sering digunakan sebagai obat analgesik dan antipiretik. Setelah mengkonsumsi acetaminophen sekitar 90% senyawa mengalami metabolisme di hati dalam konjugasi dengan asam glukoronat (50-60%), asam sulfat (25-35%), dan sistin (sekitar 3%) untuk membentuk metabolit tidak aktif secara farmakologis, yang dikeluarkan melalui urin (5-7).

Sekitar 5% acetaminophen mengalami N-hidroksilasi dalam hati

dengan keterlibatan enzim sitokrom P450 terutama CYP2E1 untuk membentuk metabolit toksik N-asetil-benzoquinon imin (NAPQI) yang sangat cepat dinonaktifkan oleh kelompok glutathione sulfhidril dan diekskresikan melalui urin sebagai asam merkapturat. Overdosis acetaminophen atau paracetamol akan menjadi obat yang berbahaya dan mengancam jiwa karena metabolit NAPQI yang sangat reaktif secara kovalen berikatan dengan makromolekul hepatosit (sel hati) yang menyebabkan penurunan sistem enzimatik dan kerusakan struktural dan metabolik pada hati (8,9).

Petugas kesehatan profesional yang menghadapi pasien dengan kerusakan hati karena imbas obat (DILI) dihadapkan dengan berbagai penyakit hati lain yang tidak berhubungan dengan obat yang memiliki insiden dan tingkat prevalensi yang tinggi, hal ini dapat mengacaukan diagnosis DILI. Selama beberapa dekade, analisis serial tes fungsi hati seperti ALT (Alanine Aminotransferase), AST (Aspartate Aminotransferase), ALP (Alkaline Phosphatase), dan Bilirubin Total secara sederhana telah digunakan untuk mendeteksi DILI (10).

ALT (Alanine Aminotransferase) atau yang lebih sering dikenal sebagai SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase) merupakan enzim transaminase yang dimana alanin mengkatalisis reaksi pemindahan gugus NH_2 dari asam amino alanin ke asam alfa ketoglutarat. SGPT akan mengkatalisis pemindahan gugus amino dari alanin kepada ketoglutarat untuk membentuk piruvat dan glutamat. Enzim ini banyak terdapat di dalam sel-sel jaringan tubuh dan terutama di sel-sel hati. Kenaikan kadar SGPT dalam darah berhubungan dengan kerusakan sel hati. Pada kerusakan membran sel hati, kenaikan kadar SGPT lebih menonjol (11,12).

AST (Aspartate Aminotransferase) atau yang lebih sering

dikenal sebagai SGOT (Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase) merupakan enzim transaminase yang mengkatalisis reaksi pemindahan gugus NH_2 ke asam oksoglutarat sehingga terbentuk asam glutamat. Sumber gugus amino bagi reaksi transaminase yang dikatalisis SGOT ialah suatu asam amino lain, yaitu asam aspartat. Akibatnya, sesudah reaksi transaminase asam amino ini berubah menjadi suatu asam alfa-keto yang lain yaitu asam oksaloasetat. SGOT sebagian besar terikat dalam organel dan merupakan enzim yang dominan di dalam sel hati. Pada kerusakan hati akan terjadi kenaikan kadar SGOT (12,13).

Oleh karena itu, pemberian madu trigona sebagai anti-inflamasi dan anti oksidan dengan efek samping yang lebih sedikit atau tanpa efek samping untuk mengatasi kerusakan hati karena imbas obat (DILI). Beberapa bukti kuat dari studi epidemiologi telah menunjukkan bahwa konsumsi makanan yang kaya polifenol dapat menghambat proses inflamasi sistemik. Dalam hal ini, madu trigona atau *stinglees bee honey* (madu lebah yang tidak menyengat) kaya akan polifenol jika dibandingkan dengan jenis madu lainnya (14).

Berbagai polifenol yang beberapa di antaranya juga terdapat dalam madu trigona telah terbukti menghambat perkembangan banyak penyakit. Hal tersebut bertindak efektif sebagai anti-inflamasi atau anti peradangan yang menggambarkan sifat potensial terhadap spesies oksigen reaktif (ROS) (15).

Flavonoid dan asam fenolik adalah kelompok polifenol yang paling umum ditemukan di dalam madu sebelumnya. Masing-masing senyawa polifenol umum yang ada di dalam madu memiliki efek terapi potensial yang berbeda (16). Madu trigona telah terbukti menunjukkan aktivitas antioksidan yang spesifik dan menunjukkan kemampuan luar biasa dalam mengurangi peradangan dan infeksi (17).

Madu trigona berasal dari lebah genus trigona yang merupakan genus terbesar dari spesies lebah yang tidak menyengat (*stingless bee*) yang berasal dari Neotropik dan kawasan Indo-Australia (18). Mengonsumsi madu trigona selama dua minggu secara terus menerus dengan dosis 1,2 g/kg pada orang yang sehat telah menunjukkan peningkatan status antioksidan (19). Selain itu, uji klinis telah membuktikan bahwa mengonsumsi makanan yang ditambah dengan 1,5 g/kg madu trigona meningkatkan tingkat antioksidan (20).

Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan studi lebih lanjut terkait bagaimana pengaruh pemberian madu trigona sebagai antioksidan terhadap tes fungsi hati pada tikus yang telah mengalami kerusakan hati karena imbas obat (DILI) dengan mengukur kadar ALT dan AST yang telah diinduksi menggunakan acetaminophen atau paracetamol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu trigona sebagai antioksidan terhadap tes fungsi hati pada tikus yang telah mengalami kerusakan hati karena imbas obat (DILI) dengan mengukur kadar ALT dan AST yang telah diinduksi menggunakan acetaminophen. Adapun manfaat dari penelitian ini diharapkan mampu membuktikan bahwa madu trigona dapat memperbaiki kerusakan hati karena imbas obat (DILI) pada tikus dengan mengukur kadar ALT dan AST sebagai tes fungsi hati yang paling sering digunakan akibat telah diinduksi menggunakan acetaminophen.

METODE PENELITIAN

Rancangan/Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan desain *post-test with control group design*. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok secara random dengan jumlah sampel minimal

masing-masing kelompok adalah 3 ekor tikus ($n=3$) dengan menggunakan rumus jumlah sampel minimal $n = DF/k+2$ (21). Kelompok A adalah tikus tanpa perlakuan khusus, kelompok B adalah tikus yang diberikan acetaminophen selama 7 hari, kelompok C adalah tikus yang diberikan acetaminophen hari ke 1-7 kemudian dilanjutkan dengan pemberian madu trigona 9,3 g/kgbb/hari ke 8-14, dan kelompok D adalah tikus yang diberikan acetaminophen hari ke 1-7 kemudian dilanjutkan dengan pemberian madu trigona 18,6 g/kgbb/hari ke 8-14. Penelitian ini dilakukan selama 8 minggu.

Dosis pemberian acetaminophen yang digunakan pada hewan coba untuk menginduksi kerusakan hati adalah 2 g/kgbb (22). Acetaminophen diberikan per oral setiap hari melalui NGT. Dosis pemberian madu trigona yang disarankan untuk dikonsumsi adalah 1,5 g/kgbb diubah secara matematis menjadi dosis setara hewan uji tikus (*Animal Equivalent Dose*) adalah 9,3 g/kgbb untuk kelompok C dan dosis 2 kali lipat 18,6 g/kgbb untuk kelompok D (23,24). Madu trigona diberikan per oral setiap hari melalui NGT (*Nasogastric Tube*).

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 8-12 minggu dengan berat 200-250 gram sebanyak 12 ekor yang terlebih dahulu diadaptasi selama 2 minggu dan diberikan pakan dan minum secara *ad libitum*.

Pengambilan darah pada tikus melalui vena pada pleksus retroorbital dan dilakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum yang akan diperiksa. Pemeriksaan kadar ALT dan AST serum menggunakan teknik spektrofotometri pada hari ke-1, ke-8 dan ke-15 pada semua kelompok.

Sumber Data

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Proses pemeliharaan hewan uji dan pemeriksaan

sampel darah dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Uji UV enzimatis untuk penentuan kuantitatif ALT/SGPT dan AST/SGOT dalam serum menggunakan reagen @HUMAN dengan teknik spektrofotometri.

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2020.

Sasaran Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan dengan galur *Sprague dawley* yang diperoleh dari *gold mice farm* Makassar, Sulawesi Selatan. Besar sampel minimal dalam penelitian ini diperoleh berdasarkan rumus $n = DF/k + 1$, dan didapatkan hasil jumlah minimal sampel untuk masing-masing kelompok adalah 3 (21). Sampel dibagi kedalam 4 kelompok secara *simple random sampling* dengan rincian seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Pembagian Kelompok Sampel Penelitian

Kelompok	Kategori	Jumlah (n)
A	Tanpa perlakuan khusus	3
B	Acetaminophen	3
C	Acetaminophen + Madu Trigona 9,3 g/kgbb	3
D	Acetaminophen + Madu Trigona 18,6 g/kgbb	3

Kriteria inklusi untuk sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan *Sprague dawley*, umur 8-12 minggu, berat badan 200-250 gram, selama adaptasi 14 hari tidak sakit, aktivitas, dan tingkah laku normal.

Kriteria *drop out* sampel penelitian adalah jika selama adaptasi 14 hari tikus tampak sakit (gerakan tidak aktif) atau tikus mati selama eksperimen berlangsung.

Pengembangan Instrumen dan Teknik Pengumpulan Data

Setelah diadaptasi selama 2 minggu dan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*, semua kelompok tikus diambil darahnya sebanyak 1 ml melalui vena pada pleksus retroorbital pada hari ke-1 sebelum intervensi, kemudian hari ke-8, dan hari ke-15. Darah yang telah diambil dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA akan dilakukan sentrifugasi untuk mendapatkan serum yang akan diperiksa kadar ALT dan AST menggunakan teknik spektrofotometri dengan satuan U/l.

Teknik Analisis Data

Hasil pengukuran akan dianalisis menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Data kadar ALT dan AST yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji normalitas *Shapiro wilk* dan uji Homogenitas. Didapatkan kadar ALT dan AST berdistribusi normal dan varian antar kelompok homogen kemudian dilakukan uji *One Way Anova* untuk menguji perbedaan rata-rata antar kelompok dan uji lanjut menggunakan uji *post hoc* menggunakan uji *tukey*.

Penelitian dilaksanakan setelah mendapatkan Surat Rekomendasi Persetujuan Etik Nomor: 559/UN4.6.4.5.31/PP36/2020 dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

HASIL PENELITIAN

Kadar ALT dan AST pada Tikus sebelum intervensi hari ke-1

Rerata kadar ALT dan AST serum pada hewan uji sebelum intervensi hari ke-1 dapat dilihat tabel 2 yang menunjukkan rerata kadar ALT tertinggi adalah kelompok B yaitu 27,17 U/l dan rerata

kadar ALT terendah adalah kelompok A yaitu 20,59 U/. Sedangkan rerata kadar AST tertinggi adalah kelompok B yaitu 26,44 U/l dan rerata kadar AST terendah adalah kelompok A yaitu 20,49 U/l.

Berdasarkan uji *One Way Anova* didapatkan nilai p untuk kadar ALT adalah 0,290 dan nilai p untuk kadar AST adalah 0,359. Kedua hal ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar ALT dan AST serum hewan uji pada keempat kelompok tersebut tidak ada perbedaan secara signifikan sebelum dilakukan intervensi pada hari ke-1.

Kadar ALT dan AST pada Tikus setelah pemberian Acetaminophen hari ke-8

Rerata kadar ALT dan AST serum pada hewan uji setelah pemberian acetaminophen hari ke-8 dapat dilihat tabel 3 yang menunjukkan rerata kadar ALT tertinggi adalah kelompok B yaitu 60,08 U/l dan rerata kadar ALT terendah adalah kelompok A yaitu 22,32 U/l yang tidak diberikan intervensi. Sedangkan rerata kadar AST tertinggi adalah kelompok B yaitu 49,61 U/l dan rerata kadar AST terendah adalah kelompok A yaitu 20,95 U/l yang tidak diberikan intervensi.

Berdasarkan uji *One Way Anova* didapatkan nilai p untuk kadar ALT adalah 0,002 dan nilai p untuk kadar AST adalah 0,003. Kedua hal ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar ALT dan AST serum hewan uji pada keempat kelompok tersebut terdapat perbedaan secara signifikan setelah dilakukan intervensi pemberian acetaminophen selama 7 hari.

Perubahan kadar ALT dan AST serum hewan uji dapat dilihat pada gambar 1 yang menunjukkan terjadi peningkatan kadar ALT dan AST pada hari ke-8 jika dibandingkan hari ke-1. Pada kelompok A yang tidak mendapatkan intervensi tidak terjadi peningkatan kadar ALT dan AST yang signifikan, sedangkan pada kelompok B,

C, dan D yang diberikan acetaminophen terjadi peningkatan kadar ALT dan AST yang signifikan.

Kadar ALT dan AST pada Tikus setelah pemberian Madu Trigona hari ke-15

Rerata kadar ALT dan AST serum pada hewan uji setelah intervensi pemberian madu trigona hari ke-15 dapat dilihat tabel 4 yang menunjukkan rerata kadar ALT tertinggi adalah kelompok B yaitu 69,50 U/l yang tidak diberikan madu trigona dan rerata kadar ALT terendah adalah kelompok D yaitu 22,38 U/l yang diberikan madu trigona 18,6 g/kgBB. Sedangkan rerata kadar AST tertinggi adalah kelompok B yaitu 66,72 U/l yang tidak diberikan madu trigona dan rerata kadar AST terendah adalah kelompok A yaitu 21,66 U/l yang tidak dilakukan intervensi apapun.

Berdasarkan uji *One Way Anova* didapatkan nilai p untuk kadar ALT adalah 0,000 dan nilai p untuk kadar AST adalah 0,000. Kedua hal ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar ALT dan AST serum hewan uji pada keempat kelompok tersebut terdapat perbedaan secara signifikan setelah intervensi pemberian madu trigona selama 7 hari.

Perubahan kadar ALT dan AST serum hewan uji dapat dilihat pada gambar 2 yang menunjukkan terjadi penurunan kadar ALT dan AST pada hari ke-15 jika dibandingkan hari ke-8. Pada kelompok A yang tidak mendapatkan intervensi apapun tidak terjadi penurunan kadar ALT dan AST, sedangkan pada kelompok C dan D yang diberikan madu trigona terjadi penurunan kadar ALT dan AST. Untuk kelompok B yang telah diberikan acetaminophen dan tidak diberikan madu trigona tetap mengalami peningkatan kadar ALT dan AST.

Tabel 2. Perbandingan Tes Fungsi Hati (ALT dan AST) Pada Tikus Sebelum Intervensi Hari Ke-1

Variabel	Kelompok								P*
	A		B		C		D		
	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	
ALT (U/l)	20,59	± 3,05	27,17	± 5,81	22,29	± 1,11	25,03	± 4,89	0,290
AST (U/l)	20,49	± 2,97	26,44	± 5,44	21,65	± 1,52	24,20	± 5,28	0,359

*Uji One Way Anova

Tabel 3. Perbandingan Tes Fungsi Hati (ALT dan AST) Pada Tikus Setelah Pemberian Acetaminophen Hari Ke-8

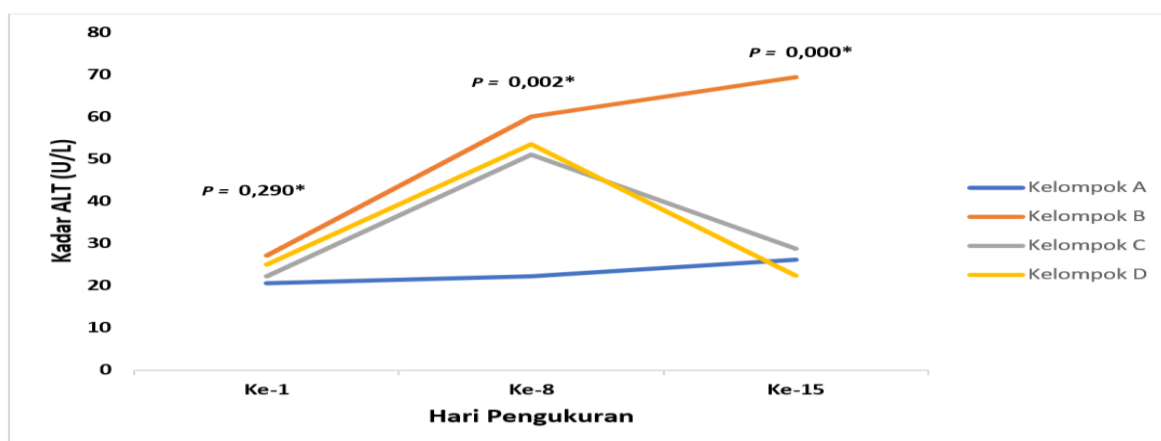
Variabel	Kelompok								P*
	A		B		C		D		
	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	
ALT (U/l)	22,32	± 4,90	60,08	± 12,03	51,05	± 4,97	53,60	± 8,02	0,002
AST (U/l)	20,95	± 2,64	49,61	± 11,27	45,28	± 4,28	52,99	± 8,46	0,003

*Uji One Way Anova

Tabel 4. Perbandingan Tes Fungsi Hati (ALT dan AST) Pada Tikus Setelah Pemberian Madu Trigona Hari Ke-15

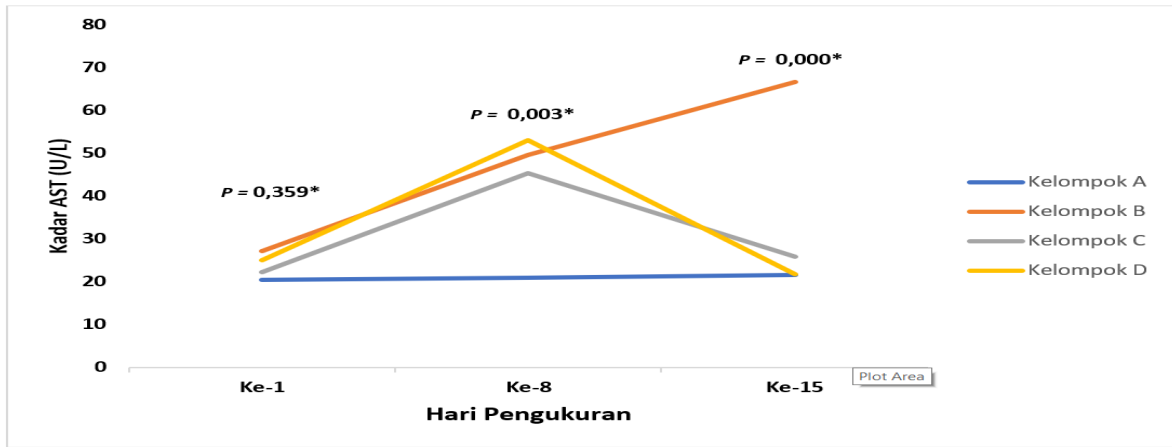
Variabel	Kelompok								P*
	A		B		C		D		
	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	Rerata	SD	
ALT (U/l)	26,25	± 5,92	69,50	± 6,02	28,23	± 1,51	22,38	± 6,43	0,000
AST (U/l)	21,66	± 2,59	66,72	± 5,39	25,81	± 0,65	21,72	± 5,16	0,000

*Uji One Way Anova



*Uji One Way Anova

Gambar 1. Grafik Perubahan Rata-Rata Kadar ALT (U/L) Hewan Uji Pada Setiap Kelompok



*Uji One Way Anova

Gambar 2. Grafik Perubahan Rata-Rata Kadar AST (U/L) Hewan Uji Pada Setiap Kelompok

PEMBAHASAN

Drug-induced Liver Injury karena pemberian acetaminophen

Pada penelitian ini hewan uji diinduksi menggunakan acetaminophen dengan dosis toksik 2 g/kgbb yang diberikan secara oral selama 7 hari untuk mengalami *Drug-induced Liver Injury* (DILI) atau kerusakan hati karena imbas obat (22). Hasil penelitian pada tabel 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan nilai rata-rata kadar serum ALT (Alanine Aminotransferase) dan AST (Aspartate Aminotransferase) pada hari ke-8 setelah pemberian acetaminophen. Hal ini berdasarkan hasil uji statistik yang menunjukkan nilai p lebih kecil dari 0,05. Pada gambar 1 dan 2 menunjukkan hasil bahwa kelompok B, C, dan D yang diberikan acetaminophen mengalami peningkatan kadar ALT dan AST yang signifikan pada hari ke-8 dibandingkan dengan kelompok A yang tidak diberikan acetaminophen. Ini disebabkan karena pemberian acetaminophen atau paracetamol yang melebihi dosis normal menyebabkan penurunan sistem enzimatis dan kerusakan struktural dan metabolik pada hati. Hal ini disebabkan oleh senyawa metabolit NAPQI yang merupakan hasil metabolisme acetaminophen sangat reaktif secara kovalen berikatan dengan makromolekul hepatosit (sel hati) (8,9).

Drug-induced Liver Injury karena pemberian acetaminophen dapat menginduksi respon inflamasi dengan pembentukan spesies oksigen reaktif oleh sel Kupffer dan neutrofil. Jika tidak didetoksifikasi dengan benar, oksidan yang dihasilkan secara ekstraseluler ini dapat berdifusi ke dalam hepatosit dan memicu disfungsi mitokondria dan stres oksidan, yang kemudian menginduksi MPT (*Membrane Permeability Transition*) dan kematian sel nekrotik (3). Sebagian besar dosis dikonjugasikan oleh UDP-glucuronosyltransferases (UGT) dan sulfotransferase (SULT) menjadi metabolit yang diekskresikan dalam urin. Acetaminophen yang tersisa dimetabolisme terutama oleh CYP2E1 dan pada tingkat yang lebih kecil oleh CYP1A2 dan 3A4 menjadi metabolit toksik yang sangat reaktif yaitu N-acetyl-para-quinone imine (NAPQI). Metabolit ini berikatan secara khusus dengan protein mitokondria, terutama dalam kondisi depleksi Glutathione, merusak ATP-sintase mitokondria, dan mengurangi produksi ATP yang akan memicu nekrosis sel (10).

Dalam praktis klinis, diagnosis DILI dapat dicurigai pada pasien dengan peningkatan kadar serum ALT dan AST (10). Alanine aminotransferase (ALT) dan aspartate aminotransferase (AST) adalah biomarker yang umum digunakan untuk kerusakan hati. Selain di jaringan hati,

AST juga terdapat di jantung dan otot rangka serta di dalam eritrosit, menjadikan ALT sebagai penanda yang paling spesifik untuk kerusakan hati (25). AST dan ALT telah digunakan sebagai penanda cedera hepatoseluler, AST berada di sitoplasma dan AST di mitokondria (26).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Galal R dkk (2012), menunjukkan pemberian parasetamol (2 g/kgbb, po) pada tikus yang puasa menghasilkan peningkatan besar-besaran pada kadar ALT dan AST serum. Beberapa peneliti telah melaporkan peningkatan serum transaminase setelah pemberian dosis toksik parasetamol pada tikus (22).

Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Mahaldar K dkk (2020), Overdosis parasetamol menyebabkan kerusakan sel-sel hati yang menyebabkan peningkatan serum aminotransferase pada hewan uji tikus *Sprague dawley*. Stres oksidatif memainkan peran kunci dalam patogenesis hepatotoksitas yang diinduksi parasetamol pada hewan uji tersebut (27).

Pemberian madu trigona memperbaiki tes fungsi hati akibat Drug-induced liver injury menggunakan acetaminophen

Pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa terdapat pengaruh pemberian madu trigona sebagai antioksidan terhadap tes fungsi hati pada tikus yang telah mengalami kerusakan hati karena imbas obat (DILI) dengan mengukur kadar ALT dan AST yang telah diinduksi menggunakan acetaminophen. Pada Tabel 4 perbandingan tes fungsi hati (ALT dan AST) pada tikus setelah pemberian madu trigona hari ke-15 menunjukkan hasil nilai p lebih kecil dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diberikan madu trigona dengan yang tidak diberikan madu trigona.

Selain itu, pada gambar 1 dan 2 pada tikus setelah pemberian acetaminophen hari ke-8 dan setelah

pemberian madu trigona hari ke-15 (U/I) menunjukkan hasil bahwa terjadi penurunan kadar ALT dan AST pada kelompok C yang diberikan madu trigona 9,3 g/kgBB dan kelompok D yang diberikan madu trigona 18,6 g/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi perbaikan tes fungsi hati setelah pemberian madu trigona pada tikus yang telah mengalami kerusakan hati karena imbas obat (DILI) karena acetaminophen. Hal ini berhubungan dengan berbagai senyawa polifenol yang terdapat di dalam madu trigona yang bertindak efektif sebagai anti-inflamasi atau anti peradangan yang menggambarkan sifat potensial terhadap spesies oksigen reaktif (ROS), terutama senyawa flavonoid dan asam fenolik (15–17).

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Galal R dkk (2012), menunjukkan hasil bahwa madu dapat digunakan sebagai agen hepatoprotektif yang efektif terhadap kerusakan hati akibat parasetamol. Hal ini berhubungan dengan kemampuan madu untuk mengurangi peroksidasi lipid dan meningkatkan pertahanan antioksidan terhadap radikal bebas seperti ROS (22).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ranneh Y dkk (2019) bahwa suplementasi SBH (*Stingless Bee Honey*) atau madu trigona memberikan perlindungan terhadap CSSI (*Chronic Subclinical Systemic Inflammation*) melalui pelemahan stres oksidatif dan peradangan. Khasiat anti-inflamasi dan antioksidan dari SBH dimediasi melalui up-regulasi Nrf2 dan penekanan pensinyalan NF- κ B dan p38 MAPK (14).

Selain itu pada penelitian yang dilakukan oleh A. Rafie dkk (2018) menunjukkan hasil tingkat enzim hati (ALT, AST, dan ALP) juga secara signifikan lebih rendah pada kelompok yang diberikan dengan SBH atau madu trigona. Ini menunjukkan kemampuan

hepatoprotektif madu trigona untuk menurunkan risiko penyakit hati (28).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan, kesimpulan pada penelitian ini adalah pengaruh pemberian madu trigona dapat memperbaiki tes fungsi hati pada tikus yang telah mengalami kerusakan hati karena imbas obat (DILI) yang diinduksi menggunakan acetaminophen.

Terpadat penurunan yang signifikan kadar serum ALT dan AST pada kelompok tikus yang diberikan madu trigona dibandingkan dengan yang tidak diberikan madu trigona setelah mengalami kerusakan hati karena imbas obat (DILI) yang diinduksi menggunakan acetaminophen.

DAFTAR RUJUKAN

1. Leise MD, Poterucha JJ, Talwalkar JA. Drug-induced liver injury. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2014;89(1):95–106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388027>
2. Andrade RJ, Chalasani N, Björnsson ES, Suzuki A, Kullak-Ublick GA, Watkins PB, et al. Drug-induced liver injury. *Nature Reviews Disease Primers*. 2019;5(1).
3. Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: Lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*. 2012;44(1):88–106.
4. Alempijevic T, Zec S, Milosavljevic T. Drug-induced liver injury: Do we know everything? *World Journal of Hepatology*. 2017;9(10):491–502.
5. Singh RK, Kumar A, Mishra AK. Chemistry and Pharmacology of Acetanilide Derivatives: A Mini Review. *Letters in Organic Chemistry*. 2019;16(1):6–15.
6. Leung L. From ladder to platform: a new concept for pain management. *J Prim Health Care*. 2012;4(3):254–8.
7. Smith HS. Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. *Pain Physician*. 2009;12(1):269–80.
8. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev*. 2006;12(3-4):250–75.
9. Mour G, Feinfeld DA, Caraccio T, McGuigan M. Acute renal dysfunction in acetaminophen poisoning. *Ren Fail*. 2005;27(4):381–3.
10. Teschke R, Schulze J, Eickhoff A, Danan G. Drug induced liver injury: Can biomarkers assist RUCAM in causality assessment? *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(4).
11. Moh S. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika; 2002.
12. Szmidi M, Niemiec T, Sawosz-Chwalibog E, Mitura K. The influence of nanodiamond particles on rat health status. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW Animal Science*. 2013;52.
13. Bayupurnama P. Hepatotoksisitas Imbas Obat. In: *Buku Ajar Penyakit Dalam Jilid I*. 4th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen IPD FKUI; 2006. p. 47376.
14. Ranneh Y, Akim AM, Hamid HA, Khazaai H, Fadel A, Mahmoud AM. Stingless bee honey protects against lipopolysaccharide induced-chronic subclinical systemic inflammation and oxidative stress by modulating Nrf2, NF-κB and p38 MAPK. *Nutrition and Metabolism*. 2019;16(1):1–17.
15. Meo SA, Al-Asiri SA, Mahesar AL, Ansari MJ. Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of*

- Biological Sciences. 2017;24(5):975–8.
16. Hossen MS, Ali MY, Jahurul MHA, Abdel-Daim MM, Gan SH, Khalil MI. Beneficial roles of honey polyphenols against some human degenerative diseases: a review. *Pharmacological Reports*. 2017;69(6):1194–205.
 17. Escudero E, Mora L, Fraser PD, Aristoy MC, Toldrá F. Identification of novel antioxidant peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Food Chemistry*. 2013;138(2–3):1282–8.
 18. Michener CD. *Bees of the World Vol.1*. USA: John Hopkins University Press; 2000.
 19. Al-Waili NS. Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals. *J Med Food*. 2003;6(2):135–40.
 20. Schramm DD, Karim M, Schrader HR, Holt RR, Cardetti M, Keen CL. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *J Agric Food Chem*. 2003;51(6):1732–5.
 21. Arifin WN, Zahiruddin WM. Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*. 2017;24(5):101.
 22. Galal RM, Zaki HF, El-Nasr MMS, Agha AM. Potential protective effect of honey against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Archives of Iranian Medicine*. 2012;15(11):674–80.
 23. Wojcikowski K, Gobe G. Animal studies on medicinal herbs: predictability, dose conversion and potential value. *Phytotherapy Research*. 2014;28(1):22–7.
 24. Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm*. 2016;7(2):27.
 25. Goorden SMI, Buffart TE, Bakker A, Buijs MM. [Liver disorders in adults: ALT and AST]. *Ned Tijdschr Geneeskd* [Internet]. 2013;157(43):A6443. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/24152362>
 26. Mohammed-Ali Z, Brinc D, Kulasingam V, Selvaratnam R. Defining appropriate utilization of AST testing. *Clinical Biochemistry* [Internet]. 2020;79(May):75–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.02.006>
 27. Mahaldar K, Hossain A, Islam F, Islam S, Islam MA, Shahriar M, et al. Antioxidant and hepatoprotective activity of Piper retrofractum against Paracetamol-induced hepatotoxicity in Sprague-Dawley rat. *Natural Product Research* [Internet]. 2020;34(22):3219–25. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1550768>
 28. Rafie AZM, Syahir A, Ahmad WANW, Mustafa MZ, Mariatulqabiah AR. Supplementation of Stingless Bee Honey from *Heterotrigona itama* Improves Antiobesity Parameters in High-Fat Diet Induced Obese Rat Model. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2018;2018.