

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Hippobroma longiflora* L.) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID DAN JARINGAN HISTOPATOLOGI HATI TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ISONIAZID DAN RIFAMPISIN**

Ria Afianti<sup>1\*</sup>, Suhatri<sup>1</sup>, Nur Aina<sup>1</sup>, Riki Ranova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universitas Perintis Indonesia, Padang, Sumatera Barat

<sup>2</sup> Akademi Farmasi Imam Bonjol, Bukittinggi, Padang, Sumatera Barat

\*Email Korespondensi : [riaafianti.apt@gmail.com](mailto:riaafianti.apt@gmail.com)

**ABSTRAK**

Tuberkulosis merupakan penyakit menular yang masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia dan memerlukan pengobatan jangka panjang dengan kombinasi isoniazid dan rifampisin. Penggunaan kedua obat ini dapat menyebabkan hepatotoksisitas melalui mekanisme stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan kerusakan jaringan hati. Daun kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) mengandung senyawa antioksidan diduga dapat menurunkan kadar MDA dan membantu memperbaiki kerusakan hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kitolod terhadap kadar malondialdehid dan gambaran histopatologi hati tikus putih jantan yang diberi isoniazid dan rifampisin. Pada penelitian ini hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dosis ekstrak 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB. Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan gambaran histopatologi menggunakan metode pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (HE). Nilai rata-rata kadar MDA pada kelompok kontrol negatif adalah 2,07 nmol/mL, kontrol positif adalah 3,28 nmol/mL, kelompok dosis 100 mg/kgBB adalah 2,59 nmol/mL, kelompok dosis 200 mg/kgBB adalah 2,42 nmol/mL, dan kelompok dosis 400 mg/kgBB adalah 2,30 nmol/mL. Hasil nilai rata-rata kadar MDA kelompok dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan ( $p < 0,05$ ) mendekati nilai rata-rata kadar MDA kelompok kontrol negatif. Hasil pengamatan histopatologi hati menunjukkan perbaikan kerusakan hati yang baik dengan dosis 400 mg/kgBB mendekati kontrol negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kitolod dapat menurunkan kadar MDA dan memperbaiki kerusakan jaringan hati tikus putih jantan yang diinduksi isoniazid dan rifampisin.

**Kata kunci:** Isoniazid, Rifampisin, Hepatotoksisitas, *Hippobroma longiflora* L., Malondialdehid

## THE EFFECT OF KITOLOD LEAF EXTRACT (*Hippobroma longiflora* L.) ON THE LEVELS OF MALONDIALDEHYDE AND HISTOPATHOLOGICAL TISSUE OF THE LIVER OF MALE WHITE RATS INDUCED BY ISONIAZID AND RIFAMPICIN

### ABSTRACT

*Tuberculosis is an infectious disease that remains a major health problem in Indonesia and requires long-term treatment with a combination of isoniazid and rifampicin. The use of isoniazid and rifampicin in tuberculosis therapy may cause hepatotoxicity through oxidative stress mechanisms, characterized by increased levels of malondialdehyde (MDA) and liver tissue damage. Kitolod leaves (*Hippobroma longiflora* L.) contain antioxidant compounds that are presumed to reduce MDA levels and help improve liver damage. This study aimed to determine the effect of kitolod leaf extract on malondialdehyde levels and liver histopathological features in male white rats administered isoniazid and rifampicin. The experimental animals were divided into five groups: negative control, positive control, and extract doses of 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, and 400 mg/kgBB. MDA levels were measured using a UV-Vis spectrophotometer, while liver histopathology was observed with Hematoxylin-Eosin (HE) staining. The mean MDA levels in the negative control, positive control, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, and 400 mg/kgBB groups were 2.07 nmol/mL, 3.28 nmol/mL, 2.59 nmol/mL, 2.42 nmol/mL, and 2.30 nmol/mL, respectively. The mean MDA levels in the 200 mg/kgBB and 400 mg/kgBB groups were significantly ( $p < 0.05$ ) closer to the negative control group. Histopathological observations showed notable liver tissue improvement, particularly at the 400 mg/kgBB dose, which approached the negative control. In conclusion, administration of ethanol extract of kitolod leaves can reduce MDA levels and ameliorate liver tissue damage in male white rats induced with isoniazid and rifampicin.*

**Keywords:** Isoniazid, Rifampicin, Hepatotoxicity, *Hippobroma longiflora* L., Malondialdehyde

### PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular dan penyebab utama kematian akibat infeksi di seluruh dunia, melampaui HIV/AIDS dalam hal ini. *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri yang ditularkan melalui udara yang bertanggung jawab atas penyakit ini (WHO, 2020). Pada tahun 2021, TB menyerang hampir 10 juta orang di seluruh dunia. Indonesia memiliki insiden tuberkulosis tertinggi kedua, setelah India. Pada tahun 2021, Indonesia memiliki 969.000 kasus TB (Kementerian Kesehatan Indonesia, 2023).

Cedera Hati Akibat Obat (DILI) menunjukkan kerusakan hati yang diakibatkan

oleh pengobatan tuberkulosis. Pemberian obat anti-tuberkulosis (OTT) berkorelasi dengan insiden global cedera hati akibat obat (DILI) yang berkisar antara 2% hingga 28%, tergantung pada usia pasien. Hepatotoksisitas jarang terjadi pada mereka yang berusia di bawah 20 tahun, meningkat menjadi 0,3% pada kelompok usia 20 hingga 34 tahun, 1,2% pada kelompok usia 35 hingga 49 tahun, dan 2,3% pada mereka yang berusia di atas 50 tahun (Octariany & Vivin Gusrizal, 2024). Efek samping utama yang dilaporkan oleh pasien yang menggunakan obat anti-tuberkulosis termasuk isoniazid, rifampin, dan pirazinamid adalah hepatotoksisitas (Kumar dkk., 2020). Hepatotoksisitas yang terkait dengan obat anti-tuberkulosis lini pertama, termasuk pirazinamid, rifampin, dan isoniazid, dapat menyebabkan gagal hati akut dan peradangan hati (transaminitis) (Amer et al., 2013).

Jalur metabolisme hati yang dimediasi oleh enzim N-asetiltransferase (NAT) adalah mekanisme di mana isoniazid menyebabkan hepatotoksisitas. Enzim N-asetiltransferase (NAT) mengkatalisis hidrolisis isoniazid menjadi asam isonikotinat dan monoasetilhidrazin setelah transformasinya menjadi asetil isoniazid. Tubuh kemudian mengeluarkan asam isonikotinat setelah konjugasinya dengan glisin. Monoasetilhidrazin diubah menjadi diasetilhidrazin, hidrazon, dan turunan teroksidasi, karena tidak dapat dieliminasi dari organisme. Tubuh dapat mengeliminasi molekul diasetilhidrazin dan hidrazon; tetapi, hasil oksidasi yang reaktif dan elektrofilik, hidrazin, tidak dapat dikeluarkan dan akan menempel secara kovalen pada hepatosit, sel-sel hati. Interaksi ini pada akhirnya akan mengganggu kompleks metabolit protein, yang mengakibatkan cedera hati dengan menghasilkan makromolekul antigenik yang memperkuat respons imun (Rahman dkk., 2023). Suhendi dkk. (2020) berpendapat bahwa senyawa hidrazin dapat menghasilkan jumlah spesies oksigen reaktif (ROS) yang berlebihan, yang dapat mengganggu homeostasis hati karena stres oksidatif. Selain itu, hepatotoksisitas yang disebabkan oleh isoniazid dapat mengurangi kadar glutathione dan aktivitas *glutathione S-transferase* (GST) di hati (Wahyudi Andri Dwi & Soedarsono, 2015).

Rifampin dapat menyebabkan hepatotoksisitas melalui aktivasi reseptor pregnane X (PXR) di hati. Proses ini menyebabkan peningkatan sintesis enzim metabolisme obat fase I dan fase II, termasuk glutathione S-transferase (GST), sitokrom P450 (CYP450), dan protein transporter yang terkait dengan fase III. Rifampin secara khusus meningkatkan konversi isoniazid menjadi metabolit berbahaya dengan meningkatkan aktivitas enzim

CYP450. Penggunaan isoniazid dalam terapi tuberkulosis meningkatkan kemungkinan hepatotoksisitas, atau kerusakan hati. Selain itu, rifampin meningkatkan aktivasi enzim isoniazid hidrolase, yang menghasilkan produksi hidrazin. Hidrazin sangat berbahaya bagi orang dengan laju metabolisme yang menurun (asetilator lambat). Penggunaan rifampin dan isoniazid secara bersamaan dapat meningkatkan sintesis hidrazin, sehingga meningkatkan risiko kerusakan hati. (Ramappa & Aithal, 2013).

Radikal bebas berkontribusi terhadap stres oksidatif. Elgaml (2014) dalam Zaetun dkk. (2017) menyatakan bahwa stres oksidatif disebabkan oleh ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yang dapat merusak sel dan secara substansial berkontribusi pada kerusakan hati. Peroksidasi lipid dapat dipercepat oleh radikal bebas, yang menyebabkan produksi malondialdehida (MDA) dalam darah (Latifa, 2015). Kadar MDA serum darah bertindak sebagai indikator kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Muhandis dkk., 2022). Sintesis MDA meningkat dengan jumlah radikal bebas yang lebih tinggi (Zaetun dkk., 2017). Molekul antioksidan sangat penting untuk mencegah kerusakan hati yang disebabkan oleh radikal bebas. Tubuh membutuhkan antioksidan untuk melawan dan mencegah kerusakan oksidatif. Bahan kimia alami Indonesia menawarkan beragam spektrum molekul aktif dan antioksidan. Meningkatkan kesehatan masyarakat secara efektif dari segi biaya memerlukan penggunaan bahan-bahan alami Indonesia sebagai sumber antioksidan (Werdhawati, 2014).

Tanaman kitolod memiliki antioksidan. Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) adalah spesies dalam famili Campanulaceae (Winneta & Kristiani, 2021). Kitolod memiliki beberapa khasiat terapeutik tradisional, termasuk sifat antihiperlipidemia, antijamur, antibakteri, dan antioksidan (Permana et al., 2022). Daun kitolod menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan, dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 52,70 ppm, seperti yang dilaporkan oleh Egarani dkk. (2020). Lestari dkk. (2024) menemukan bahwa aktivitas antioksidan daun kitolod berfluktuasi dengan ketinggian: nilai LC<sub>50</sub> adalah 75,69 ppm di dataran rendah, 84,40 ppm di dataran menengah, dan 96,78 ppm di dataran tinggi seiring dengan peningkatan ketinggian kitolod. Menurut Hapsari dkk. (2016), metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan steroid ditemukan di semua bagian tanaman kitolod. Sementara itu, tanaman kitolod memiliki beberapa metabolit sekunder, termasuk fenolik, flavonoid, dan karotenoid, seperti yang dicatat oleh Winneta & Kristiani (2021). Senyawa-senyawa ini dapat meningkatkan perlindungan tubuh

terhadap radikal bebas karena efek antioksidannya.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator*, alat gelas, aluminium foil, timbangan analitik, timbangan hewan, lumpang dan stamper, plat tetes, batang pengaduk, kandang hewan dan perlengkapannya, spidol, oven, desikator, *vortex mixer*, peralatan bedah, sonde, water bath, vacutainer kuning, cup serum, alat sentrifus, mikropipet, spektrofotometer uv-vis 530 nm.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kitolod, etanol 70%, Na CMC, isoniazid, rifampisin, aquadest, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl pekat, pereaksi mayer, serbuk Mg, FeCl<sub>3</sub>, norit, kloroform, eter, formalin, NaCl 0,9%, Trichloroacetic Acid (TCA), Thio Barbituric Acid (TBA), pewarnaan histopatologi hematoksilin-eosin, dan makanan tikus

### **Tahap Penelitian**

#### **Penyiapan Sampel**

Untuk persiapan sampel, 2,5 kg daun kitolod segar dikumpulkan dan dibersihkan dengan teliti. Selanjutnya, daun kitolod diletakkan di tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung dan dibiarkan mengering pada suhu ruangan. Daun kitolod kemudian dihaluskan menjadi bubuk dan selanjutnya ditimbang (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

#### **Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kitolod**

Ekstraksi daun Kitolod dilakukan dengan maserasi. Selama tiga hari, 500 gram daun kitolod bubuk direndam dalam etanol 70% di dalam wadah maserasi, dengan pengadukan berkala. Maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak pekat kemudian dihasilkan dengan menguapkan maserasi yang dihasilkan pada suhu 40°C dengan evaporator putar (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

#### **Karakteristik Ekstrak**

##### **1. Pemeriksaan organoleptis**

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2000).

##### **2. Pemeriksaan Rendemen**

Nilai rendemen dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak etanol daun kitolod yang di dapat dengan berat awal sampel (Depkes RI, 2000).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk kitolod (g)}} \times 100\%$$

### 3. Penetapan susut pengeringan

Setelah membersihkan dan mengeringkan cawan porselen dan tutupnya selama 15 menit pada suhu 105°C di dalam oven, keduanya didinginkan dalam desikator dan kemudian ditimbang (W0). Cawan porselen (W1) kemudian diisi dengan 1 gram ekstrak. Setelah ditimbang, cawan porselen berisi ekstrak dikembalikan ke oven selama satu jam pada suhu 105°C. Cawan porselen kemudian dikeluarkan dan dibiarkan dingin selama 15 menit dalam desikator sebelum ditimbang (W2) (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

### 4. Penetapan kadar abu

Dengan menimbang sampel dua gram, menempatkannya dalam cawan porselen yang dipanaskan, dan kemudian mengukurnya kembali, kami menentukan kadar abunya. Api kecil digunakan untuk memanaskan bahan hingga terjadi pembakaran. Setelah enam jam pada suhu 600°C dalam tungku, cawan diekstraksi dari bagian yang hangus, yang ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi putih. Kemudian, cawan ditimbang setelah didinginkan dalam desikator. Jumlah abu kemudian dipastikan.

### 5. Uji Fitokimia

Lima mililiter air suling dan lima mililiter kloroform dicampur dengan perbandingan 1:1 dengan 0,5 gram ekstrak kitolod kental dalam tabung reaksi. Setelah dicampur dan dibiarkan, terbentuk dua lapisan berbeda—satu lapisan air dan satu lapisan kloroform. Lapisan air digunakan untuk menguji flavonoid, fenolik, dan saponin. Pengujian alkaloid dan terpenoid/steroid dilakukan menggunakan lapisan kloroform.

### Perlakuan Hewan Uji

Tikus diberi makanan dan air yang cukup untuk beradaptasi selama satu minggu sebelum percobaan. Musdalipah dkk. (2020) menetapkan bahwa tikus dianggap sehat jika berat badannya tetap stabil (perubahan maksimum <10%) dan menunjukkan perilaku normal. Lima belas tikus putih jantan digunakan sebagai subjek uji, dibagi secara acak menjadi lima kelompok yang masing-masing terdiri dari tiga tikus (lihat Tabel 1 di bawah):

Tabel 1. Kelompok Hewan Uji

No	Kelompok	Pemberian
1.	Kontrol Negatif	Diberikan Na CMC 0,5%

2.	Kontrol Positif	Diberikan induksi isoniazid dan rifampisin
3.	Dosis I	Diberikan induksi isoniazid dan rifampisin, kemudian diberikan sediaan uji 100 mg/kgBB
4.	Dosis II	Diberikan induksi isoniazid dan rifampisin, kemudian diberikan sediaan uji 200 mg/kgBB
5.	Dosis III	Diberikan induksi isoniazid dan rifampisin, kemudian diberikan sediaan uji 400 mg/kgBB

#### Cara Kerja:

Hewan percobaan membutuhkan waktu tujuh hari untuk beradaptasi. Kadar SGOT dan SGPT dievaluasi untuk semua kelompok setelah periode adaptasi 7 hari. Kelompok kontrol positif menerima dosis inducer I, II, dan III isoniazid dan rifampin selama tujuh hari. Setelah tujuh hari induksi isoniazid dan rifampin, kadar SGOT dan SGPT dari semua kelompok hewan percobaan dievaluasi. Preparat uji diberikan kepada kelompok Dosis I, Dosis II, dan Dosis III pada dosis yang telah ditentukan selama 14 hari, dari hari ke-8 hingga ke-21, untuk menilai peningkatan kadar SGOT dan SGPT pada subjek uji. Pada hari ke-22, kadar MDA dinilai.

#### Pengukuran Kadar MDA

Darah diambil dari vena orbital tikus, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan serum. Masukkan 0,5 cc serum ke dalam tabung untuk setiap kelompok. Tambahkan 2,5 ml asam trikloroasetat (TCA) 5% ke setiap sampel. Setelah sentrifugasi selama 15 menit, pindahkan 1 mililiter filtrat ke setiap tabung sesuai petunjuk pada label. Selanjutnya, tambahkan TBA, masak selama tiga puluh menit, lalu biarkan dingin. Kadar MDA kemudian harus diukur pada 530 nm dengan spektrofotometer UV-Vis (Afrianti et al., 2021).

#### Pemeriksaan Histopatologi Hati

Eter digunakan untuk menginduksi ketidaksadaran pada tikus. Selanjutnya, hati tikus diangkat dan disimpan dalam formalin. Dehidrasi berlangsung selama satu jam. Jaringan hati direndam dalam xylene I selama satu jam, xylene II selama tiga puluh menit, dan xylene III selama tiga puluh menit. Setelah fiksasi dalam parafin, jaringan hati dipotong menjadi irisan setebal 4-6  $\mu$ m menggunakan mikrotom. Jaringan hati dikeringkan di atas pelat panas setelah ditempatkan pada slide kaca. Setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C,

slide hati disiapkan untuk pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Pemeriksaan histologis hati menunjukkan nekrosis, degenerasi sel, dan modifikasi struktural (Windiarko, 2018).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan daun Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) yang bersumber dari daerah Ujung Gading, Kabupaten Pasaman Barat, Provinsi Sumatera Barat. Hasil ekstrak daun Kitolod dinilai, menunjukkan hasil sebesar 20,1%. Ekstrak daun Kitolod, dengan hasil minimal 10%, memenuhi kriteria yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II, 2017. Tujuan perhitungan hasil adalah untuk menentukan persentase ekstrak pekat yang diperoleh dari sejumlah bahan herbal yang diekstrak. 4,9% ekstrak daun Kitolod berkurang selama proses pengeringan. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Kitolod memenuhi kriteria, menunjukkan kehilangan pengeringan tidak melebihi 10% (Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II, 2017). Tujuan uji kehilangan pengeringan adalah untuk menetapkan batas maksimum jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Kementerian Kesehatan Indonesia, 2000). Kadar abu ekstrak daun kitolod ditentukan sebesar 3,5%. Ekstrak daun kitolod yang kental memenuhi kriteria yang ditetapkan oleh Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II, 2017, dengan kadar abu tidak melebihi 10%. Uji kadar abu bertujuan untuk menentukan dan merangkum komposisi mineral dari fase awal hingga sintesis ekstrak (Depkes RI, 2000).

Temuan uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun kitolod mengandung steroid, flavonoid, fenolik, dan alkaloid. Tujuan uji skrining fitokimia adalah untuk mengidentifikasi metabolit yang terkandung dalam sampel. Hasil tersebut selaras dengan penelitian sebelumnya (Savira & Iskandar, 2020) yang mengkonfirmasi keberadaan fenolik, steroid, flavonoid, dan alkaloid dalam ekstrak daun kitolod (Dewantoro, Putri, & Mardawati, 2022).

Percobaan ini menggunakan rifampin dan isoniazid untuk menginduksi kerusakan hati. Sudah diketahui secara luas bahwa kedua obat tersebut dapat merusak hati, terutama jika digunakan secara bersamaan. Metabolisme isoniazid di hati dapat memicu pembentukan radikal bebas, yang menghasilkan bahan kimia berbahaya seperti hidrazin. Rifampin meningkatkan aktivitas enzim hati (CYP450), mempercepat konversi isoniazid menjadi hidrazin, metabolit beracun (Ramappa & Aithal, 2013). Malondialdehida (MDA), indikator stres oksidatif, dapat meningkat karena peroksidasi lipid yang disebabkan oleh



radikal bebas. Bahan kimia hidrazin ini dapat meningkatkan kadar tersebut. Penyakit ini juga merusak jaringan hati (Ni'mah et al., 2017).

Tikus putih jantan, berukuran 200–220 gram dan berusia 2-3 bulan, digunakan sebagai subjek uji untuk penelitian ini. Hewan-hewan tersebut diaklimatisasi ke lingkungan baru mereka selama tujuh hari sebelum distribusi preparat uji ke setiap kelompok. Hewan dianggap sehat jika berat badannya tetap stabil (dengan variasi maksimum kurang dari 10%) dan jika perilakunya normal (Musdalipah et al., 2020).

Selanjutnya, lima kelompok yang masing-masing terdiri dari tiga tikus dibentuk dari hewan-hewan tersebut. Individu-individu tersebut dibagi menjadi dua kelompok: Kelompok 1 (kontrol positif) hanya diberi 0,5% NaCl CMC untuk mengamati kondisi hati normal tanpa intervensi atau induksi terapeutik apa pun, sedangkan Kelompok 2 (kontrol positif) hanya menerima isoniazid dan rifampin untuk menginduksi kerusakan hati. Isoniazid dan rifampin diberikan kepada kelompok 2, 3, 4, dan 5 selama tujuh hari untuk mengevaluasi potensi kerusakan hati yang diinduksi oleh obat-obatan ini selama periode tersebut. Untuk menentukan apakah preparat uji menunjukkan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hati yang diinduksi oleh isoniazid dan rifampin, preparat tersebut diberikan selama 14 hari, dari hari ke-8 hingga hari ke-21. Tiga dosis ekstrak daun kitolod yang berbeda diberikan: 100, 200, dan 400 mg/kg berat badan. Tujuannya adalah untuk memastikan dosis optimum ekstrak daun kitolod untuk menunjukkan efek hepatoprotektif dengan mengurangi kadar MDA dan meningkatkan regenerasi jaringan hati.

Selain itu, pada hari ke-22, kadar malondialdehyde (MDA) dinilai dengan mengambil darah dari setiap kelompok melalui vena orbital. Darah disentrifugasi untuk mengisolasi serum, meningkatkan stabilitas sampel dan menghilangkan sel darah. Serum yang diperoleh kemudian dicampur dengan larutan asam trikloroasetat (TCA) untuk mengendapkan protein yang ada dalam serum. Untuk mencegah protein menghambat reaksi pembentukan kompleks MDA-TBA, pengendapan protein ini dilakukan. Asam tiobarbiturat (TBA) kemudian ditambahkan untuk mengikat MDA yang dihasilkan oleh peroksidasi lipid. Dalam proses ini, TBA akan bergabung dengan MDA untuk menghasilkan warna merah muda. Pengujian kadar MDA menggunakan Spektrofotometer UV-Vis 530 nm akan lebih mudah setelah warna menjadi lebih jernih selama fase inkubasi penangas air. Penggunaan spektrofotometer untuk mengukur kadar

MDA bertujuan untuk menghasilkan temuan yang lebih sensitif dan dapat diandalkan (Andiriyani, Untari, & Wahdaningsih, 2016).

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Kadar MDA

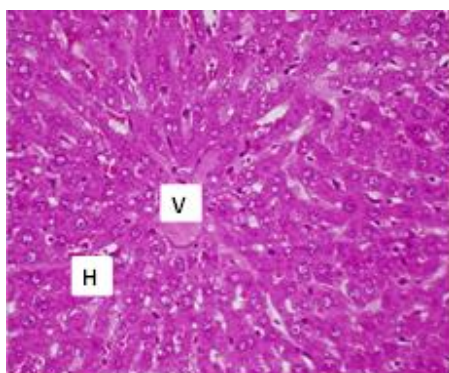
No	Kontrol Negatif (nmol/mL)	Kontrol Positif (nmol/mL)	Dosis 100 mg/kgBB (nmol/mL)	Dosis 200 mg/kgBB (nmol/mL)	Dosis 400 mg/kgBB (nmol/mL)
1.	2,00	3,10	2,51	2,39	2,39
2.	1,81	3,34	2,79	2, 28	2,43
3.	2,39	3,41	2,47	2,59	2,08
<b>Rata- rata± SD</b>	<b>2,07±0,30</b>	<b>3, 28±0,16</b>	<b>2,59±0,17</b>	<b>2,42±0,16</b>	<b>2,30±0,19</b>

Data dari uji MDA pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar malondialdehida (MDA) pada kelompok dosis 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW, dan 400 mg/kgBW menurun, menunjukkan bahwa ekstrak daun kitolod memiliki sifat hepatoprotektif terhadap stres oksidatif. Alkaloid, flavonoid, fenolik, dan steroid—senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun kitolod—menunjukkan kemampuan antioksidan yang menghambat peroksidasi lipid dan menetralkan radikal bebas. Mereka juga mengurangi sintesis spesies oksigen reaktif (ROS), sehingga menurunkan kadar malondialdehida (MDA).

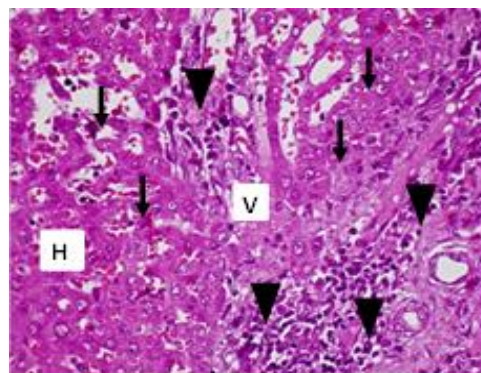
Selanjutnya, untuk membedakan perbedaan substansial antar kelompok, temuan uji malondialdehida (MDA) dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah. Uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal, sebagaimana dibuktikan oleh hasil yang signifikan ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas menghasilkan hasil yang signifikan ( $p > 0,05$ ), menunjukkan bahwa data terdistribusi secara seragam. Rata-rata kadar MDA dalam temuan uji minimal pada kelompok kontrol negatif dan maksimal pada kelompok kontrol positif. Uji ANOVA satu arah menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan antar kelompok, dengan nilai  $p$  kurang dari 0,001. Kelompok perlakuan yang menerima dosis 100 mg/kgBW, 200 mg/kgBW, dan 400 mg/kgBW tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, sebagaimana ditunjukkan oleh hasil uji Duncan berikut. Pemberian ekstrak daun kitolod pada dosis 200 mg/kgBW dan 400 mg/kgBW menghasilkan penurunan kadar MDA hingga setara dengan kelompok kontrol negatif.

Pada hari ke-22 pasca terapi, pemeriksaan histologis jaringan hati tikus dilakukan sebagai parameter selanjutnya. Fase awal penilaian ini adalah pembedahan subjek uji untuk mengevaluasi kondisi hati tikus pasca terapi. Setelah eksisi, hati diproses menjadi slide dan diwarnai untuk meningkatkan visibilitas arsitektur jaringan untuk pemeriksaan mikroskopis nekrosis seluler, degenerasi, dan perubahan struktural (Windiarko, 2018). Gambar selanjutnya mengilustrasikan hasil pemeriksaan histologis hati tikus putih jantan pada perbesaran 40x :

Gambar 1. Kontrol Negatif  
Vena sentralis (V), Hepatosit (H)

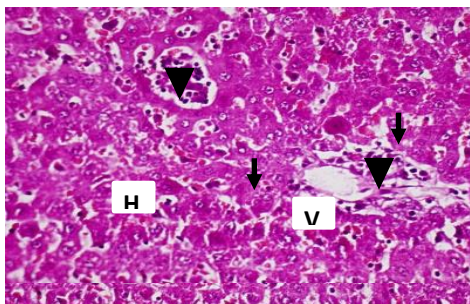


Gambar 2. Kontrol Positif  
Vena sentralis (V), Hepatosit (H),  
Degenerasi sel (↓), sel radang (▼)

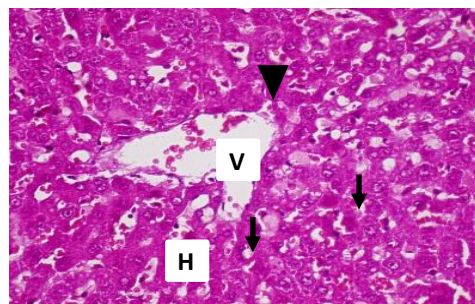


Jaringan hati hewan uji memiliki struktur normal, ditandai dengan hepatosit (H) yang tersusun dalam lobulus yang mengelilingi vena sentral (V), seperti yang terlihat pada Gambar 1, kelompok kontrol negatif. Saluran empedu, vena hepatic, dan arteri terletak di dekat pinggiran lobulus. Trabekula hepatosit (H) tersusun secara sistematis di sepanjang pembuluh darah dan sinusoid. Jaringan hati terdiri dari sejumlah kecil makrofag dan limfosit. Tidak ditemukan indikasi perdarahan, fibrosis, atau peradangan. Pemeriksaan histologis menunjukkan bahwa jaringan hati normal. Kelompok kontrol positif, jaringan hati hewan uji mengalami kerusakan berat. Terlihat sebagian area mengalami degenerasi (↓) dan nekrosis pada sel hepatosit (H), disertai pembuluh darah melebar (V), perdarahan, tampak area fibrosis, dan sebaran padat sel radang (▼). Hasil pengamatan histopatologi jaringan hati dalam keadaan kerusakan berat.

Gambar 2. Dosis 100 mg/kgBB  
Vena sentralis (V), Hepatosit (H),  
Degenerasi sel (↓), sel radang (▼)

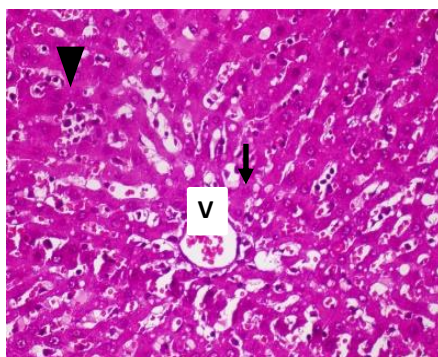


Gambar 4. Dosis 200 mg/kgBB  
Vena sentralis (V), Hepatosit (H),  
Degenerasi sel (↓), sel radang (▼)



Pada gambar 3. kelompok dosis 100 mg/kgBB, jaringan hati hewan uji menunjukkan adanya perbaikan dibandingkan kelompok kontrol positif. Namun, masih tampak area fokal dengan degenerasi (↓) dan nekrosis pada sel hepatosit (H), pembuluh darah melebar (V), perdarahan, dan sebaran sedang sel radang (▼). Hasil pengamatan histopatologi jaringan hati dalam keadaan kerusakan sedang. Pada gambar 4. kelompok dosis 200 mg/kgBB, jaringan hati hewan uji menunjukkan perbaikan yang baik dibandingkan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Namun, masih tampak area fokal dengan degenerasi (↓) dan nekrosis pada sel hepatosit (H), pembuluh darah melebar (V), perdarahan, dan sebaran ringan sel radang (▼). Hasil pengamatan histopatologi jaringan hati dalam keadaan kerusakan ringan.

Gambar 5. Dosis 400 mg/kgBB  
Vena sentralis (V), Hepatosit (H), Degenerasi sel (↓), sel radang (▼)



Pada gambar 5. kelompok dosis 400 mg/kgBB, jaringan hati hewan uji menunjukkan perbaikan yang lebih baik dan mendekati kondisi normal seperti kelompok kontrol negatif. Terlihat kerusakan hati yang minimal, dengan beberapa sel mengalami degenerasi (↓) dan nekrosis pada sel hepatosit (H), dan sebaran ringan sel radang (▼). Kerusakan hati lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif maupun kelompok perlakuan. Hasil pengamatan histopatologi jaringan hati dalam keadaan kerusakan minimal.

Pemberian isoniazid bersama rifampin menyebabkan kerusakan hati yang cukup besar, sebagaimana dibuktikan oleh analisis histologis hati. Degenerasi dan nekrosis hepatosit, dilatasi pembuluh darah, perdarahan, dan banyaknya sel inflamasi menunjukkan kerusakan sel hati yang signifikan pada kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa rifampin dan isoniazid adalah obat-obatan yang dapat berdampak buruk pada hati. Sindrom ini disebut Cedera Hati Akibat Obat (Drug-Induced Liver Injury/DILI), yang diakibatkan oleh efek merugikan dari obat-obatan yang menginduksi stres oksidatif dan peradangan pada hepatosit (Purwanto & Sangging, 2023).

Pemberian ekstrak daun kitolod menunjukkan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hati yang diinduksi oleh rifampin dan isoniazid. Ciri khas dari dampak hepatoprotektif ini termasuk peningkatan arsitektur jaringan hati, pengurangan kerusakan hepatosit, dan infiltrasi sel inflamasi yang lebih sedikit. Kelompok perlakuan 400 mg/kgBW, yang menunjukkan profil histologis yang mirip dengan kelompok kontrol negatif, menunjukkan pemulihan yang lebih nyata. Daun kitolod mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, dan steroid, yang menunjukkan sifat hepatoprotektif. Karena kualitas antioksidannya, senyawa kimia ini dapat membantu regenerasi jaringan hati yang rusak dan mencegah kerusakan sel hepatosit dengan menetralkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif pada sel hati.

## KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah:

1. Tikus putih jantan yang diberi isoniazid dan rifampisin menunjukkan penurunan kadar malondialdehida (MDA) setelah pemberian ekstrak daun kitolod (*Hippobroma longiflora* L.). Pada dosis 200 mg/kg BW dan 400 mg/kg BW, terjadi penurunan kadar MDA yang signifikan, mendekati kadar pada kelompok kontrol negatif.

2. Kondisi histologis jaringan hati yang rusak akibat isoniazid dan rifampisin menunjukkan perbaikan setelah pemberian ekstrak daun kitolod. Struktur jaringan hati semakin menyerupai kelompok kontrol negatif, dengan peningkatan paling signifikan diamati pada dosis 400 mg/kg BW.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N., Budi Riyanta, A., & Amananti, W. 2023. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Hasil Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun Mangga Harum Manis (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Crystal : Publikasi Penelitian Kimia Dan Terapannya*, 5(1), 54–61. <https://doi.org/10.36526/jc.v5i1.2634>.
- Afrianti, R., Agnes, W., & Herdissa. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Mencit Putih Jantan Hiperlipidemia. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 10(1), 17–22. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v10i1.969>.
- Amer, K., A, M. S., Sa, A., Nematullah, K., Ihtisham, S., & Maazuddin, M. 2013. *Anti-Tuberculosis Drug - Induced Hepatitis – A Case Report*. 6(2), 65–67.
- Andiriyani, M. M., Untari, E. K., & Wahdaningsih, S. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(2). <https://doi.org/10.33096/jffi.v1i2.189>.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat (Edisi 1)*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dewantoro, A. I., Putri, S. H., & Mardawati, E. 2022. Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Polifenol Pada Daun Herba Kitolod (*Hippobroma longiflora* (L.) G.Don) Dan Potensi Pemanfaatannya Sebagai Sumber Polifenol Alami. *Agrointek : Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 16(3), 412–419. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v16i3.13235>.
- Egarani, G. R., Kasmiyati, S., & Kristiani, E. B. E. 2020. The Antioxidant Content and Activity of Various Plant Organs of Kitolod (*Isotoma longiflora*). *Biosaintifika*, 12(3), 297–303. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i3.23888>.
- Elgaml, S. A. and H. E. A. 2014. Clinicopathological studies of Thymus vulgaris Extract Against Cadmium Induced Hepatotoxicity in Albino Rats. *Global Journal of Pharmacology*, 8(4), 501–509. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2014.8.4.8444>.

- Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. 2017. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.  
<https://doi.org/10.2307/jj.2430657.12>.
- Hapsari, A., Asti, D., Hidayati, R., Kumalla, N., & Suhendi, A. 2016. The Potency of Kitolod (*Isotoma longiflora* (L)Presl.) Herb Extract as a Cure for Cervical Cancer: an in Vitro Study of Hela Cells. *The 2nd International Confence on Science, Technology, and Humanity, L*, 2477–3328.
- Kementerian Kesehatan Indonesia, D. J. P. dan P. 2023. Laporan Program Penanggulangan Tuberkulosis Tahun 2022. *Kemenkes RI*, 1–147.[https://tbindonesia.or.id/pustaka\\_tbc/laporan-tahunan-program-tbc-2021](https://tbindonesia.or.id/pustaka_tbc/laporan-tahunan-program-tbc-2021).
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Direktorat Jendral Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Kumar, P. S., Vidya, R., & Jageer, M. 2020. *Anti-tuberculosis treatment : induced hepatotoxicity – a case report*. 31, 242–247.
- Latifa, K. I. 2015. Profil kadar mda (malondialdehyde) pada tikus yang diberikan ekstrak herba thymi. *Naskah Publikasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta*, 1–10.
- Lestari, S., Septliyani, B. N., Proklamasiningsih, E., & Hernayanti, H. 2024. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Kitolod (*Hippobroma longiflora* L.) pada Ketinggian Tempat Tumbuh Berbeda. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2), 212–218. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v13n2.p212-218>.
- Ni'mah, I., Hapsari, A. F., & Wulandari, E. 2017. Efek Ekstrak Bawang Putih ( *Allium sativum* L.) Terhadap Kadar Malondialdehid Hepar Tikus. *Medika Islamika*, 14(1).
- Muhandis, P. J. A., Triakoso, N., & Saputro, A. L. 2022. Difference in Lairage Time Before Slaughtering on Malondialdehyde (MDA) Levels in Landrace Pig Blood Serum. *Jurnal Medik Veteriner*, 5(1), 16–20.  
<https://doi.org/10.20473/jmv.vol5.iss1.2022>.
- Musdalipah, Yodha, A. W. M., Tee, Karmilah, S. A., Reymon, Daud, N. S., Setiawan, A., Badia, E., & Agustini. 2020. Toksisitas Akut Dan Lethal Dose (LD50) Ekstrak Buah Walay (*Meistera chinensis*) Asal Sulawesi Tenggara Terhadap Mencit (*Mus musculus*). *Pharmacoscript*, 5(2), 186–200.
- Rahman, M. M., Setyawati, T., Sarifuddin, & Wahyuni, R. D. 2023. Mekanisme OAT Dalam Tubuh Yang Mengakibatkan Risiko DILI (Drug-Induced Liver Injury) : Literature Review. *Jurnal Medical Profession (MedPro)*, 5(1), 41–47.



- Ramappa, V., & Aithal, G. P. 2013. Hepatotoxicity Related to Anti-tuberculosis Drugs: Mechanisms and Management. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 3(1), 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2012.12.001>.
- Savira, D., & Iskandar, D. 2020. Pemanfaatan Ekstrak Daun Kitolod (*Hippobroma Longiflora* (L) G.Don) Sebagai Bahan Aktif Sediaan Tabir Surya. *Jurnal Kimia Riset*, 5(1), 44. <https://doi.org/10.20473/jkr.v5i1.19680>.
- Suhendi, A., Eka, P. F., & Pawarti, H. 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Pada Tikus Yang Diinduksi Dengan Rifampisin- Isoniazid. *Jurnal Kesehatan*, 13(1), 69–77.
- Octariany Octariany, & Vivin Gusrizal. 2024. A Case Report : Tuberculosis Drug Induced Liver Injury: A Case Report. *Detector: Jurnal Inovasi Riset Ilmu Kesehatan*, 2(3), 302–307. <https://doi.org/10.55606/detector.v2i3.4232>.
- Permana, A., Aulia, S. D., Azizah, N. N., Ruhdiana, T., Suci, S. E., Izzah, I. N. L., Agustin, A. N., & Wahyudi, S. A. 2022. Artikel Review : Fitokimia Dan Farmakologi Tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora* Presi). *Jurnal Buana Farma*, 2(3), 22–35. <https://doi.org/10.36805/jbf.v2i3.547>.
- Purwanto, T., & Sangging, P. R. A. 2023. Etiologi, Patofisiologi, Evaluasi, dan Tatalaksana Drug Induced Hepatotoxicity. *Medula*, 13(3), 322–326. Retrieved from <https://journalofmedula.com/index.php/medula/article/download/636/510>.
- Wahyudi Andri Dwi, & Soedarsono. 2015. Farmakogenomik Hepatotoksisitas Obat Anti Tuberkulosis. *Jurnal Respirasi*, 1(3), 103. <https://doi.org/10.20473/jr.v1-i.3.2015.103-108>.
- Werdhawati, A. 2014. Peran Antioksidan Untuk Kesehatan. *Biotek Medisiana Indonesia*, 3(1), 59–68.
- WHO. 2020. Tuberculosis Report. In *Baltimore Health News: Vol. XLIX* (Issues 9-10–11).
- Windiarko, O. P. 2018. Pengaruh Preventif Madu Hutan Sumbawa Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Kadar SGPT, Dan SGOT Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Plumbum Asetat. In *Skripsi*. Universitas Brawijaya Malang.
- Winneta, S., & Kristiani, E. B. E. 2021. Kandungan Senyawa Antioksidan Pada Daun , Bunga Serta Buah Tumbuhan Kitolod (*Isotoma Longiflora*). *Jurnal Sinasis*, 2(1), 583–589.



- Winneta, S., & Kristiani, E. B. E. 2021. Kandungan Senyawa Antioksidan Pada Daun , Bunga Serta Buah Tumbuhan Kitolod (*Isotoma Longiflora*). *Jurnal Sinasis*, 2(1), 583–589.
- Zaetun, S., Dewi, L. B. K., Wiadnya, I. B. R., & Srigede, L. 2017. Profil Kadar MDA (Malondialdehyde) sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang diberikan Air Beroksigen. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, 4(2), 63–68.