



## Effect Non *n*-hexan Fraction Of Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.) On Alanin Amonotransferase Activities, Creatinine Levels, And TCD4+/TCD8+ Cell Rations in The Isoniazid-Induced Female Rats

## Efek Fraksi Non *n*-hexan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Aktivitas Alanin Amonotransferase, Kadar Kreatinin dan Rasio Sel TCD4+/TCD8+ Pada Tikus Betina yang Diinduksi Isoniazid

Nuraini Ekawati\*, Ediati \*\*, and Sri Mulyani\*\*

<sup>1</sup> Departement of Pharmacy, Faculty of Medicine, Dipinegoro University

<sup>2</sup> Departement of Medical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University

<sup>3</sup> Departement of Medical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University

\*email korespondensi : [nuraini.ekawati@gmail.com](mailto:nuraini.ekawati@gmail.com)

---

**Abstrak :** Isoniasid agen terapi oral pertama yang efektif untuk penyakit tuberkulosis. Isoniasid dimetabolisme dalam tubuh menghasilkan metabolit reaktif yang diduga bertanggung jawab menyebabkan terjadinya berbagai efek samping melalui mekanisme stress oksidatif, antara lain kerusakan hepar, kerusakan ginjal, dan gangguan autoimun yang ditandai dengan penurunan rasio sel TCD4+/TCD8+.

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) kaya akan kandungan senyawa fenolik seperti *scopoletin*, *quercetin*, dan *rutin*. Senyawa fenolik memiliki berbagai aktivitas biologi termasuk aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan hepatoproteksi. Aktivitas antioksidan senyawa fenolik melalui mekanisme *radical scavenging*, sehingga radikal bebas tidak terbentuk dan kerusakan jaringan dapat dicegah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia fraksi non *n*-heksan dari ekstrak etanol buah mengkudu (FNHEEBM) dan apakah dapat mengurangi efek samping penggunaan isoniasid dengan parameter aktivitas enzim ALT, kadar kreatinin, dan rasio sel TCD4+/TCD8+. Sejumlah 35 ekor tikus betina galur *Wistar*, umur 6-8 minggu, dibagi menjadi 7 kelompok. Kelompok I : kontrol pelarut diberi 0,25% DMSO, kelompok II : isoniasid 150 mg/kgBB, kelompok III : ekstrak etanol buah mengkudu 250 mg/kgBB, kelompok IV : isoniasid 150 mg/kgBB + FNHEEBM 15 mg/kgBB, kelompok V : isoniasid 150 mg/kgBB + FNHEEBM 30 mg/kgBB, kelompok VI : isoniasid 150 mg/kgBB + FNHEEBM 75 mg/kgBB, dan kelompok VII : FNHEEBM 75 mg/kgBB, dengan volume

pemberian 20 mL/kgBB per oral/hari, selama 8 minggu. Pengambilan sampel darah dilakukan pada minggu 0, 4, 6 dan 8 untuk dievaluasi aktifitas enzim ALT, kadar kreatinin, dan rasio sel TCD4+/TCD8+. Analisis kandungan kimia FNHEEBM dilakukan dengan metode KLT kualitatif.

Hasil uji KLT kualitatif menunjukkan bahwa FNHEEBM mengandung senyawa golongan alkaloid, fenolik, dan flavonoid. Pemberian FNHEEBM dapat menurunkan aktivitas ALT dan meningkatkan rasio sel TCD4+/TCD8+, namun tidak dapat menurunkan kadar kreatinin pada tikus betina yang diinduksi isoniazid. **Abstract** : Isoniazid is the most effective drug for antituberculosis treatment. Metabolism process of isoniazid, some reactive metabolites might be generated. Thus reactive metabolite possibly responsible for several side effect through the mechanism of oxidative stress. Some of the side effects are liver and kidney damage, also autoimmune disorder characterized by decreased TCD4+/TCD8+ cell ratio.

*Morinda citrifolia* L. contains phenolic compounds such as scopoletin, quercetin, and rutin, which have activities as antioxidant, antiinflammatory, and hepatoprotective. The antioxidant activity of phenolic compounds is through the mechanism of radical scavenging and inhibit formation of free radicals.

The purpose of this study was to determine chemical constituents of non *n*-hexane fraction of Noni fruit extract and it can reduce the side effect of isoniazid by measuring ALT activity, creatinine level, and TCD4+/TCD8+ cell ratio. Total 35 *Wistar* rats, aged 6-8 weeks, were divided into 7 groups. Group I normal group received 0.25% DMSO, group II : isoniazid 150 mg/kgBW, group III : ethanol extract of Noni fruit 250 mg/kgBW, group IV : isoniazid 150 mg/kgBW+test sample 15 mg/kgBW, group V : isoniazid 150 mg/kgBW+test sample 30 mg/kgBW, group VI : isoniazid 150 mg/kgBW + test sample 75 mg/kgBW, and group VII : test sample 75 mg/kgBW, each with a volume of 20 mL/kg per oral/day for 8 weeks. Blood samples was collected at weeks 0, 4, 6 and 8 to evaluate the ALT activity, creatinine level, and TCD4+/TCD8+ cell ratio. Chemical constituents of test sample was conducted using TLC method.

Qualitative analysis indicated that test sample contains alkaloid, phenolic, and flavonoid compound. It could reduce ALT level and increase TCD4+/TCD8+ cell ratio, but couldn't reduce creatinine level of isoniazide-induced female *Wistar* rat.

**Key words : Isoniazid, *Morinda citrifolia*, ALT, creatinine, TCD4+/TCD8+**

---

## 1. Pendahuluan

Isoniasid (INH) merupakan preparat oral pertama yang efektif untuk terapi penyakit tuberkulosis. Terapi penyakit tuberkulosis dengan isoniazid sebagai obat tunggal terbukti tidak efektif karena terjadinya resistensi. Isoniasid seringkali dikombinasi dengan *rifampicin* dan/atau ethambutol untuk mencegah terjadinya resistensi dan dapat mengurangi durasi terapi dari 2 tahun menjadi 6-9 bulan (Hayes, 1996). Penggunaan isoniazid dalam jangka panjang (lebih dari 1 bulan) dapat memberikan efek samping bagi tubuh, seperti kerusakan hepar, kerusakan ginjal, dan gangguan autoimun (Lopez-Novoa dkk., 2011; Vasoo, 2006; Yew dan Leung, 2006). Insidensi hepatotoksisitas akibat penggunaan obat-obat antituberkulosis antara 1-36% dan tidak

jarang mengakibatkan kematian. Individu asetilator lambat lebih beresiko mengalami efek samping hepatotoksisitas dibanding individu asetilator cepat (Huang dkk., 2002).

*Drugs-induced Lupus Erythematosus* (DILE) merupakan salah satu *adverse effect* yang muncul akibat penggunaan isoniasid. Studi secara prospektif dan retrospektif menunjukkan bahwa isoniasid menginduksi ANA (*antinuclear antibody*) pada sekitar 20% pasien (Evans dkk., 1972). Isoniasid dimetabolisme oleh enzim *N-acetyltransferase 2* (NAT2) menghasilkan metabolit *hydrazine* (radikal bebas) (Tostmann dkk., 2008). Pembentukan radikal bebas bebas dan stres oksidatif selama proses metabolisme diduga merupakan kunci utama patogenesis kerusakan hepar, kerusakan ginjal, dan gangguan autoimun yang disebabkan oleh obat-obatan (Lopez-Novoa dkk., 2011; Perl, 2013; Tostmann dkk., 2008). Berdasarkan fakta mengenai banyaknya efek samping penggunaan isoniasid, maka diperlukan suatu solusi untuk meminimalkan efek tersebut. Salah satu solusi yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan suatu agen terapi pendamping dalam pengobatan pasien tuberkulosis.

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) kaya akan kandungan senyawa fenolik seperti *scopoletin*, *rutin*, dan *quercetin* (Krishnaiah dkk., 2012). Senyawa fenolik diketahui memiliki berbagai aktivitas biologi termasuk aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan hepatoproteksi (Mohd Zin dkk., 2007). Aktivitas antioksidan senyawa fenolik adalah berdasarkan reaksi redoks. Senyawa fenolik akan dapat mereduksi radikal bebas (reaktif) menjadi spesies yang tidak reaktif, sehingga kerusakan jaringan sebagai efek dari serangan radikal bebas dapat dicegah (Kahkonen dkk., 1999).

Tujuan penelitian ini adalah untuk memisahkan komponen polar dari ekstrak etanol buah mengkudu dan melakukan pengujian apakah fraksi tersebut dapat mengurangi efek samping penggunaan isoniasid dengan parameter aktivitas enzim ALT, kadar kreatinin, dan rasio sel TCD4+/TCD8+. Fraksi non *n*-heksan dari ekstrak etanol buah mengkudu diharapkan mengandung senyawa fenolik sehingga dapat menurunkan efek samping penggunaan isoniasid dalam terapi antituberkulosis.

## 2. Metodologi Penelitian

### 2.1. Alat

Alat-alat gelas (Pyrex), *vacuum rotary evaporator* (Erweka), seperangkat kandang tikus, seperangkat alat gelas, spuit p.o, spuit i.v, pipa kapiler, timbangan tikus, sentrifus, alat *flowcytometer* (BD FACS Calibur), Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), mikropipet 20-200  $\mu$ L (Transferpette), mikropipet 100-1000  $\mu$ L (Transferpette), kuvet 1 mL (Spectra), *vortex*, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, oven, pipa kapiler, bejana pengembang.

### 2.2. Bahan

Buah mengkudu yang diperoleh dari Desa Bandelan, Sumber Arum, Moyudan, Sleman, etanol teknis (General Labora), *n*-heksan teknis (General Labora), metanol teknis (General Labora), aquadest (General Labora), tikus betina galur Wistar, pakan tikus, sekam, isoniazid (Second Pharma Co., Ltd.), DMSO (LPPT UGM), ketamin (LPPT UGM), EDTA (LPPT UGM), BD FACS *lysing solution* untuk melisis sel darah merah, reagen *flowcytometry* berupa reagen antibodi *rat* CD4+ dan CD8+ antigen *phycoerythrin* (PE), reagen kit untuk uji ALT dan

kreatinin (Disys). metanol, etil asetat, kloroform, toluen, reagen Dragendorff, reagen Vanilin-asam sulfat, reagen  $AlCl_3$ , reagen *Molisch*, dan silika gel GF 254.

## 2.3. Jalannya Penelitian

### 2.3.1. Fraksinasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu

Dua setengah gram ekstrak kental buah mengkudu dilarutkan dalam 75 mL metanol 80% dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian dilakukan partisi cair-cair menggunakan *n*-heksan dengan perbandingan 1:1 dengan cara dikocok secara terus-menerus lebih kurang selama 5 menit lalu didiamkan sampai terpisah sempurna antara kedua cairan, bagian *n*-heksan (lapisan atas) ditampung dalam cawan dan digantikan dengan *n*-heksan yang baru. Hal tersebut diulang hingga 4 kali sampai pada bagian *n*-heksan terlihat bening. Fraksi non *n*-heksan, diperoleh dengan cara menguapkan bagian yang larut metanol menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental dan tidak tercium bau metanol. Fraksi inilah yang digunakan sebagai bahan uji.

### 2.3.2. Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan Larutan DMSO 0,25% : DMSO sebanyak 2,5 mL dilarutkan dengan aquadest dalam labu takar 1000,0 mL hingga batas yang tertera pada labu takar. Selanjutnya labu takar disonikasi selama 3 menit agar DMSO tercampur homogen.

Pembuatan larutan Isoniazid 150 mg/kgBB : Isoniazid dilarutkan dalam larutan DMSO 0,25% sehingga diperoleh konsentrasi 150 mg/kgBB. Dosis tersebut kemudian dikonversi menjadi konsentrasi larutan uji dengan asumsi berat rata-rata tikus 100 gram dan volume maksimal pemberian adalah 2 ml. Berdasarkan asumsi tersebut, maka dibuat larutan INH konsentrasi 15 mg/mL, dengan volume pemberian 1 mL/tikus. Larutan ini dibuat dengan cara melarutkan 1500 mg INH dalam 100 mL DMSO 0,25%.

Pembuatan larutan ekstrak etanol buah mengkudu 250 mg/kgBB : Ekstrak etanol buah mengkudu dilarutkan dalam larutan DMSO 0,25% sehingga diperoleh konsentrasi 250 mg/kgBB. Dosis tersebut kemudian dikonversi menjadi konsentrasi larutan uji dengan asumsi berat rata-rata tikus 100 gram dan volume maksimal pemberian adalah 2 ml. Berdasarkan asumsi tersebut, maka dibuat larutan ekstrak etanol buah mengkudu konsentrasi 25mg/mL, dengan volume pemberian 1 mL/tikus. Larutan ini dibuat dengan cara melarutkan 2500 mg ekstrak etanol buah mengkudu dalam 100 mL DMSO 0,25%.

Pembuatan larutan uji fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu : Fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu dilarutkan dalam larutan DMSO 0,25% sehingga diperoleh konsentrasi 15, 30, dan 75 mg/kgBB. Dosis tersebut kemudian dikonversi menjadi konsentrasi larutan uji dengan asumsi berat rata-rata tikus 100 gram dan volume maksimal pemberian adalah 2 ml. Berdasarkan asumsi tersebut, maka dibuat larutan fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu konsentrasi 1,5; 3; dan 7,5 mg/mL, dengan volume pemberian 1 mL/tikus. Larutan ini dibuat dengan cara melarutkan 150, 300, dan 750 mg fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol dalam 100 mL DMSO 0,25%.

### 2.3.3. Perlakuan hewan uji

Sejumlah 35 ekor tikus betina galur *Wistar*, umur 6-8 minggu, dibagi menjadi 7 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol pelarut diberi 0,25% DMSO, kelompok II diberi INH 150 mg/kgBB, kelompok III diberi EEBM 250 mg/kgBB, kelompok IV diberi FNHEEBM 15 mg/kgBB + INH

150 mg/kgBB, kelompok V diberi FNHEEBM 30 mg/kgBB + INH 150 mg/kgBB, kelompok VI diberi FNHEEBM 75 mg/kgBB + INH 150 mg/kgBB kelompok VII diberi FNHEEBM 75 mg/kgBB, masing-masing dengan volume 20 mL/kgBB per oral/hari, selama 8 minggu. Pengambilan sampel darah pada masing-masing kelompok dilakukan pada minggu 0, 4, 6 dan 8 untuk dievaluasi aktifitas enzim ALT dan kreatinin, sedangkan sampel darah untuk rasio sel TCD4+/TCD8+ diambil pada minggu ke 0, 6 dan 8.

#### **2.3.4. Penentuan Aktivitas Enzim ALT dengan Metode Spektrofotometri**

Sampel darah yang diperoleh didiamkan selama  $\pm$  40 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 25°C hingga didapatkan serum darah yang berwarna bening. Serum darah diambil dengan mikropipet untuk selanjutnya direaksikan dengan monoreagen dari kit *DiaSys*. Monoreagen terdiri dari reagen 1 (R1) dan reagen 2 (R2) dengan perbandingan 4:1. Sampel yang sudah direaksikan dengan monoreagen kemudian divortex, dan dibaca absorbansinya pada menit ke-1, 2, 3, dan 4 pada panjang gelombang 365 nm.

#### **2.3.5. Penetapan Kadar Kreatinin dengan Metode Spektrofotometri**

Sampel darah yang diperoleh didiamkan selama  $\pm$  40 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 25°C hingga didapatkan serum darah yang berwarna bening. Serum darah diambil dengan mikropipet untuk selanjutnya direaksikan dengan monoreagen dari kit *DiaSys*. Monoreagen terdiri dari reagen 1 (R1) dan reagen 2 (R2) dengan perbandingan 4:1. Sampel yang sudah direaksikan dengan monoreagen kemudian divortex, dan dibaca absorbansinya pada menit ke-1 dan ke-2 pada panjang gelombang 492 nm.

#### **2.3.6. Penetapan Rasio Sel TCD4+/TCD8+**

Sampel berupa darah tikus yang diambil dari bagian plexus orbitalis dari masing-masing tikus. Darah yang diambil sebanyak  $\pm$  1 mL dan dimasukkan dalam *appendorf* yang telah berisi EDTA untuk menjaga agar sampel darah tidak menjendal. Pengambilan sampel darah diambil pada minggu ke-0, 6 dan 8 penelitian. Masing-masing sampel diambil sebanyak 50  $\mu$ L, ditambahkan dengan 10  $\mu$ L reagen antibodi *rat* CD4+ antigen FITC dan antibodi *rat* CD8+ antigen PE, lalu divortex dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 15 menit. Kemudian ditambah dengan 450  $\mu$ L *lysing solution*, divortex, dan diinkubasikan kembali selama 15 menit di dalam ruang gelap. Selanjutnya, sampel dibaca dengan alat *flowcytometry* dan dianalisis menggunakan program Multiset.

#### **2.3.7. Penentuan Profil Fitokimia Fraksi Non n-Heksan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu**

Larutan uji fraksi non n-heksan ekstrak etanol buah mengkudu dilarutkan dalam metanol hingga konsentrasi 1% b/v. Silika gel GF 254 yang akan dipakai diaktifkan terlebih dahulu dengan cara dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Larutan uji ditotolkan pada fase diam sebanyak 5 kali totalan, setiap totalan dibiarkan sampai kering, kemudian dielusi dengan beberapa fase gerak dengan jarak pengembangan tertentu sehingga didapatkan pemisahan yang sempurna. Kromatogram diamati bercaknya pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Kemudian bercak dideteksi dengan beberapa pereaksi semprot antara lain Dragendorff untuk mendeteksi alkaloid, Vanilin-asam sulfat untuk mendeteksi senyawa fenolik, dan  $AlCl_3$  untuk mendeteksi senyawa flavonoid.

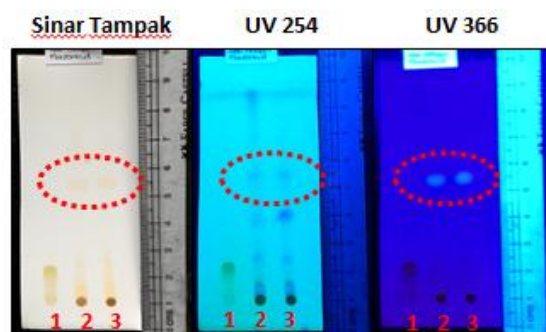
### 3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini diperoleh fraksi non *n*-heksan sebanyak 81,96 gram dengan rendemen 38,46%. Fraksi yang diperoleh berwarna coklat kehitaman, berasa pahit, dan berbau khas. Fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu mengandung senyawa golongan alkaloid, fenolik, dan flavonoid. Pemberian isoniazid dengan dosis 150 mg/kgBB selama 8 minggu belum dapat menginduksi terjadinya kerusakan hati dan ginjal pada hewan uji. Pada penelitian ini, efek samping penggunaan isoniazid belum dapat terinduksi diduga karena berkaitan dengan kemampuan asetilasi hewan uji. Individu asetilator cepat memiliki resiko lebih rendah mengalami gangguan hepar, karena konsentrasi *hydrazine* pada individu asetilator cepat lebih rendah dibanding individu asetilator lambat. *Hydrazine* adalah metabolit reaktif yang diduga bertanggung jawab terhadap kerusakan hepar (Fukino dkk., 2008).

Pemberian kombinasi isoniazid 150 mg/kgBB dan fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu dosis 75 mg/kgBB dapat menurunkan aktivitas ALT. Aktivitas hepatoprotektif fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu diduga berasal dari kandungan senyawa-senyawa fenolik yang tidak larut heksan seperti *damnacanthal*, *morindone*, *morindine*, *scopoletin*, *alizarin*, *aucubin*, *nordamnacanthal*, rubiadin, rubiadin-1-metil eter melalui mekanisme antioksidan dan antiinflamasi.

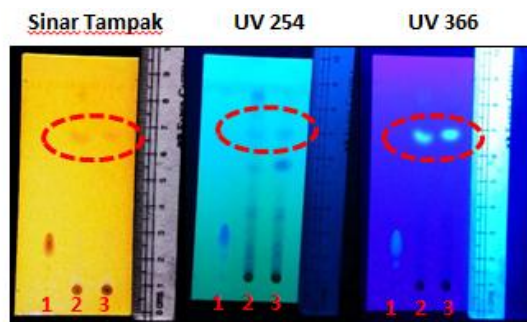
Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa *scopoletin* memiliki aktifitas hepatoproteksi dengan cara menurunkan level enzim ALT dan *sorbitol dehydrogenase* pada kultur sel hepatosit tikus. *Scopoletin* dapat menjaga ketersediaan *glutathione* dan aktivitas *superoxide dismutase* (suatu antioksidan endogen) serta menghambat produksi *malonaldehyde*, yaitu suatu hasil metabolisme peroksidasi lipid yang merupakan penanda terjadinya stres oksidatif (Kang dkk., 1998).

*Rutin* dan *quercetin* merupakan senyawa fenolik golongan flavonoid yang memiliki aktivitas hepatoprotektif. Penelitian oleh Ziaee dkk. (2011) menunjukkan bahwa pemberian *rutin* sebesar 20 mg/kgBB dapat menurunkan aktivitas enzim ALT dan AST, serta dapat mengurangi kerusakan ginjal pada tikus yang diinduksi kerusakan hepar dengan parasetamol. Mekanisme hepatoprotektif rutin adalah melalui proteksi terhadap *nitrosative stress* sedangkan mekanisme hepatoprotektif *quercetin* adalah melalui aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Domitrovic dkk., 2012).



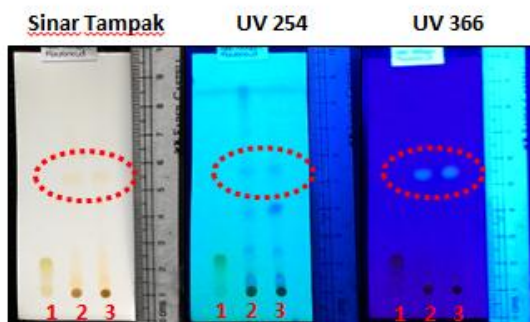
Keterangan : (1) Quercetin (2) Ekstrak etanol buah mengkudu (3) Fraksi non heksan ekstrak etanol buah mengkudu

Gambar 1. Profil KLT senyawa flavonoid dengan fase diam silica gel F 254 dan fase gerak kloroform:etil asetat (7:3) dengan pereaksi semprot  $AlCl_3$



Keterangan : (1) Kinin (2) Ekstrak etanol buah m engkudu (3) Fraksi non heksan ekstrak etanol buah m engkudu

Gambar 2. Profil KLT senyawa alkaloid dengan fase diam silica gel F 254 dan fase gerak kloroform:etil asetat:metanol (6:2:1) dengan pereaksi semprot Dragendorff



Keterangan : (1) Kuersetin (2) Ekstrak etanol buah m engkudu (3) Fraksi non heksan ekstrak etanol buah m engkudu

Gambar 3. Profil KLT senyawa flavonoid dengan fase diam silica gel F 254 dan fase gerak kloroform:etil asetat (7:3) dengan pereaksi semprot AlCl<sub>3</sub>

Tabel 1. Hasil Pengukuran Aktivitas ALT Minggu ke-0, 4, 6, dan 8 (U/L)

Kelompok	Aktivitas ALT (U/L)			
	Minggu ke-0	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
I	41.34 ± 10.91	32.35 ± 9.70	33.43 ± 2.85	32.89 ± 0.76
II	53.56 ± 21.79	26.24 ± 0.62	39.18 ± 1.24	31.63 ± 14.36
III	49.96 ± 25.07	44.21 ± 14.27	37.74 ± 7.55	52.48 ± 8.38
IV	24.08 ± 11.93	24.44 ± 2.71	27.68 ± 5.32	19.41 ± 1.87
V	31.27 ± 7.07	24.80 ± 4.70	21.93 ± 6.32	23.72 ± 6.56
VI	24.80 ± 4.70	27.67 ± 5.09	20.49 ± 10.40*	24.80 ± 3.74
VII	34.15 ± 17.33	37.02 ± 12.02	38.10 ± 6.50	30.19 ± 9.15

\*p<0.05 atau rata-rata berbeda signifikan terhadap kelompok 2 pada tingkat kepercayaan 0.05

Pemberian kombinasi isoniazid 150 mg/kgBB dan fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu dosis 15, 30, dan 75 mg/kgBB selama 8 minggu tidak menunjukkan kemampuan menurunkan kadar kreatinin pada tikus betina yang diinduksi isoniazid. Kandungan senyawa dalam buah mengkudu yang berperan mengurangi efek samping nefrotoksik diduga bersifat non polar sehingga tidak terkandung dalam fraksi non *n*-heksan.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar Kreatinin Minggu ke-0, 4, 6, dan 8 (mg/dL)

Kelompok	Kreatinin Serum (mg/dL)			
	Minggu ke-0	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
I	0.77 ± 0.00	0.90 ± 0.08	0.51 ± 0.09	0.63 ± 0.13
II	0.56 ± 0.23	0.67 ± 0.08	0.36 ± 0.09	0.33 ± 0.07**)
III	0.46 ± 0.15*	0.76 ± 0.08	0.36 ± 0.09	0.50 ± 0.13
IV	1.03 ± 0.15*	0.67 ± 0.08	0.41 ± 0.09	0.33 ± 0.07**)
V	0.87 ± 0.09	0.62 ± 0.08	0.56 ± 0.09	0.38 ± 0.00**)
VI	0.87 ± 0.09	0.67 ± 0.08	0.62 ± 0.00*)	0.29 ± 0.07**)
VII	0.87 ± 0.24	0.72 ± 0.15	0.51 ± 0.09	0.33 ± 0.07**)

\*p<0.05 atau rata-rata berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 0.05

\*)p<0.05 atau rata-rata berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 0.05 dibandingkan kelompok II

\*\*\*)p<0.05 atau rata-rata berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 0.05 dibandingkan kelompok I

Pemberian kombinasi isoniazid 150 mg/kgBB dan fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol buah mengkudu dosis 30 dan 75 mg/kgBB selama 8 minggu dapat meningkatkan rasio sel TCD4+/TCD8+ pada tikus betina yang diinduksi isoniazid. Aktivitas imunomodulator fraksi non *n*-heksan ekstrak etanol diduga berasal dari senyawa-senyawa fenolik dan alkaloid yang terkandung dalam fraksi tersebut.

*Quercetin*, *damnacanthal*, dan *proxeronine* adalah senyawa yang terkandung dalam buah mengkudu dan diketahui memiliki aktivitas imunomodulator. Penelitian *in vitro* dengan kultur sel *lymphoid* menunjukkan bahwa *quercetin* yang diisolasi dari tanaman *T. cordata* Mill. dapat meningkatkan proliferasi sel T dengan cara berinteraksi dengan protein kinase C (Manuele dkk., 2006). Penelitian oleh Alitheen dkk., (2010) menunjukkan bahwa *damnacanthal* yang diisolasi dari tanaman *Morinda elliptica* Ridley dapat menstimulasi proliferasi *thymocytes* tikus dan *human Peripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC) secara *time and dose dependent* serta dapat meningkatkan produksi *human interleukin-2* dan *human interleukin-12* secara *time dependent*. *Proxeronine* adalah suatu alkaloid dalam buah mengkudu yang dapat berikatan dengan enzim *proxeronase* dalam tubuh dan membentuk senyawa esensial *xeronine*. *Xeronine* dapat mengaktifkan sistem imun pada tingkat seluler (Padmavathy dkk., 2009).

Tabel 3. Hasil Penentuan Rasio Sel TCD4+/TCD8+ Minggu ke-0, ke-6, dan ke-8

Kelompok	Rasio Sel TCD4+/TCD8+		
	Minggu ke-0	Minggu ke-6	Minggu ke-8
I	2.99	2.08	1.82
II	2.82	1.52	1.78
III	3.20	1.91	1.91
IV	2.09	1.54	1.51
V	1.87	2.27	2.23
VI	2.04	2.45	2.02
VII	2.85	2.26	2.08

## Kesimpulan

Hasil uji KLT kualitatif menunjukkan bahwa FNHEEBM mengandung senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid, dan karbohidrat. Pemberian FNHEEBM dapat menurunkan aktivitas ALT dan meningkatkan rasio sel TCD4+/TCD8+, namun tidak dapat menurunkan kadar kreatinin pada tikus betina yang diinduksi isoniazid.



### Ucapan Terimakasih

Program Studi Magister Ilmu Farmasi yang telah memberikan dana hibah penelitian tesis periode 2014/2015. PT. Phapros atas bantuan bahan penelitian Isoniazid.

### Daftar Pustaka

- Alitheen, N.B., Manaf, A.A., Yeap, S.K., Shuhaimi, M., Nordin, L., dan Mashitoh, A.R., 2010. Immunomodulatory Effects of Damnacanthol Isolated from Roots of *Morinda elliptica*. *Pharmaceutical Biology*, **48**: 446–452.
- Domitrovic, R., Jakovac, H., Vasiljev Marchesi, V., Vladimir-Knežević, S., Cvijanović, O., Tadić, Ž., dkk., 2012. Differential Hepatoprotective Mechanisms of Rutin and Quercetin in CCl<sub>4</sub>-intoxicated BALB/cN Mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, **33**: 1260–1270.
- Evans, D.A., Bullen, M.F., Houston, J., Hopkins, C.A., dan Vettors, J.M., 1972. Antinuclear Factor in Rapid and Slow Acetylators Patients Treated with Isoniazid. *Journal of medical genetics*, **9**: 53.
- Fukino, K., Sasaki, Y., Hirai, S., Nakamura, T., Hashimoto, M., Yamagishi, F., dkk., 2008. Effects of N-acetyltransferase 2 (NAT2), CYP2E1 and Glutathione-S-transferase (GST) Genotypes on The Serum Concentrations of Isoniazid and Metabolites in Tuberculosis Patients. *The Journal of Toxicological Sciences*, **33**: 187–195.
- Hayes, J.L.K., Evelyn R., 1996. *Farmakologi : Pendekatan Proses Keperawatan*. EGC, Jakarta.
- Huang, Y.-S., Chern, H.-D., Su, W.-J., Wu, J.-C., Lai, S.-L., Yang, S.-Y., dkk., 2002. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology*, **35**: 883–889.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., dkk., 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3954–3962.
- Kang, S.Y., Sung, S.H., Park, J.H., dan Kim, Y.C., 1998. Hepatoprotective activity of scopoletin, a constituent of *Solanum lyratum*. *Archives of Pharmacal Research*, **21**: 718–722.
- Krishnaiah, D., Nithyanandam, R., dan Sarbatly, R., 2012. *Phytochemical Constituents and Activities of Morinda Citrifolia L.* INTECH Open Access Publisher.
- Lopez-Novoa, J.M., Quiros, Y., Vicente, L., Morales, A.I., dan Lopez-Hernandez, F.J., 2011. New Insights Into The Mechanism of Aminoglycoside Nephrotoxicity: An Integrative Point of View. *Kidney International*, **79**: 33–45.
- Manuele, M.G., Ferraro, G., Barreiro Arcos, M.L., López, P., Cremaschi, G., dan Anesini, C., 2006. Comparative immunomodulatory effect of scopoletin on tumoral and normal lymphocytes. *Life Sciences*, **79**: 2043–2048.
- Mohd Zin, Z., Abdul Hamid, A., Osman, A., Saari, N., dan Misran, A., 2007. Isolation and Identification of Antioxidative Compound from Fruit of Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). *International Journal of Food Properties*, **10**: 363–373.

- Padmavathy, S., Jeyachandran, R., dan Cindrella, L., 2009. Ethnopharmacological Importance of *Morinda citrifolia* L. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines (AJTCAM)*, **6**: 325.
- Perl, A., 2013. Oxidative Stress in The Pathology and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *Nature Reviews Rheumatology*, **9**: 674–686.
- Tostmann, A., Boeree, M.J., Aarnoutse, R.E., De Lange, W.C.M., Van Der Ven, A.J.A.M., dan Dekhuijzen, R., 2008. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **23**: 192–202.
- Vasoo, S., 2006. Drug-induced Lupus: An Update. *Lupus Journal*, **15**: 757–761.
- Windish, H.P., 2008. *Regulation of Immunopathology in Mycobacterium Tuberculosis Infection*. ProQuest, Ann Arbor.
- Yew, W.W. dan Leung, C.C., 2006. Antituberculosis Drugs and Hepatotoxicity. *Respirology*, **11**: 699–707.
- Ziaee, A., Zamansoltani, F., Nassiri, A.M., HAdigol, T., dan Ghasemi, M., 2011. Study of The Hepatoprotective Effects of Rutin on Acetaminophen and Carbon Tetrachloride-induced Liver Injury in Rats. *Journal of Pharmaceutical Science*, **17**: 35–42.