

KK
KKA
TKD. 48/11
Nur
e

TESIS

**EFEK PROTEKTIF TERIPANG PASIR
(*Holothuria scabra*) TERHADAP HEPATOTOKSISITAS
YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)**

**PENELITIAN FARMAKOLOGI EKSPERIMENTAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**



NURHIDAYATI



**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2009**

TESIS

**EFEK PROTEKTIF TERIPANG PASIR
(*Holothuria scabra*) TERHADAP HEPATOTOKSISITAS
YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)**

**PENELITIAN FARMAKOLOGI EKSPERIMENTAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**NURHIDAYATI
NIM. 090610060M**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2009**

**EFEK PROTEKTIF TERIPANG PASIR
(*Holothuria scabra*) TERHADAP HEPATOTOKSISITAS
YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)**

**PENELITIAN FARMAKOLOGI EKSPERIMENTAL
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

TESIS

**Untuk memperoleh Gelar Magister
Pada Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar**

Oleh

**NURHIDAYATI
NIM. 090610060M**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN DASAR
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2009**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL : Januari 2009

Oleh
Pembimbing Ketua



Dr. Endang Isbandiati, dr., MS., SpFK
NIP 130 531 760

Pembimbing



Dr. Ahmad Basori, Drs., Apt., MS
NIP 130 675 601

Mengetahui :
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar



Prof. Retno Handajani, dr., MS., Ph.D
NIP 130 541 984

HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS

Tesis ini telah diuji

pada tanggal 23 Januari 2009

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS

Anggota :

1. Dr. Endang Isbandiati, dr, MS, SpFK
2. Dr. Ahmad Basori, Drs, Apt, MS
3. Dr. Hari Basuki Notobroto.,dr.,M.Kes
4. Troef Soemarno,dr.,MS.,Sp.PA(K)
5. Sri Purwaningsih, dr., M.Kes

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, atas segala Rahmat dan KaruniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Dr. Endang Isbandiati, dr., MS., SpFK, selaku Pembimbing Ketua, sekaligus penasehat Akademik selama mengikuti Program Magister Ilmu Kedokteran Dasar dengan minat studi Farmakologi yang dengan penuh perhatian telah memberikan bimbingan, dorongan, semangat, saran serta inspirasi selama mengikuti proses pendidikan, penelitian dan penulisan tesis ini.

Terima kasih yang tak terhingga juga kami ucapkan kepada Dr. Ahmad Basori, Drs., Apt., MS, selaku Pembimbing yang dengan penuh perhatian telah membimbing, memberikan dorongan, saran serta inspirasi selama mengikuti proses pendidikan, penelitian dan penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada Universitas Mataram cq Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Mataram yang telah memberikan bantuan beasiswa sehingga menunjang studi saya di Program Magister Ilmu Kedokteran Dasar dengan minat studi Farmakologi di Universitas Airlangga.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister di Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Mataram Prof. Mansyur Ma'shum atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan Program Magister di Universitas Airlangga Surabaya.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga beserta Asisten Direktur dan staf atas segala fasilitas dan bantuannya kepada saya selama mengikuti pendidikan Program Magister di Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas segala bantuan yang diberikan selama saya mengikuti Program Pendidikan Magister di Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Mataram, Prof. Dr. Mulyanto, dr., dan para Pembantu Dekan, atas segala bantuan yang diberikan selama saya mengikuti Program Pendidikan Magister di Universitas Airlangga Surabaya.

Ketua Minat Studi Farmakologi, Dr. Endang Isbandiati, dr., MS., SpFK., atas segala fasilitas dan bantuan kepada saya selama menyelesaikan pendidikan.

Ketua Laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, atas segala fasilitas dan bantuan yang diberikan kepada saya selama menyelesaikan penelitian tesis ini.

Ketua Laboratorium Farmakologi Universitas Airlangga, atas segala fasilitas dan bantuan yang diberikan kepada saya selama menyelesaikan pendidikan dan penelitian tesis ini.

Kepada seluruh Dosen Program Pascasarjana Universitas Airlangga, atas ilmu, bimbingan, dorongan maupun saran yang diberikan kepada saya selama pendidikan.

Kepada Tim Penguji Tesis, yang banyak memberikan masukan, saran dan kritikan dalam menyempurnakan tesis ini.

Kedua orang tua tercinta, H. M. Siddik (alm) dan Hj. Marfuah (alm), yang selama hidupnya telah menanamkan nilai luhur dan pantang menyerah dalam menggapai cita-cita, serta doa yang tulus untuk keberhasilan, kesehatan dan kebahagiaan saya. Kepada suami tercinta, Brigadir Abdul Ghafur, SH dan putri tercinta Delvia Nayla Iffati Alghafur yang telah memberikan dorongan semangat, cinta, pengertian dan kesabaran yang luas selama saya mengikuti pendidikan Program Magister di Universitas Airlangga. Kakak-kakakku sekeluarga tercinta; Kak Ida, Kak Yani, Pua Is, Kak Mala, Kak Andang atas segala bantuan, dorongan dan pengertiannya.

Teman-temanku yang baik; dr. Nana, Mbak Wiwin, dr. Nurul, dr. Tutu', drg. Yayuk, dr. Utami, dr. Yuani, Mbak Santi, Wida, Krisya, dan teman-teman yang lain yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, Bapak dan Ibu kost serta warga Karmen III C atas bantuan dan kerja samanya selama masa pendidikan.

Akhir kata, semoga Allah SWT, membalas semua kebaikan ini, serta selalu melimpahkan Rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Amiiin.

Surabaya, April 2009

Hormat kami,

Penulis

RINGKASAN

**EFEK PROTEKTIF TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
TERHADAP HEPATOTOKSISITAS YANG DIINDUKSI
KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)****Penelitian Farmakologi Eksperimental pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Insiden penyakit hati karena obat saat ini semakin meningkat. Akibat dari kerusakan hati oleh induksi obat-obat ini, dapat bersifat fatal bagi konsumennya. Oleh karena itu dibutuhkan perhatian, penanganan yang cepat dan komprehensif. Dengan biaya pengobatan yang semakin mahal saat ini, perlu usaha untuk mencari obat alternatif baru yang berasal dari bahan aktif dari alam sebagai obat yang efektif, aman, sedikit efek samping, dan mudah didapatkan.

Teripang merupakan salah satu bahan alam yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional di Cina dan Malaysia. Indonesia merupakan negara penghasil teripang terbanyak di dunia. Dari literatur diketahui teripang secara umum mengandung senyawa yang bersifat hepatoprotektif seperti karatenoid, vitamin C, dan E, DHA dan EPA serta kondroitin sulfat. Namun, teripang juga mengandung senyawa yang bersifat sitotoksik seperti holotoxin. Mekanisme kerja dari senyawa hepatoprotektor yang diduga terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*) ini adalah sebagai antioksidan.

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan prototipe zat hepatotoksik yang paling sering digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan hepatotoksisitas. Kerusakan hati oleh senyawa ini merupakan model kerusakan hati yang disebabkan oleh radikal bebas.

Tujuan penelitian ini ingin membuktikan bahwa teripang pasir (*Holothuria scabra*) mempunyai efek protektif terhadap hepatotoksisitas akibat induksi dari karbon tetraklorida pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sebagai indikator untuk menilai efek protektif ini adalah enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, serta pemeriksaan histopatologi jaringan hepar.

Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap. Sebanyak 35 ekor tikus putih dibagi ke dalam 7 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol 1 dan 2 menerima CMC 1% per oral 2 kali sehari selama 14 hari, dan pada hari ke 15 kelompok kontrol 1 diberi minyak zaitun per oral untuk meminimalkan bias hasil penelitian, sedangkan kelompok kontrol 2 diinduksi kerusakan hatinya dengan CCl_4 1 ml/kgbb per oral yang diencerkan dengan minyak zaitun. Kelompok perlakuan 1 sampai dengan 5 diberi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan dosis berturut-turut 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg dan 150 mg per oral dan untuk memudahkan pemberian disuspensikan dalam CMC 1 %. Penentuan dosis berdasarkan hasil penelitian eksplorasi dosis. Setiap dosis dibagi dalam 2 kali pemberian per hari selama 14 hari. Pada hari ke 15 semua kelompok perlakuan diinduksi kerusakan hatinya dengan CCl_4 1 ml/kgbb per oral yang diencerkan dengan minyak zaitun. 24 jam kemudian diambil sampel darah dan hepar untuk dilakukan pemeriksaan kadar enzim dan histopatologi hepar. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji kruskal wallis dan uji korelasi spearman serta untuk melihat kecenderungan hubungan dilakukan analisis regresi dengan kurva estimasi.

Dari hasil penelitian diperoleh hasil pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) mampu mencegah peningkatan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, serta mencegah kerusakan hepar pada pemeriksaan histopatologi jaringan hepar, secara signifikan. Efek protektif tertinggi didapatkan pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis teripang pasir 50 mg. Dari penelitian ini juga diperoleh hasil, peningkatan dosis teripang tidak meningkatkan efek protektif, bahkan memperlihatkan kecenderungan munculnya efek toksik. Dari uji korelasi spearman terlihat tidak ada korelasi antara dosis teripang pasir dengan indikator penelitian ini.

SUMMARY

The protective effects of sea cucumber (*Holothuria scabra*) against the hepatotoxicity of Carbon Tetrachloride (CCl₄).

Pharmacological experimental study in Rats (*Rattus norvegicus*)

The Incidence of drugs-induced liver diseases are increasing in recent years. The effects of drugs-induced liver diseases can be severe for the patients. Therefore, it is need an attention, rapid and comprehensive treatment. Since the increased of cost modern medicinal treatment, it is need to find an alternative drugs from nature which effective, safe, few adverse effects, cheap and easy to get.

Sea cucumber is a nature material which used in traditional medicine in China and Malaysia for a long time ago. Indonesia is a highest producer of sea cucumber in the world. In the literatures which mentioned sea cucumber, explained that sea cucumber contained substances with hepatoprotective effects like carotenoids, vitamin C, and E; DHA, EPA and chondroitine sulfate. Unfortunately, sea cucumber also contained substances that has citotoxic effects like holotoxin. The mechanism of hepatoprotector substances in sea cucumber as an antioxidant.

Carbon Tetrachloride (CCl₄) is prototype hepatotoxin which often used in research about hepatotoxicity. The liver injury of this substance is caused by free radical.

This research want to prove that sea cucumber (*Holothuria scabra*) has protective effect against the hepatotoxicity of carbon tetrachloride (CCl₄) in rats (*Rattus norvegicus*). As indicators to appraised protective effects of sea cucumber are SGOT (AST), SGPT (ALT), and γ -GT enzymes, and evaluation histophalological of liver tissue.

This study used completely randomized test design. 35 rats (*Rattus norvegicus*) divided into 7 groups were 2 control groups and 5 treatment groups. The first and second control groups received CMC 1% per oral twice a day for 14 days and in the day fifteenth, the first control group received olive oil per oral,

whereas second control group has induction liver injury with CCl_4 1 ml/kg weight per oral. The first until fifth treatment groups received sea cucumber (*Holothuria scabra*) with gradually doses 25 mg., 50 mg, 75 mg, 100 mg and 150 mg per oral that suspension into CMC 1%. Each doses divided into twice per day for 14 days. On day fifteenth, all treatment groups received CCl_4 1 ml/kg weight per oral to induce liver injury. 24 hours later, blood and liver samples were collected to measure SGOT (AST), SGPT (ALT) and γ -GT enzymes concentration and to evaluate histopathological of liver injury. Data resulted from blood and liver samples were statically calculated by Kruskal-Wallis test, Spearman correlation test and regression with curve estimation.

The results of this study revealed that administration of sea cucumber (*Holothuria scabra*), prevent the increased SGOT (AST), SGPT (ALT) and γ -GT enzymes concentration and prevent liver injury compared to second control group, statically significant. The highest protective effects appeared from second treatment group which received dose 50 mg of sea cucumber (*Holothuria scabra*). This study also showed that increasing dose of sea cucumber (*Holothuria scabra*) did not increased protective effects, moreover showed the tendency of toxic effects. The Spearman test showed no correlation between dose and indicators in this study.

ABSTRACT

Objective : this study explored the the protective effects of sea cucumber (*Holothuria scabra*) against the hepatotoxicity of carbon tetrachloride (CCl₄) in rats (*Rattus norvegicus*).

Design and methods: This study used completely randomized design. 35 rats (*Rattus norvegicus*) divided into 7 groups were 2 control groups and 5 treatment groups. The first and second control groups received CMC 1% per oral twice a day for 14 days and in the day fifteenth, the first control group received olive oil per oral, whereas second control group received CCl₄ 1 ml/kg weight per oral to induce liver injury. The first until fifth treatment groups received sea cucumber (*Holothuria scabra*) with gradually dosis 25 mg., 50 mg, 75 mg, 100 mg and 150 mg per oral that suspension into CMC 1%. Each doses divided into twice per day for 14 days. On day fifteenth, all treatment groups received CCl₄ 1 ml/kg weight per oral to induce liver injury. 24 hours later, blood and liver samples were collected to measure SGOT (AST), SGPT (ALT) and γ -GT enzymes concentration and to evaluate histopathological of liver injury. Data resulted from blood and liver samples were statically calculated by Kruskal-Wallis test, Spearman correlation test and regression with curve estimation.

Result : The results of this study revealed that administration of sea cucumber (*Holothuria scabra*) prevent increased of SGOT (AST), SGPT (ALT) and γ -GT enzymes concentration and prevent liver injury compared to second control group, and statically significant. The highest protective effects appeared from second treatment group which received dose 50 mg of sea cucumber (*Holothuria scabra*). This study also showed that increasing dose of sea cucumber (*Holothuria scabra*) did not increased protective effects, moreover showed the tendency of toxic effects. The Spearman test showed no correlation between dose and indicators in this study.

Conclusion : pre treatment with sea cucumber (*Holothuria scabra*) prevent carbon tetrachloride-induced liver injury in rats (*Rattus norvegicus*)

Key word : sea cucumber (*Holothuria scabra*), carbon tetrachloride, SGOT(AST), SGPT (ALT) and γ -GT , hepatotoxicity, steatosis, necrosis.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hepatitis merupakan penyakit yang angka kejadiannya tinggi di Indonesia. Di Propinsi Nusa Tenggara Barat, angka kejadian hepatitis B sangat tinggi (Hong et al., 2001). Selain virus, hepatitis dan kerusakan hati lainnya juga bisa disebabkan oleh obat, jamu, racun dan senyawa kimia lingkungan. Kerusakan hati karena obat menjadi masalah kesehatan utama yang dihadapi tidak hanya oleh pemberi pelayanan kesehatan profesional tetapi juga industri farmasi dan agen penyalur obat. Angka kejadian kerusakan hati yang diinduksi oleh obat semakin meningkat seiring dengan makin banyaknya obat yang digunakan dalam praktek kedokteran. Lebih dari 1100 obat, jamu, racun dan senyawa kimia lingkungan telah diketahui menyebabkan kerusakan hati dan bilier (Maclaren, 2005).

Di seluruh dunia, prevalensi penyakit hati akibat obat mencapai angka 5-9% dari seluruh reaksi efek samping obat. Sekitar 10 % kasus hepatitis pada pasien dewasa dan lebih dari 40 % pada manula disebabkan oleh obat. Dari angka tersebut, 10-20 % menderita hepatitis fulminan dan subfulminan (Sage et al., 2004). Di Amerika Serikat dilaporkan sekitar 200 kasus kegagalan hati fulminan terjadi setiap tahun diakibatkan oleh obat (Maclaren, 2005).

Mengingat tingginya angka kejadian dan fatalnya akibat dari kerusakan hati akibat obat-obat ini, maka diperlukan perhatian, penanganan yang cepat dan komprehensif. Dengan biaya pengobatan yang semakin mahal saat ini, perlu usaha untuk mencari obat alternatif baru yang berasal dari bahan aktif dari alam sebagai

obat yang efektif, aman, dan mudah didapatkan. Departemen Kesehatan yang telah mencanangkan program pengembangan obat tradisional ke arah obat kelompok fitoterapi, sebagai pelaksanaan amanat GBHN 1988 yang intinya menyatakan bahwa dalam rangka meningkatkan pelayanan kesehatan secara lebih luas dan merata, sekaligus memelihara dan mengembangkan warisan budaya bangsa, perlu terus dilakukan penggalian, penelitian, pengujian dan pengembangan obat-obat tradisional (Sirait M, 1991).

Salah satu bahan dari alam yang diduga mengandung bahan aktif yang dapat menjaga dan mengembalikan fungsi hati yang rusak adalah teripang. Teripang telah lama digunakan sebagai sumber obat tradisional di Malaysia dan Cina. Menurut sejarah, para nelayan menggunakan teripang sebagai obat luka. Obat ini mereka sebut gamat, spesies teripang yang dimanfaatkan, terutama *Holothuria atra*, *Stichopus hermanii* dan *Stichopus horrens* (<http://www.gamat.rpayou.com>,2007). Penelitian modern telah memperlihatkan bahwa selain menyembuhkan luka, senyawa dalam teripang juga mengandung senyawa yang bersifat antikoagulan dan antitrombotik, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, antikanker dan antitumor, antibakteri, imunostimulan, antijamur, antivirus, antirematik dan radang sendi lainnya (Farouk et al.,2007).

Khasiat yang dikandung teripang demikian banyak karena memiliki kandungan gizi yang lengkap. Kandungannya antara lain : **lektin** (Mojica et al.), **sterol** (Stonik,1986), **saponin/triperten glikosid** (echinosid, holothurin A, holothurin B, holotoxin A, holotoxin B, holotoxin A1, holotoxin B1, stikoposid, telenotosid, cucumariosid; philinopgenin A, philinopgenin B, philinopgenin C, philinopside E, synallactosid, hemoiedemosid, liouvillosid, calcigerosid, kerosid,

DS-penaustrosid)((Stonik,1986; Tian et al., 2007; Chi et al., 2005; Dang,2007; Zhang,2004), **protein**, **kolagen**, **mukopolisakarida**, **glikosaminoglikan** (Zhiguang et al.,2000; Kariya et al.,1999;Trubus,2006), **kondroitin sulfat E**, **kondrotin sulfat fukosilat** (Kariya et al.,1990; Mourao et al.,1996; Tovar et al., 1991), **asam amino** (aspartat, glutamat, histidin, treonin, alanin, arginin, prolin, tirosin, valin, serin, glisin, sistein, isoleusin, leusin, fenilalanin dan lisin) (Rodriguez et al.,2000), **asam lemak** (miristat, palmitat, palmitoleat, stearat, oleat, linoleat, araksidat, eicosapentaenat (EPA), behenat, erusat dan docosahexesaenat (DHA)) (Fredelina et al., 1999; Svetashev et al.,2002; Kasai,2003;Trubus,2006) **vitamin** (tiamin, riboflavin, niacin, C, E) (Trubus, 2006; Madhavan,1998), **karotenoid** (β -Carotene, β -echinenone, canthaxanthin, phoenicoxanthin dan astaxanthin, cucumariasantin A, cucumariasantin B dan cucumariasantin C) (Matsuno et al., 1999), **mineral** (besi, magnesium, kalsium, zinc, kromium) (Trubus, 2006), **polifenol** dan **flavonoid** (Mamelona et al.,2007), **SOD** (Hawa et al.,1999).

Beberapa senyawa telah dibuktikan melalui penelitian ilmiah dapat menjaga fungsi hati, baik sebagai hepatoprotektor ataupun pengobati kerusakan hati bila kerusakan tersebut telah terjadi. Contoh senyawa tersebut adalah vitamin A, C dan E (Sies et al., 1995), senyawa polifenol dan flavonoid (Middleton et al, 2000), kondroitin sulfat (Ha et al., 2003), EPA dan DHA (Gonzales et al., 2006) yang bersifat antioksidan sehingga dapat meredam radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya kerusakan hati oleh radikal bebas. Selain memiliki efek antioksidan, EPA dan DHA (Gonzales et al., 2006) serta kondroitin sulfat (Ha et al.,2003) yang dapat mengurangi reaksi inflamasi (nekroinflamasi) sehingga mencegah

kerusakan sel yang lebih parah. Senyawa-senyawa ini terkandung dalam teripang dan diduga juga terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*), sehingga diduga, teripang pasir (*Holothuria scabra*) mampu mencegah kerusakan hati akibat radikal bebas, termasuk dalam hal ini adalah radikal bebas hasil metabolisme karbon tetraklorida (CCl_4).

Indonesia merupakan penghasil teripang terbesar di dunia, setidaknya terdapat 26 spesies teripang. Di NTB, sebagai salah satu penghasil teripang di Indonesia, jenis teripang yang paling banyak ditemukan adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*). Namun, walaupun Indonesia merupakan penghasil teripang terbesar, sayangnya semua diekspor sebagai teripang segar dan teripang yang telah diawetkan, belum ada upaya pemanfaatan zat aktif yang terkandung dalamnya (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2006).

Karbon tetraklorida (CCl_4) adalah salah satu senyawa yang sangat toksik. Hati merupakan salah satu target organ toksisitas CCl_4 (EHC 208, 1999). Saat ini, CCl_4 tidak lagi dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari karena efek toksiknya. Namun, CCl_4 sekarang terus digunakan sebagai model untuk menjelaskan mekanisme terjadinya beberapa efek hepatotoksik seperti degenerasi lemak (steatosis), fibrosis, kematian hepatoselular, dan karsinogenitas (Weber et al., 2003). CCl_4 sering digunakan sebagai model untuk meneliti pengaruh berbagai senyawa yang diduga berpotensi untuk mencegah kerusakan hati (hepatoprotektor) maupun mengobati kerusakan hati yang diakibatkan oleh senyawa toksik yang mekanisme toksisitasnya mirip dengan mekanisme hepatotoksik CCl_4 (Junilla et al., 2000).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan fakta dan uraian pada latar belakang di atas maka terdapat masalah yang perlu diteliti yaitu apakah teripang pasir (*Holothuria scabra*) memiliki efek hepatoprotektif terhadap induksi karbon tetraklorida (CCl_4) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek protektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hepatotoksisitas yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur dan menganalisis efek teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar SGOT (AST) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)
2. Mengukur dan menganalisis efek teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar SGPT (ALT) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)
3. Mengukur dan menganalisis efek teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar γ -GT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)
4. Mengidentifikasi dan menilai efek teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap derajat steatosis dan derajat nekrosis hepatosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)

5. Untuk membuktikan *Dose Response Relationship* yaitu hubungan antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar SGOT (AST), SGPT (ALT), γ -GT dan derajat steatosis dan nekrosis hepatosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk :

1. Memberikan suatu wacana ilmiah tentang kemungkinan manfaat teripang pasir (*Holothuria scabra*) sebagai hepatoprotektor pada kerusakan hati akibat induksi obat-obatan (*drugs-induced liver injury*).
2. Memberikan nilai tambah keragaman hayati untuk kemajuan dan pengembangan obat tradisional.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang hati

2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Hati

Hati merupakan organ terbesar tubuh, terletak dalam rongga abdomen di bawah diafragma, berkonsistensi lunak dan pada orang dewasa beratnya sekitar 1400 – 1600 mg atau sekitar 2,5 % dari berat badan. Hati dibungkus oleh suatu kapsul tipis yang terdiri atas serabut-serabut elastis yang disebut kapsula glisoni. Dalam keadaan segar, hati berwarna merah tua atau kecoklatan yang disebabkan oleh adanya darah yang sangat banyak dalam organ ini. Hati mempunyai 2 suplai darah yaitu arteri hepatica dan vena porta dan mempunyai 3 sistem drainase yaitu vena hepatica, pembuluh hepatica dan saluran empedu (Cotran et.al.,2005;Roberts et al., 2000).

Hati terdiri atas beberapa jenis sel. Hepatosit atau sel parenkim merupakan sel yang utama, sekitar 75 % dari total sel dalam hati. Hepatosit tersusun secara radier dalam satu atau dua lapis sel yang dipisahkan oleh sinusoid. Sinusoid merupakan pembuluh kapiler yang terbentuk di antara sel-sel hepatosit yang susun radier. Selain hepatosit, terdapat pula sel kupffer, yang tersebar di jaringan hati. Sel kupffer merupakan sel makrofag dan berperan untuk memfagositosis mikroorganisme dan benda asing dalam darah yang bersirkulasi di hati (Cotran et.al.,2005; Roberts et al., 2000).

Struktur hati secara klasik terbagi atas lobulus-lobulus yang berbentuk heksagonal dengan diameter 1-2 mm dan berorientasi ke vena hepatica /vena

sentral. Pada setiap sudut heksagonal terdapat vena porta, arteri hepatica dan duktus bilier atau disebut segi tiga porta. Struktur hati juga dapat dibagi atas asinus-asinus. Asinus-asinus ini terbagi lagi atas zona-zona. Zona terdekat dengan vena sentral adalah zona 3. Zona terluar, yang dekat dengan segita porta merupakan zona 1. Zona 2 terletak diantara zona 1 dan 3. Pada zona 3 ditemukan kadar enzim sitokrom P450 paling tinggi sehingga zona ini paling besar fungsinya dalam mendetoksifikasi zat kimia yang menjadi substrat enzim ini, termasuk diantaranya karbon tetraklorida (CCl_4) (Cotran et.al., 2005; Roberts et al., 2000)

Organ hati memiliki fungsi yang sangat besar dalam tubuh. Fungsi hati tersebut antara lain memetabolisme karbohidrat, protein, lemak, hormon dan vitamin; tempat penyimpanan glukosa, lemak, vitamin dan mineral; mensintesis protein serum; detoksifikasi dan ekskresi sisa metabolisme endogen dan polutan eksogen (Cotran et.al., 2005; Roberts et al., 2000).

2.1.2 Tes Fungsi Hati

Kerusakan hati baik yang bersifat akut maupun kronis oleh berbagai sebab dapat menimbulkan kematian hepatosit, kerusakan vaskular hepatic, gangguan pembentukan dan/atau aliran empedu atau tumbuh tumor benigna atau maligna. Kerusakan hepatosit akan menyebabkan lepasnya enzim-enzim yang terdapat dalam hepatosit, baik yang terikat ke membran sel, dalam sitoplasma maupun organel sel. Jenis enzim dan seberapa banyak kadarnya dalam darah tergantung pada derajat kerusakan sel dan juga sel mana yang lebih dominan kerusakannya (Roberts et al., 2000).

Kerusakan pada membran hepatosit dapat menyebabkan terlepasnya enzim yang terikat ke membran sel ke dalam sirkulasi darah. Salah satu enzim yang

terikat ke membran sel dan banyak ditemukan di hepatosit dan sel duktus bilier adalah enzim γ -GT (γ -Glutamyl Transpeptidase). T_{1/2} enzim ini dalam serum sekitar 96 jam (Giannini et al.,2005).

Enzim lain yang banyak ditemukan dalam hepatosit adalah SGOT (AST) dan SGPT (ALT). Pengujian kadar enzim SGOT dan SGPT (AST) sebagai indikasi kerusakan hati sampai saat ini dianggap paling praktis. Enzim SGOT (AST) terdapat di sitoplasma (20%) dan mitokondria (80%), sedangkan SGPT (ALT) hanya terdapat di sitoplasma. Enzim SGOT (ALT) paling tinggi konsentrasinya dalam sel hepatosit di zona 3 asinus hepatic. Enzim SGOT (AST) selain terdapat dalam sel hepar juga ditemukan pada sel-sel di organ lain yaitu jantung, otot lurik, ginjal, otak dan eritrosit, sedangkan enzim SGPT (ALT) terdapat dalam sel otot lurik dan ginjal tapi konsentrasinya rendah (Giannini et al.,2005; Dufour et al.,2007). Kadar enzim SGOT (AST) pada manusia normal adalah 5-40 unit/ml, sedangkan SGPT (ALT) 5-35 unit/ml. Kadar enzim SGPT (ALT) pada tikus 17,5-30,2 IU/liter dan SGOT (AST) 45,7-80,8 IU/L (Kusuma ,2004). T_{1/2} enzim SGPT (ALT) dalam sirkulasi sekitar 47 jam, SGOT (AST) sekitar 17 jam. Kedua enzim ini cukup baik sebagai indikator kerusakan dan perbaikan hepatosit (Giannini et al.,2005; Dufour et al.,2007).

2.2 Tinjauan tentang Kerusakan Hati Akibat Obat-Obatan (*Drugs-induced liver injury*)

2.2.1 Epidemiologi

Angka kejadian kerusakan hati yang diinduksi oleh obat semakin meningkat seiring dengan makin banyaknya obat yang digunakan dalam praktek kedokteran. Lebih dari 1100 obat, jamu, racun dan senyawa kimia lingkungan telah diketahui menyebabkan kerusakan hati dan bilier (Maclaren, 2005).

Di seluruh dunia, prevalensi penyakit hati akibat obat mencapai angka 5-9% dari seluruh reaksi efek samping obat. Sekitar 10 % kasus hepatitis pada pasien dewasa dan lebih dari 40 % pada manula disebabkan oleh obat. Dari angka tersebut, 10-20 % menderita hepatitis fulminan dan subfulminan (Sage et al., 2004). Di Amerika Serikat dilaporkan sekitar 200 kasus kegagalan hati fulminan terjadi setiap tahun diakibatkan oleh obat. Kasus rawat inap pasien yang mengalami kerusakan hati akibat obat sekitar 2-3% (Maclaren, 2005).

2.2.2. Mekanisme dan Tipe Reaksi Obat

Patofisiologi penyakit hati akibat obat dan toksin dapat dikelompokkan atas 4 kompleks mekanisme, yaitu hepatitis, yang juga disebut kerusakan hepatoseluler atau sitotoksik; kolestasis; kerusakan vaskuler; dan neoplasma. Setiap kompleks mekanisme ini memiliki mekanisme spesifik yang mendasari proses kejadiannya (Maclaren, 2005).

Mekanisme biokimiawi seluler yang mendasari kerusakan hati akibat secara umum adalah akumulasi radikal bebas atau stress oksidatif, kerusakan membran sel dan organel, kekurangan ATP dan gangguan homeostasis kalsium sel (Kumar et al., 2005).

2.2.2.1 Akumulasi Radikal Bebas

Kerusakan sel akibat radikal bebas dapat diakibatkan oleh 3 reaksi yaitu :

2.2.2.1.1 Peroksidasi Lemak pada Membran Sel dan Organel

Kerusakan oksidatif dimulai bila ikatan rangkap dalam asam lemak tak jenuh pada lemak membran diserang oleh radikal bebas, terutama radikal OH. Interaksi lemak dengan radikal bebas menyebabkan terjadinya peroksida yang bersifat tidak stabil dan reaktif, dan memicu suatu reaksi rantai autokatalisis yang

disebut propagasi yang menghasilkan kerusakan yang berat pada membran, organel dan seluler (Kumar et al.,2005).

Asam lemak tak jenuh pada membran sel mengalami oksidasi melalui 3 tahap reaksi yaitu pembentukan senyawa radikal alkil dan hidroperoksida lemak, dekomposisi hidroperoksida lemak menjadi radikal bebas hidroksil dan alkosil, dan akhirnya radikal alkosil menjadi radikal aldehid (MDA= malondialdehid) yang toksik terhadap sel.

2.2.2.1.2 Modifikasi Oksidatif Protein

Radikal bebas merangsang oksidasi residu asam amino rantai samping, membentuk ikatan silang protein-protein (misalnya antara ikatan-ikatan disulfida) dan oksidasi rangka protein menyebabkan fragmentasi protein. Modifikasi oksidatif meningkatkan degradasi protein penting oleh kompleks multikatalitik proteosome, menyebabkan kerusakan di seluruh sel (Kumar et al.,2005).

2.2.2.1.3 Lesi pada DNA

Reaksi antara radikal bebas dengan timin pada DNA inti sel dan DNA mitokondria menghasilkan patahan tunggal pada DNA. Kerusakan pada DNA ini berimplikasi pada proses penuaan dan transformasi malignansia pada sel (Kumar et al.,2005).

2.2.2.2 Kerusakan Membran Sel dan Organel

Hilangnya sifat permeabilitas selektif membran sel dan atau organel menimbulkan dampak yang sangat besar pada sel dan dapat memicu rangkaian peristiwa lain yang juga dapat menyebabkan kematian sel. Kerusakan membran sel dapat diakibatkan oleh senyawa yang secara langsung merusak sel seperti toksin dari beberapa bakteri, protein virus dan komponen litik komplemen.

Kerusakan membran juga dapat merupakan akibat sekunder dari kerusakan fungsi dan struktur lain dalam sel oleh sebab lain seperti disfungsi mitokondria, gangguan homeostasis kalsium, abnormalitas sitoskeleton, akibat hasil pemecahan lemak dan *reactive oxygen species (ROS)* (Kumar et al.,2005).

2.2.2.3 Depleksi ATP

Kekurangan ATP dan penurunan sintesis ATP sering terjadi pada kerusakan sel karena hipoksia dan senyawa kimia (toksik). Kekurangan ATP mempengaruhi beberapa sistem selular yang penting seperti mengganggu aktivitas pompa natrium pada membran sel, mengganggu metabolisme energi seluler, gangguan hemostasis kalsium, dan menurunkan sintesis protein (Kumar et al.,2005).

2.2.2.4 Kerusakan Mitokondria

Mitokondria merupakan target penting pada hampir semua stimulus kerusakan sel, termasuk toksin. Mitokondria dapat dirusak oleh peningkatan kadar kalsium sitosolik (gangguan hemostasis kalsium), stress oksidatif, pemecahan fosfolipid, hasil pemecahan lemak seperti asam lemak bebas. Kerusakan mitokondria juga sering diakibatkan oleh terbentuknya *mitochondrial permeability transition (MPT)* pada membran dalam mitokondria (Kumar et al.,2005).

2.2.2.5 Gangguan Hemostasis Kalsium

Ion kalsium merupakan mediator kerusakan sel. Peningkatan kadar kalsium sitosol melebihi kadar normal oleh sebab apapun, dapat memicu kerusakan sel. Kadar kalsium sitosol yang tinggi dapat mengaktifkan beberapa enzim, yaitu ATPase sehingga menurunkan kadar ATPase, enzim fosfolipase yang menurunkan fosfolipid sehingga menimbulkan kerusakan membran sel,

mikroskopis. Perubahan secara makroskopis yang dapat diamati dan diukur adalah berupa perubahan ukuran, berat, konsistensi, dan warna.

Pemeriksaan mikroskopis dapat dilakukan dengan pengamatan histologis irisan hati. Pada pengamatan ini dapat dilihat perubahan gambaran yang terjadi berdasarkan perubahan pada tingkat seluler hati, mulai dari inflamasi, degenerasi dan akumulasi intraseluler sampai apoptosis dan nekrosis. Degenerasi (steatosis) dapat berupa degenerasi bengkak keruh (*Cloudy Swelling*), degenerasi hidropik, dan degenerasi perlemakan (Kumar et al.,2005).

Gambaran perubahan jaringan hati akibat induksi karbon tetraklorida (CCl_4) tergantung pada dosis, lama paparan dan rute masuknya CCl_4 ke dalam tubuh. Gambaran histologi jaringan hati akibat induksi CCl_4 yang dapat diamati mulai dari infiltrasi sel inflamasi, steatosis sampai nekrosis. Degenerasi *balloning* dicirikan oleh hepatosit yang membengkak dengan organel sitoplasma ireguler dan daerah jernih yang luas dalam sitoplasma. Steatosis, dicirikan oleh adanya akumulasi trigliserida dalam sitoplasma, bila droplet trigliserida tersebut kecil dan banyak serta tidak mengubah posisi inti sel maka disebut steatosis mikrovesikuler, sedangkan bila droplet tersebut tunggal dan besar sehingga menggeser posisi inti sel, disebut steatosis makrovesikuler (Crawford, 2005). Hepatosit yang mengalami nekrosis dicirikan antara lain dengan ukuran sel membesar dengan inti sel piknosis, karyorrheksis sampai karyolisis dan membran plasma terputus (Kumar et al.,2005). Perubahan jaringan hati akibat induksi karbon tetraklorida (CCl_4) terutama terajadi di zona 3 lobulus hati (sentrilobuler) (Kumar et al.,2005; Maclaren,2005).

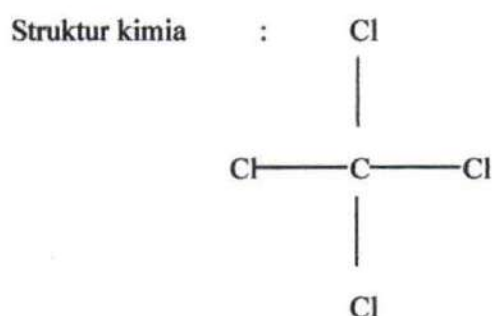
2.3 Tinjauan tentang Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan salah satu hepatotoksin yang paling sering digunakan dan dianggap sebagai model dalam penelitian eksperimental penyakit hati. Efek yang ditimbulkan oleh CCl₄ terhadap jaringan hati tergantung pada dosis, lama paparan (Junilla et al.,2000).

2.3.1 Identitas, Sifat Fisik dan Kimia

2.3.1.1 Identitas

Formula kimia : CCl₄



Nama umum : karbon tetraklorida

Nama lain : karbona, karbon klorida, tetraklorometan, karbontet, metan tetraklorida, perklorometan, tetraklorokarbon (EHC 208, 1999)

2.3.1.2 Sifat Fisik dan Kimia

Karbon tetraklorida adalah suatu senyawa yang mudah menguap, tidak berwarna, jernih, cairan kental dengan ciri-ciri manis dan tidak menimbulkan iritasi. Karbon tetraklorida larut pada sebagian besar pelarut alifatik dan karbon tetraklorida sendiri merupakan pelarut bagi resin benzil, bitumen, karet yang terklorinasi, minyak dan lemak. Kelarutan dalam air rendah. Karbon tetraklorida tidak mudah terbakar dan sangat stabil bila terpapar udara dan cahaya.

Dekomposisi dari karbon tetraklorida membentuk fosfogen, karbon dioksida dan asam hidroklorik (EHC 208, 1999).

2.3.2 Farmakokinetik

2.3.2.1 Absorpsi

Karbon tetraklorida diabsorpsi secara cepat dari saluran pencernaan dan pernapasan. Sekitar 85% senyawa ini akan diabsorpsi melalui saluran pencernaan pada pemberian peroral. Absorpsi melalui kulit baik pada fase gas maupun cair, mungkin terjadi, tetapi absorpsi fase gas melalui kulit sangat rendah. Kecepatan absorpsi tergantung pada keadaan paparan (EHC 208, 1999).

Absorpsi dan kadar dalam jaringan karbon tetraklorida yang diencerkan dengan air setelah pemberian secara bolus peroral, lebih tinggi dibandingkan setelah pemberian peroral secara infus. Absorpsi karbon tetraklorida yang diencerkan dengan minyak jagung dan emulsi air bervariasi tergantung pada spesies binatang coba, dosis dan lama pemberian. Namun, secara umum absorpsi senyawa ini dalam bentuk air sangat cepat dan banyak, sedangkan absorpsi sediaan minyak jagung, lebih lambat dan sedikit (EHC 208, 1999).

2.3.2.2 Distribusi

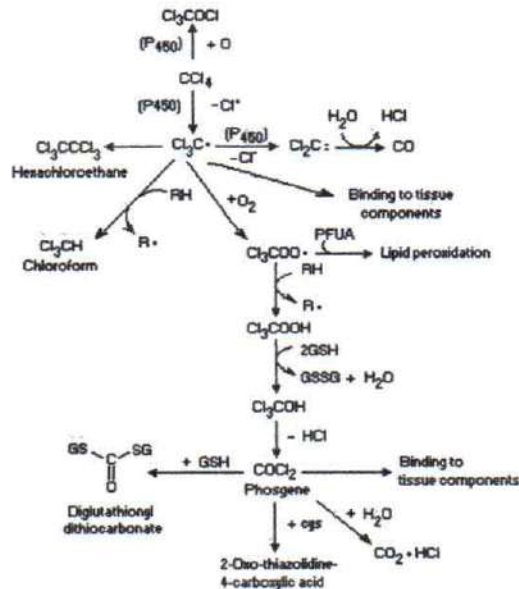
Distribusi karbon tetraklorida dalam jaringan tikus 3 jam setelah pemberian per oral secara berturut-turut adalah hati, ginjal, otak, otot dan darah. Karbon tetraklorida lebih terakumulasi dalam jaringan lemak. Konsentrasi setelah pemberian per oral lebih tinggi di dalam jaringan hati mungkin disebabkan setelah diabsorpsi akan masuk ke sirkulasi portal. Kadar puncak karbon tetraklorida dalam jaringan hati, ginjal dan jantung setelah pemberian per oral secara infusum selama 2 jam dicapai setelah 120 menit; 150 menit dalam otak, otot dan ginjal;

180 menit dalam paru-paru; dan 360 menit dalam jaringan lemak (EHC 208, 1999).

2.3.2.3 Biotransformasi

Metabolisme karbon tetraklorida melibatkan enzim sitokrom P450. Isoenzim sitokrom P450 yang terlibat pada proses metabolisme ini adalah CYP2E1 dan CYP2B1/B2. Proses metabolisme diawali dengan transport elektron ke ikatan C-Cl, membentuk radikal anion yang mengeliminasi klorida sehingga terbentuk radikal triklorometil (CCl_3^*). Radikal ini dapat mengalami biotransformasi oksidatif dan atau reduktif (EHC 208, 1999).

Dalam proses eliminasi, radikal triklorometil (CCl_3^*) akan bereaksi dengan molekul oksigen sehingga terbentuk radikal triklorometilperoksil (CCl_3O_2^*). Senyawa intermediet ini lebih reaktif dari senyawa triklorometil, tetapi umurnya lebih pendek. Radikal CCl_3O_2^* dapat berinteraksi dengan lemak membentuk peroksida lemak. Radikal triklorometilperoksil (CCl_3O_2^*) akan mengalami reaksi lebih lanjut membentuk fosfogen, yang dapat berinteraksi dengan makromolekul jaringan atau dengan air, dan akhirnya akan menghasilkan asam hidroklorik dan karbon dioksida (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).



Skema 2.1 . Biotransformasi CCl₄
(dari Harris & Anders; Anders & Jakobson, 1985;
Megregor & Lang, 1996)

2.3.2.4 Eliminasi

Eliminasi karbon tetraklorida dapat melalui semua jalur eliminasi dan dalam bentuk asal ataupun sisa metabolisme. Eliminasi karbon tetraklorida dalam bentuk asal melalui pernapasan tinggi pada dosis yang tinggi. Dalam jumlah yang lebih kecil, karbon tetraklorida diekresi dalam bentuk karbon dioksida atau kloroform atau dalam bentuk asal melalui feses dan urin (EHC 208, 1999).

2.3.3 Farmakodinamik dan Mekanisme Hepatotoksiksisitas Karbon Tetraklorida

Toksikitas karbon tetraklorida pada berbagai organ tubuh dapat diakibatkan oleh senyawa ini dalam bentuk asal maupun dalam metabolitnya. Hepatotoksiksisitas dihubungkan dengan reaksi radikal bebas yaitu radikal triklorometil (CCl₃·) dan radikal triklorometilperoksil (CCl₃O₂·) dengan lemak, protein, karbohidrat dan DNA. Tidak ada reseptor spesifik yang dipengaruhi oleh CCl₄ dalam

menimbulkan efek hepatotoksik. Efek toksisitas CCl_4 tergantung pada dosis, lama paparan, cara pemberian dan waktu pengamatan (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).

Terdapat 2 mekanisme berbeda yang mengawali hepatotoksikitas karbon tetraklorida, yaitu terbentuknya ikatan kovalen yang memicu reaksi haloalkilasi, dan peroksidasi lipid. Keduanya mampu menimbulkan kerusakan sel, baik yang bersifat reversibel maupun ireversibel, tergantung pada dosis, lama paparan dan adanya faktor lain yang memperberat toksisitas CCl_4 (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).

2.3.3.1 Radikal CCl_3^* dan Haloalkilasi

Radikal triklorometil (CCl_3^*) dapat bereaksi dengan berbagai substansi biologi penting, seperti asam amino, nukleotida, asam lemak, protein, asam nukleat dan lemak. Reaksi terjadi karena terbentuknya ikatan kovalen antara radikal triklorometil (CCl_3^*) dengan substansi biologi penting seluler (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).

Ikatan kovalen antara radikal triklorometil (CCl_3^*) dengan asam nukleat, dapat menyebabkan terjadinya mutasi gen yang salah satu implikasinya adalah terjadinya transformasi malignansia pada sel (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).

Ikatan kovalen radikal triklorometil (CCl_3^*) dengan protein memicu terjadinya hipometilasi pada rRNA sehingga menghambat sintesis protein. Penurunan sintesis protein selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya steatosis bahkan kematian sel. Hipometilasi seluler juga mempengaruhi metabolisme lemak dan lipoprotein. Gangguan metabolisme lemak pada awal intoksisitas CCl_4 yang menyebabkan steatosis adalah hambatan sekresi lipoprotein dari hepatosit ke

sirkulasi sistemik. Perlemakan hepar yang semakin luas (steatosis makrovesikuler) berhubungan dengan jumlah metabolit reaktif dari CCl_4 . Akumulasi lemak intraseluler terjadi karena adanya gangguan fungsi aparatus golgi. Akumulasi lemak intraseluler ini akan selaras dengan perubahan fungsi membran sel (Weber et al.,2003).

2.3.3.2 Radikal CCl_3O_2^* , Peroksida Lipid, dan Kerusakan Membran

Radikal triklorometil (CCl_3^*) dengan kehadiran oksigen berubah menjadi radikal CCl_3O_2^* . Radikal ini lebih reaktif tetapi umurnya lebih singkat daripada radikal CCl_3^* . Lama hidup radikal ini hanya dalam milidetik. Radikal CCl_3O_2^* lebih reaktif dalam menghilangkan hidrogen dari PUFA sehingga proses peroksidasi lemak lebih cepat (Weber et al.,2003).

Menghilangnya hidrogen dari asam lemak mengawali rangkaian reaksi yang menyebabkan disintegrasi lengkap dari molekul PUFA dengan membentuk aldehid, karbonil dan alkan. Semua proses ini dinamakan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid mungkin merusak fungsi seluler melalui 2 mekanisme yaitu dengan merusak fungsi membran dan pembentukan senyawa reaktif intermediet (aldehida reaktif) yang dapat berikatan kovalen dengan struktur sel (Weber et al.,2003).

Aldehida reaktif adalah bentuk komponen karbonil sebagai hasil peroksidasi lipid. Aldehid reaktif bila berikatan dengan molekul biologi penting seluler, dapat menyebabkan kerusakan DNA, memblokir sintesis lipoprotein, menghambat enzim Ca^{2+} -ATPase, Na^+ , K^+ -ATPase, mengaktifkan enzim seperti enzim endonuklease, fosfolipase dan protease. Semua aktivitas enzim ini turut mengambil peran dalam proses toksisitas CCl_4 (Weber et al.,2003).

Kerusakan fungsi membran dapat memicu serangkaian reaksi lain yang juga menyebabkan kerusakan pada sel. Hilangnya kemampuan permeabilitas selektif membran sel menyebabkan gangguan bahkan hilangnya hemostasis kalsium (Weber et al.,2003). Ion kalsium merupakan mediator kerusakan sel. Peningkatan kadar kalsium sitosol melebihi kadar normal oleh sebab apapun, dapat memicu kerusakan sel. Kadar kalsium sitosol yang tinggi dapat mengaktifkan beberapa enzim, yaitu ATPase sehingga menurunkan kadar ATPase, enzim fosfolipase yang menurunkan fosfolipid sehingga menimbulkan kerusakan membran sel, enzim protease yang memecah protein pada membran dan sitoskeleton sehingga terjadi kerusakan membran dan enzim endonuklease menimbulkan fragmentasi DNA dan kromatin (Cotran et al.,2005).

2.3.3.3 Peranan Mediator Inflamasi pada Toksisitas Karbon Tetraklorida

Setelah terjadi intoksikasi CCl₄, diidentifikasi terjadinya suatu reaksi inflamasi yang diperantarai oleh sel non parenkim hati, yaitu sel kupffer dan sel stelata. Kedua sel ini melepaskan beberapa mediator yang bersifat proinflamasi yang dapat memperparah kerusakan hati akibat CCl₄ dan mediator yang bersifat antiinflamasi (hepatoprotektif). Aktivasi sel non parenkim ini merupakan pengaruh langsung dari CCl₄ (Weber et al.,2003). Peningkatan aktivitas sel kupffer dan sel stelata juga merupakan reaksi dari tubuh sebagai respon terhadap kerusakan sel parenkim, untuk memindahkan sel-sel yang mati dan debris sel sebagai upaya persiapan regenerasi jaringan (Jaeschke et al.,2001; Holt et al., 2006).

Selama sel kupffer teraktivasi, sel ini melepaskan TNF- α , TGF- β , IL-1, IL6, IL-10, prostanooid, NO, ROS, sedangkan sel stelata melepaskan NO, meningkatkan produksi kolagen tipe I (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).

TNF- α , interleukin dan NO mempunyai efek yang ambigu, dapat merusak sel atau memproteksi sel (Weber et al., 2003). TNF- α dapat merangsang respon inflamasi dan dapat merangsang apoptosis atau berkontribusi pada terjadinya steatosis pada hepatosit (hepatosit) dan mengganggu sekresi lipoprotein (EHC 208, 1999). Efek merusak dari TNF- α terjadi karena dapat mengaktifkan netrofil dan merangsang netrofil masuk ke dalam vaskularisasi hati. Bila sel netrofil distimulasi secara kemotaktis, sel ini dapat mengalami ekstravasasi dan melekat pada hepatosit yang selanjutnya dapat memicu kerusakan sel dengan melepaskan ROS dan protease (Jaeschke et al., 2001). Efek merusak dari TNF- α dapat dicegah oleh NO (Weber et al., 2003).

Nitrit oksida (NO) mengatur tonus pembuluh darah intrahepatik dan umumnya dapat mencegah kerusakan jaringan apoptosik, tetapi NO juga dapat bereaksi dengan radikal O_2^- yang terbentuk akibat stress oksidatif oleh karbon tetraklorida, menjadi radikal peroksinitrit yang menyebabkan kerusakan jaringan hati yang lebih parah (EHC 208, 1999).

Interleukin memberikan respon yang berbeda. Interleukin-6 (IL-6) dan interleukin-10 (IL-10) merupakan mediator yang bersifat hepatoprotektor, sedangkan interleukin-1 (IL-1) bersifat hepatotoksik. TGF- β 1 merangsang fibrogenesis hepatic (EHC 208, 1999; Weber et al., 2003).

2.3.3.4 Dosis Toksik Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Dosis karbon tetraklorida sebagai dosis tunggal pada pemberian per oral yang menimbulkan kerusakan organ pada binatang coba tikus berkisar 0,0125 ml-5 ml/kg bb atau setara dengan 19,925-3985 mg/kg bb tikus. Murphy dan Malley (1969) melaporkan terjadinya peningkatan kadar enzim alanin aminotransferasehati (ALAT) hati dan serum, enzim tirosin transaminase dan alkalin fosfat tikus setelah pemberian carbon tetraklorida yang tidak diencerkan 0,5-2 ml/kgbb sebagai dosis tunggal pada pemberian per oral. Peningkatan kadar enzim-enzim ini tergantung pada dosis karbon tetraklorida. Pada penelitian oleh Korsurd et al. (1972) pada tikus *wistar* jantan yang dipuaskan, pada dosis 0,0125 ml CCl₄ yang encerkan dengan minyak jagung, dibuktikan adanya efek toksik pada hati secara histopatologi. Menurut hasil penelitian Teaschke et al. (1989), enzyme hati seperti ALAT dan glutamate dehidrogenase meningkat secara maksimal setelah 12-48 jam pemberian CCl₄ 1 ml/kg bb pada tikus *wistar* betina (EHC 208,1999)

2.4 Tinjauan tentang Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

2.4.1 Taksonomi (*Holothuria scabra*)

| | |
|----------|----------------------------|
| Filum | : Echinodermata |
| Subfilum | : Eleutherozoa |
| Kelas | : Echinozoa |
| Subkelas | : Holothuroidea |
| Ordo | : Aspidochirotida |
| Famili | : Holothuriidae |
| Genus | : <i>Holothuria</i> |
| Spesies | : <i>Holothuria scabra</i> |

2.4.2 Kandungan dan Manfaat Teripang (*Echinodermata*)

Teripang (filum *Echinodermata*) kaya akan senyawa yang bermanfaat. Senyawa yang terkandung dalam teripang (filum *Echinodermata*) pada umumnya sama, hanya persentasenya berbeda antara satu spesies dengan spesies yang lain. (Trubus, 2006.) Macam dan kadar kandungan gizi dari teripang pasir, belum ada data pustaka yang menjelaskan secara utuh dan rinci. Namun, berdasarkan hasil penelitian pada beberapa spesies teripang yang lain, senyawa yang terkandung dalam teripang adalah **lektin** (Mojica et al), **sterol** (Stonik,1986), **saponin/triperten glikosid** (echinosid, holothurin A, holothurin B, holotoxin A, holotoxin B, holotoxin A1, holotoxin B1, stikoposid, telenotosid, cucumariosid; philinopgenin A, philinopgenin B, philinopgenin C, philinopside E, synallactosid, hemoiedemosid, liouvillosid, calcigerosid, kerosid, DS-penaustrosid) (Stonik,1986; Tian et al., 2007; Chi et al., 2005; Dang,2007;Zhang,2004), **protein, kolagen, mukopolisakarida, glikosaminoglikan** (Zhiguang et al.,2000; Kariya et l.,1999;Trubus,2006), **kondroitin sulfat E, kondrotin sulfat fukosilat** (Kariya et al.,1990; Mourao et al.,1996; Tovar et al.,1991), **asam amino** (aspartat, glutamat, histidin, treonin, alanin, arginin, prolin, tirosin, valin, serin, glisin, sistein, isoleusin, leusin, fenilalanin dan lisin) (Rodriguez et al.,2000), **asam lemak** (miristat, palmitat, palmitoleat, stearat, oleat, linoleat, araksidat, eicosapentaenat (EPA), behenat, erusat dan docosahexesaenat (DHA))(Fredelina et al., 1999; Svetashev et al.,2002; Kasai,2003;Trubus,2006) **vitamin** (tiamin, riboflavin, niacin, C, E) (Trubus, 2006; Madhavan,1998), **Karotenoid** (β -Carotene, β -echinenone, canthaxanthin, phoenicoxanthin dan astaxanthin, cucumariasantin A, cucumariasantin B dan cucumariasantin C) (Matsuno et al.,

1999), **mineral** (besi, magnesium, kalsium, zinc, kromium) (Trubus, 2006), **polifenol, flavonoid** (Mamelona et al.,2007), **SOD** (Hawa et al.,1999).

Dengan kandungan gizi yang dimilikinya, teripang (filum *Echinodermata*) telah dibuktikan oleh penelitian moderen dapat menyembuhkan luka, digunakan sebagai antikoagulan dan antitrombotik, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, antikanker dan antitumor, antibakteri, imunostimulan, antijamur, antivirus, antimalaria dan antirematik (Farouk et al., 2007). Secara tradisional, masyarakat cina menggunakan teripang sebagai obat. Bentuk sediaan yang digunakan adalah bentuk bubuk teripang dengan dosis 3 gram per kali pemberian dan diberikan 2-3 kali perhari atau setara dengan 6-9 gram per hari (Trubus,2007). Menurut Benedikt (1996), untuk mengobati artritis akut digunakan dosis 4x 500 mg selama 7-10 hari atau sampai gejala artritis berkurang dan dilanjutkan dengan dosis *maintenace* 2x500 mg, sedangkan menurut Dharmananda, teripang kering dengan dosis 3 gram per hari secara signifikan mengurangi gejala artritis (Dharmananda, 2008).

Beberapa senyawa telah dibuktikan melalui penelitian ilmiah dapat menjaga fungsi hati, baik sebagai hepatoprotektor ataupun pengobati kerusakan hati bila kerusakan tersebut telah terjadi. Contoh senyawa tersebut adalah karotenoid, vitamin A, C dan E (Sies et al., 1995), senyawa polifenol dan flavonoid (Middleton et al., 2000), kondroitin sulfat (Ha et al., 2003), EPA dan DHA (Gonzalez et al., 2006) yang bersifat antioksidan sehingga dapat meredam radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya kerusakan hati oleh radikal bebas. Selain memiliki efek antioksidan, EPA dan DHA (Gonzalez et al., 2006) serta kondroitin sulfat (Ha et al.,2003) juga dapat mengurangi reaksi inflamasi

(nekroinflamasi) sehingga mencegah kerusakan sel yang lebih parah. Senyawa-senyawa ini terkandung dalam teripang dan diduga juga terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*), sehingga diduga, teripang pasir (*Holothuria scabra*) mampu mencegah kerusakan hati akibat radikal bebas, termasuk dalam hal ini adalah radikal bebas hasil metabolisme karbon tetraklorida (CCl_4).

2.4.2.1 Antioksidan

Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donor*). Namun dalam arti biologis, antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim dan protein pengikat logam. (Youngson, 1994; Amin, 1996).

Berdasarkan cara kerjanya, antioksidan dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu antioksidan pencegah (berfungsi mencegah terhimpunnya senyawa oksidan secara berlebihan) dan antioksidan pemutus rantai (berfungsi mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan). Berdasarkan kelarutannya, antioksidan juga dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan lipofilik dan hidrofilik. Antioksidan juga bisa dibedakan atas antioksidan enzimatik dan non-enzimatik (Amin, 1996).

Antioksidan pemutus rantai umumnya berasal dari luar tubuh manusia, dapat bersifat hidrofilik maupun lipofilik. Contoh antioksidan pemutus rantai lipofilik adalah vitamin E dan karotenoid sedangkan yang bersifat hidrofilik adalah vitamin C. Senyawa polifenol dan flavonoid juga termasuk antioksidan pemutus rantai (Amin, 1996). Salah satu sumber penting antioksidan non enzimatik, yaitu mikronutrien.

Teripang merupakan salah satu sumber antioksidan. Senyawa yang memiliki efek antioksidan yang terkandung dalam teripang adalah vitamin C, E, karotenoid,

polifenol dan flavonoid (Amin,1996,), DHA dan EPA (Gonzalez et al., 2006) dan kondroitin sulfat (Ha et al., 2003).

Karotenoid yang banyak terkandung dalam teripang ordo Aspidochirotida adalah β -karoten. β -karoten dapat menghambat reaksi radikal bebas seperti radikal peroksil. β -karoten sangat efisien mengurangi radikal klorometilperoksil (Sies et al, 1995).

Vitamin C atau *L-ascorbic acid*, merupakan senyawa hidrofilik. Vitamin C dalam keadaan fisiologis berada dalam bentuk deprotonasi. Senyawa ini merupakan antioksidan paling penting dalam cairan ekstraseluler. Vitamin C secara efisien dapat mencegah terbentuknya superoksida, hidrogen peroksida, hipoklorit, radikal hidroksil, radikal peroksil dan radikal oksigen. Vitamin C lebih efektif dalam menghambat peroksidasi lemak oleh radikal peroksil bila dibandingkan komponen plasma lain seperti α -tokoferol. Vitamin C dapat mencegah peroksidasi membran dengan meningkatkan aktifitas tokoferol dan mencegah kerusakan sel akibat radikal oksigen (Sies et al., 1995).

Vitamin E dapat mencegah jaringan lemak dari serangan radikal bebas. Misalnya dalam membran sel, vitamin E sangat penting karena bereaksi dengan radikal peroksida lemak menjadi hidroksiperoksida lemak yang relatif lebih stabil dan radikal tokoferol mengganggu reaksi rantai radikal sehingga mencegah peroksida lemak. Kadar vitamin E dalam tubuh juga menentukan kemampuan oksidan lain seperti radikal hidroksil, radikal alkoksil, radikal peroksil, radikal oksigen, terhadap berbagai sel dan organ tubuh (Sies et al., 1995).

Polifenol dan flavonoid telah diketahui memiliki aktifitas antioksidan, antiinflamasi, hepatoprotektif, antitrombosis, antiviral dan antikarsinogen.

(Middleton et al.,2000). Salah satu penelitian tentang kapasitas antioksidan pada spesies *Cucumaria frondosa*, kandungan polifenol total pada berbagai sistem organ bervariasi dari 22,5 sampai 236,0 mg/100 gram berat kotor, dan flavonoid total dari 2,9 sampai 59,8/100 gram. Kapasitas absorban radikal oksigen atau kapasitas antioksidan mulai dari 140 sampai 800 $\mu\text{mol}/\text{gram}$ berat kotor (Conad,2007).

2.4.2.2 Asam Lemak Omega 3 Rantai Panjang

Setiap penyakit hati, pada dasarnya melibatkan mediator inflamasi. Inflamasi ini menjadi peristiwa yang mendasari kejadiannya. Walaupun inflamasi memiliki manfaat dalam proses penyembuhan, namun bila tidak dikontrol, akan menyebabkan kerusakan jaringan, terbentuknya jaringan sikatrik atau fibrosis. (Gonzalez et al.,2006).

Asam lemak omega (ω) 3 rantai panjang mengandung senyawa antiinflamasi yang poten. Diet tinggi eicosapentaenoic (EPA) dan/atau docosahexaenoic (DHA) terbukti mengontrol inflamasi tanpa efek samping sehingga digunakan sebagai tindakan preventif untuk mencegah berbagai penyakit seperti reumatoid arthritis, fibrosis kistik, kolitis ulseratif, asma, aterosklerosis, kanker dan penyakit kardiovaskuler. Walaupun mekanisme molekuler yang mendasari kerja dari senyawa-senyawa ini masih perlu diperjelas, mediator lemak bioaktif dari senyawa-senyawa ini telah diidentifikasi. Selama fase resolusi respon inflamasi akut, interaksi sel-sel dan biosintesis transeluler merangsang sintesis mediator lemak bioaktif dari EPA dan DHA. Mediator ini disebut resolvin (hasil interaksi fase resolusi). Prototipe resolvin dari DHA adalah 17-HDHA, sedangkan dari EPA adalah 15R- dan 18R-HEPA. Mediator lemak

bioaktif lain yang berasal dari DHA adalah protektin D (Gonzalez et al.,2006; Flower et al.,200; Serhan et.al,2002; Simopoulos,2002; Caterina et.al,2001; James et.al,2000; Simopoulos,1999).

Protektin D1 mampu mengontrol proses inflamasi dan resolusinya, termasuk menghambat infiltrasi sel PMN dan migrasi sel T, mengurangi pembentukan sitokin dan kemokin dan aktivasi NF κ B yang diinduksi oleh IL-1. Diet tinggi DHA juga menurunkan ekspresi COX-2 dan kadar prostaglandin. 17-HDHA menurunkan kerusakan DNA dan stres oksidatif sel hepatosit. 17-HDHA juga menghambat pelepasan TNF- α dari makrofag. Semua efek ini pada akhirnya akan mencegah nekroinflamasi yang menyebabkan kerusakan hati (Gonzalez et.al,2006; Flower et.al,2005; Serhan et al.,2002; Simopoulos,2002; Caterina et al.,2001; James et al.,2000; Simopoulos,1999).

Seri resolvin dari EPA, juga memiliki efek yang sama dengan mediator bioaktif dari DHA yaitu mencegah nekroinflamasi. Salah satu efek dari seri 15R- dan 18R-HEPE (resolvin derivat EPA) pada sel PMN adalah menghambat migrasi sel PMN. Seri 5R-,12R- dan 18R mampu mencegah diapedesis leukosit dan pembentukan eksudat (Gonzalez et al.,2006; Flower et al.,2005; Serhan et al.,2002; Simopoulos,2002; Caterina et al.,2001; James et al.,2000; Simopoulos,1999).

Pada penelitian oleh Gonzales et al (2006), secara *in vitro* membuktikan potensi efek protektif dari asam lemak esensial ω -3 pada hepatosit. Hepatosit yang ditumbuhkan pada medium kaya DHA, tingkat stress oksidatifnya lebih rendah secara signifikan dari pada hepatosit yang ditumbuhkan pada mediaum

tanpa DHA. Pada penelitian ini juga dibuktikan, DHA mampu mencegah kerusakan DNA oleh hidrogen peroksida.

2.4.2.3 Kondroitin Sulfat

Kondroitin sulfat telah dibuktikan melalui serangkaian penelitian ilmiah dan telah digunakan secara luas dalam penatalaksanaan osteoarthritis karena efek antinflamasinya dan kemampuannya menghambat enzim yang mendegradasi kartilago.

Menurut penelitian oleh Ha et al (2003), kondroitin sulfat memiliki kemampuan melawan efek hepatotoksik karbon tetraklorida (CCl₄). Pada penelitian ini diperoleh hasil berupa aktivitas enzim antioksidatif hati yaitu SOD, katalase (CAT), aktivitas glutathion peroksidase (GPx), dan status redoks glutathion (GSH/GSSG) lebih tinggi dibandingkan dibandingkan dengan kontrol yang diinduksi kerusakan hatinya dengan karbon tetraklorida. senyawa ini diduga mampu memulihkan aktivitas katalase (CAT), mampu mencegah reduksi GSH. Pada penelitian ini juga dibuktikan, kondroitin sulfat mampu menurunkan kadar MDA dibandingkan dengan kontrol yang diinduksi kerusakan hatinya dengan karbon tetraklorida. Pada penelitian ini juga ditemukan penurunan reaksi inflamasi dan sirosis pada hewan coba.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

Hati adalah organ tubuh yang berperan penting dalam proses metabolisme dan detoksifikasi, sehingga organ ini rawan mengalami kerusakan. Beberapa jenis obat, jamu, toksin dan senyawa kimia dapat merusak hati secara langsung maupun tidak langsung.

Karbon tetraklorida (CCl_4) adalah salah satu dari bahan-bahan kimia beracun yang menyebabkan kerusakan hati atau bersifat hepatotoksik. Pada penelitian ini, CCl_4 digunakan sebagai induktor kerusakan hati dan kerusakan hati yang ditimbulkan oleh CCl_4 ini sebagai model kerusakan hati. Hepatotoksik yang ditimbulkan oleh CCl_4 disebabkan oleh senyawa hasil metabolisme yang bersifat radikal bebas. Senyawa radikal bebas tersebut adalah CCl_3^* dan CCl_3O_2^* . CCl_3^* dapat berikatan kovalen dengan protein, lemak, DNA yang pada akhirnya dapat memicu kerusakan hepatosit. CCl_3O_2^* dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak yang menimbulkan disfungsi membran sel dan membran organel sel serta membentuk senyawa reaktif aldehid yang juga dapat menyebabkan kerusakan hepatosit. CCl_4 juga dapat mengaktivasi sel kupffer. Kerusakan sel hepar sendiri juga memicu aktivasi sel kupffer. Sel kupffer yang teraktivasi dapat melepaskan berbagai mediator pro inflamasi yang dapat memperberat kerusakan hepatosit dan mediator antiinflamasi yang bersifat hepatoprotektor. Selain itu, sel kupffer juga dapat melepaskan ROS yang juga memperberat kerusakan hepatosit.

Bila hepatosit mengalami kerusakan, maka enzim-enzim yang terdapat di dalam hepatosit tersebut akan terlepas ke dalam sirkulasi sistemik. Enzim-enzim

yang banyak ditemukan dalam hepatosit antara lain SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT. Gambaran histologi kerusakan jaringan hati akibat CCL₄ setelah 6 jam induksi CCL₄, nekrosis zona 3 tampak jelas dan setelah 12-24 jam terjadi nekrosis *massive* pada lobulus hati.

Untuk mengatasi dampak dari radikal bebas di dalam tubuh, sebenarnya tubuh telah memiliki sistem pertahanan yang disebut antioksidan. Namun, bila radikal bebas yang terbentuk melebihi kemampuan antioksidan tubuh, maka dampak dari radikal bebas tersebut tidak dapat dihambat secara tuntas sehingga menimbulkan berbagai macam kerusakan pada sel, jaringan dan organ. Oleh karena itu, perlu ada penambahan antioksidan dari luar tubuh manusia.

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) diduga mengandung senyawa yang bersifat antioksidan yaitu karotenoid, C, dan E, senyawa flavonoid dan polifenol, DHA, EPA, dan kondroitin sulfat. Senyawa-senyawa ini sangat potensial dalam meredam radikal bebas dalam tubuh. Selain itu, teripang pasir (*Holothuria scabra*) juga diduga senyawa antiinflamasi yaitu DHA dan EPA, dan kondroitin sulfat, sehingga bila telah terjadi kerusakan sel akibat radikal bebas, kerusakan yang lebih parah dapat dihindari.

Untuk mengetahui seberapa besar pengaruh teripang pasir (*Holothuria scabra*) dalam menghambat kerusakan hati akibat CCL₄, maka perlu dilakukan penelitian dengan memberikan simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada tikus putih jantan yang kerusakan hatinya diinduksi dengan CCL₄, dengan menggunakan indikator enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan pemeriksaan histopatologi hati.

3.2. Hipotesis Penelitian

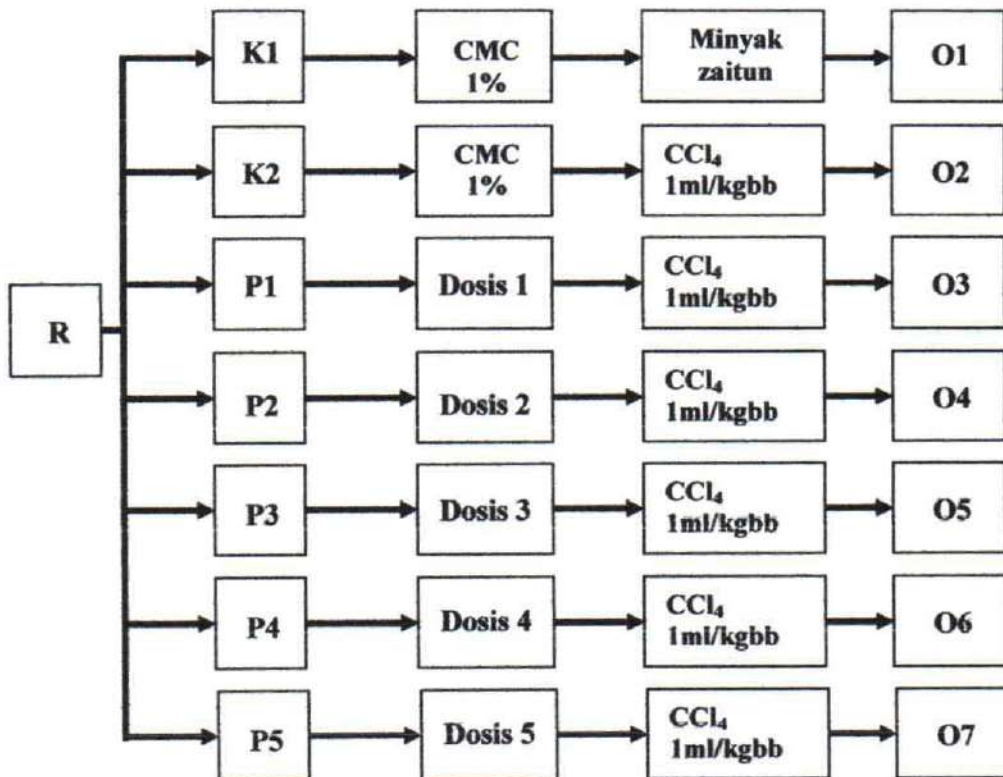
1. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) mencegah peningkatan kadar SGOT (AST) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl₄).
2. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) mencegah peningkatan kadar SGPT (ALT) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl₄).
3. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) mencegah peningkatan kadar γ -GT pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl₄).
4. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) mencegah terjadinya steatosis dan nekrosis hepatosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl₄).
5. Terdapat hubungan antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan penurunan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT), dan γ -GT serta derajat steatosis dan nekrosis pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl₄).

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian farmakologi eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Rancangan tersebut dapat digambarkan sebagai berikut :



Skema 4.1 : Rancangan penelitian

Keterangan :

R :Randomisasi

CCl₄ :Karbon tetraklorida pro analysi/pa (berat molekul 159,4 kg/L), dosis 1 ml/kg bb yang diencerkan dengan minyak zaitun, diberikan sebagai dosis tunggal

- Dosis : Dosis simplisia teripang pasir pasir (*Holothuria scabra*)
- K1 : Diberi CMC 1% per oral 2 kali sehari selama 14 hari, pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi minyak zaitun, sebagai kontrol 1.
- K2 : Diberi CMC 1% per oral 2 kali sehari selama 14 hari, , pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi CCl₄ 1 ml/kgbb, sebagai kontrol 2.
- P1 : Diberi simplisia teripang pasir per oral dosis 25 mg yang disuspensikan dalam CMC 1%, dibagi dalam 2 kali pemberian per hari selama 14 hari, pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi CCl₄ 1 ml/kgbb
- P2 : Diberi simplisia teripang pasir per oral dosis 50 mg yang disuspensikan dalam CMC 1%, dibagi dalam 2 kali pemberian per hari selama 14 hari, pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi CCl₄ 1 ml/kgbb
- P3 : Diberi simplisia teripang pasir per oral dosis 75 mg yang disuspensikan dalam CMC 1%, dibagi dalam 2 kali pemberian per hari selama 14 hari, pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi CCl₄ 1 ml/kgbb
- P4 : Diberi simplisia teripang pasir per oral dosis 100 mg yang disuspensikan dalam CMC 1%, dibagi dalam 2 kali pemberian per hari selama 14 hari, pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi CCl₄ 1 ml/kgbb

- P5 : Diberi simplisia teripang pasir per oral dosis 150 mg yang disuspensikan dalam CMC 1%, dibagi dalam 2 kali pemberian per hari selama 14 hari, pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir) diberi CCl_4 1 ml/kgbb
- O1 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok kontrol 1, 24 jam setelah diberi minyak zaitun
- O2 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok kontrol 2, 24 jam setelah diberi CCl_4 1 ml/kgbb per oral
- O3 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok perlakuan 1, 24 jam setelah diberi CCl_4 1 ml/kgbb per oral
- O4 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok perlakuan 2, 24 jam setelah diberi CCl_4 1 ml/kg bb per oral
- O5 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok perlakuan 3, 24 jam setelah diberi CCl_4 1 ml/kg bb per oral
- O6 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok perlakuan 4, 24 jam setelah diberi CCl_4 1 ml/kg bb per oral
- O7 : Kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, dan gambaran histopatologi hati kelompok perlakuan 5, 24 jam setelah diberi CCl_4

1 ml/kg bb per oral

4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), strain *Wistar*, jenis kelamin jantan, umur 3-4 bulan dengan berat badan antara 200-250 gram dan dalam keadaan sehat fisik yang ditandai dengan keadaan umum yang baik.

Banyak replikasi ditentukan berdasarkan rumus Federer :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

t : jumlah kelompok perlakuan

r : jumlah replikasi

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah replikasi : $(7-1)(r-1) \geq 15 = 3,5 = 4$

Untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen, maka dikoreksi dengan faktor pengoreksi 0,25 (25%). Berdasarkan banyak replikasi per kelompok dan faktor pengoreksi, maka jumlah unit eksperimen secara keseluruhan adalah 35 ekor. Penentuan unit eksperimen dilakukan dengan metode simple random sampling.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Dosis simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*)

4.3.2 Variabel Tergantung

- a. Kadar AST (SGOT)
- b. Kadar ALT (SGPT)
- c. Kadar γ -GT
- d. Gambaran histopatologi hati, yaitu derajat steatosis dan nekrosis

4.3.3 Variabel Kendali

- a. Spesies, strain, jenis kelamin, usia, berat badan, pakan, air minum dan kondisi kandang serta cara perawatan tikus putih (*Rattus norvegicus*)
- b. Teknik pemeriksaan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT
- c. Teknik pembuatan preparat histologi hati

4.4 Definisi Operasional Variabel

4.4.1 Variabel Bebas

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1979)

Untuk mengetahui dosis efektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) sebagai hepatoprotektor, digunakan dosis berdasarkan hasil penelitian eksplorasi, yaitu 1 gram, 2 gram, 3 gram, 4 gram dan 6 gram untuk manusia dan dikonversikan pada tikus dengan nilai 0,025 untuk tikus dengan berat badan 200 gram, dengan asumsi berat badan manusia 50 kg.

Pada penelitian ini digunakan 5 dosis yang merupakan hasil konversi dari dosis pada manusia, yaitu :

Dosis 1 : 25 mg, dibagi dalam 2 x pemberian per hari, per oral selama 14 hari

Dosis 2 : 50 mg, dibagi dalam 2 x pemberian per hari, per oral selama 14 hari

Dosis 3 : 75 mg, dibagi dalam 2 x pemberian per hari, per oral selama 14 hari

Dosis 4 : 100 mg, dibagi dalam 2 x pemberian per hari, per oral selama 14 hari

Dosis 5 : 150 mg, dibagi dalam 2 x pemberian per hari, per oral selama 14 hari

Untuk memudahkan pemberian secara per oral, simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) disuspensikan dengan CMC 1%. Pemberian simplisia dibagi dalam 2 kali pemberian dengan mempertimbangkan volume lambung hewan coba.

4.4.2 Variabel Tergantung

Enzim SGOT (AST) dan SGPT (ALT) merupakan enzim seluler. Aktivitas enzim-enzim ini diukur dan dianggap paling praktis sebagai indikator kerusakan hati. Enzim SGOT (AST) terdapat di sitoplasma (20%) dan mitokondria (80%), sedangkan SGPT hanya terdapat di sitoplasma. Enzim SGOT (AST) paling tinggi konsentrasinya dalam hepatosit di zona 3 asinus hepatic. Enzim SGOT(AST) selain terdapat dalam sel hepar juga ditemukan pada sel-sel di organ lain yaitu jantung, otot lurik, ginjal, otak dan eritrosit, sedangkan enzim SGPT (ALT) terdapat dalam sel otot lurik dan ginjal tapi konsentrasinya rendah (Giannini et al.,2005; Dufour et al.,2007). Kadar enzim SGOT (AST) pada manusia normal adalah 5-40 unit/ml, sedangkan SGPT (ALT) 5-35 unit/ml. Kadar enzim SGPT pada tikus 17,5-30,2 IU/liter dan SGOT (ALT) 45,7-80,8 IU/L (Kusuma,2004). $T_{1/2}$ enzim SGPT (ALT) dalam sirkulasi sekitar 47 jam, SGOT (AST) sekitar 17 jam. Kedua enzim ini cukup baik sebagai indikator kerusakan dan perbaikan hepatosit (Giannini et al.,2005; Dufour et al.,2007). Pengukuran aktivitas kedua enzim ini dilakukan dengan metode Begmeyer.

Enzim γ -GT (γ -Glutamyl Transpeptidase) merupakan enzim yang terikat ke membran hepatosit dan duktus bilier, tubulus proksimal ginjal, pankreas, limpa, jantung, otak, vesika semilunaris dan intestinal. Aktivitas/kadar enzim ini meningkat bila terjadi kerusakan pada membrane sel-sel tersebut. $T_{1/2}$ enzim ini

dalam serum sekitar 96 jam (Giannini et.al,2005). Pengukuran aktivitas/kadar Enzim γ -GT dilakukan berdasarkan metode Szasz (Muliaman, 1981).

Pemeriksaan histopatologi jaringan hati dilakukan dengan mikroskop. Pembuatan preparat histologi dilakukan dengan metode Harris dengan pewarnaan Hematoxyllin Eosin. Tingkat perubahan seluler yang dinilai adalah derajat steatosis (degenerasi) dan nekrosis hepatosit. Inflamasi ditandai dengan adanya infiltrasi sel inflamasi. Degenerasi *balloning* dicirikan oleh hepatosit yang membengkak dengan organel sitoplasma ireguler dan daerah jernih yang luas dalam sitoplasma. Steatosis, dicirikan oleh adanya akumulasi trigliserida dalam sitoplasma, bila droplet trigliserida tersebut kecil dan banyak serta tidak mengubah posisi inti sel maka disebut steatosis mikrovesikuler, sedangkan bila droplet tersebut tunggal dan besar sehingga menggeser posisi inti sel, disebut steatosis makrovesikuler. Sel dikatakan mengalami nekrosis apabila inti sel terlihat *picnotic* atau *karyohexis* atau *karyolisis* (Crawford, 2005; Kumar et al.,2005).

4.4.3 Variabel Kendali

Spesies tikus yang dijadikan hewan coba pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), strain wistar dengan kelamin jantan usia antara 3-4 bulan, berat badan antara 200-250 gram.

Pakan tikus putih adalah makanan standar dari P.T Japva Comfeed dan air minum air PDAM. Makan dan minum diberikan secara *ad libitum*.

Kandang yang digunakan adalah kandang milik laboratorium Bahan Alam dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Kandang dibersihkan setiap hari, suhu sesuai suhu ruang, mendapat sinar matahari dan sirkulasi udara cukup dan tidak lembab. Jerami sebagai alas tikus diganti setiap hari.

Teknik pemeriksaan kadar enzim SGOT (AST) dan SGPT (ALT) dengan metode Begmeyer, sedangkan pemeriksaan kadar enzim γ -GT dilakukan berdasarkan metode Szasz.

Teknik pembuatan preparat histologi hati dilakukan dengan metode Harris dengan pewarnaan Hematoxyllin Eosin. Penilaian derajat kerusakan sel dilakukan berdasarkan skala Metavir dan menghitung persentase rata-rata sel normal, steatosis dan nekrosis setiap sampel sediaan jaringan hati unit eksperimen.

4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.3.3.1 Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar karena beberapa alasan, antara lain, mudah dikembangbiakkan, mudah dipelihara, mudah diambil darahnya dan darah yang diambil cukup banyak, fisiologinya diperkirakan identik dengan manusia. Jenis kelamin hewan coba jantan, umur 3-4 bulan, berat badan 200-250 gram dengan kondisi sehat dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

4.3.3.2 Simplisia teripang pasir Pasir (*Holothuria scabra*)

Simplisia teripang pasir pasir (*Holothuria scabra*) diperoleh dengan cara mengeringkan teripang pasir segar dengan suhu pengeringan di bawah suhu 40°C dan dihindarkan dari paparan sinar matahari secara langsung untuk mencegah kerusakan senyawa aktif dalam teripang. Untuk mempercepat proses pengeringan, teripang dipotong-potong setebal 2 mm. Waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan sekitar 2 x 24 jam. Selanjutnya

sediaan teripang kering dibuat menjadi serbuk dengan mesin penggiling dan diayak untuk mendapatkan serbuk yang halus.

4.3.3.3 Bahan Habis Pakai

- a. Simplisia teripang pasir pasir (*Holothuria scabra*)
- b. CMC 1%
- c. Minyak zaitun
- d. Larutan CCl₄
- e. Formalin 10 %
- b. Alkohol 70%, 80%, 95%
- c. Xyliol
- d. Parafin
- e. Larutan Haematoxylin
- f. Larutan eosin
- g. Larutan ammonia
- h. Larutan buffer tris
- i. Larutan glisilglisin
- j. Larutan L-glutamat-5-(4-nitroanilin)

4.5.2 Alat Penelitian

- a. Alat untuk perlakuan hewan coba : sonde, spuit dissposible 1 cc, 3 cc
- b. Alat untuk pengambilan dan penyimpanan sampel darah : spuit dissposible 5 cc, tabung dan rak evendorf
- c. Alat alat untuk pemeriksaan kadar enzim SGOT (AST) dan SGPT (ALT)
- d. Alat untuk pembuatan sediaan histologi jaringan hati
- e. Mikroskop



- f. Timbangan analitik dan timbangan hewan coba
- g. Kandang tikus

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Pemeliharaan, pemberian perlakuan dan pembedahan tikus percobaan dilakukan di Laboratorium Farmakognosis dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
2. Pemeriksaan dan penentuan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya.
3. Pemeriksaan histopatologi jaringan hepar tikus dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
4. Perlakuan hewan coba dilakukan selama 14 hari, yaitu tanggal 25 Juni sampai dengan 8 Juli 2008

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari terhadap air, makanan dan hawa dan kondisi laboratorium.

4.7.2 Perlakuan Hewan

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dipilih secara random dan dibagi menjadi 7 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.
- b. Kelompok kontrol 1: diberi sonde CMC 1%, 2 x sehari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi minyak zaitun per oral.

- c. Kelompok kontrol 2: diberi CMC 1% 2x sehari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi CCl₄ 1 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak zaitun per oral
- d. Kelompok perlakuan 1 : diberi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) dosis 25 mg yang disuspensikan dalam CMC 1 % , dibagi dalam 2x pemberian per hari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi CCl₄ 1 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak zaitun per oral
- e. Kelompok perlakuan 2 : diberi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) dosis 50 mg yang disuspensikan dalam CMC 1 % , dibagi dalam 2x pemberian per hari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi CCl₄ 1 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak zaitun per oral
- f. Kelompok perlakuan 3 : diberi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) 75 mg yang disuspensikan dalam CMC 1 % , dibagi dalam 2x pemberian per hari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi CCl₄ 1 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak zaitun per oral
- g. Kelompok perlakuan 4 : diberi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) dosis 100 mg yang disuspensikan dalam CMC 1 % , dibagi dalam 2x pemberian per hari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi CCl₄ 1 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak zaitun per oral

- h. Kelompok perlakuan 5 : diberi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) dosis 150 mg yang disuspensikan dalam CMC 1 %, dibagi dalam 2x pemberian per hari selama 14 hari dan pada hari ke 15 (12 jam setelah pemberian dosis terakhir), diberi CCl₄ 1 ml/kgbb yang diencerkan dengan minyak zaitun per oral

4. 8 Prosedur Pemeriksaan dan Pengambilan Data

4.8.1 Prosedur Pemeriksaan dan Pengambilan Data Enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT

Hewan coba yang akan diambil darahnya dianestesi dengan menggunakan eter secara inhalasi dan dilakukan pembedahan pada bagian dada untuk mencapai jantung dan darah diambil melalui ventrikel jantung menggunakan spuit 5 cc sebanyak minimal 2 cc. Darah kemudian ditampung dalam tabung evendorf tanpa antikoagulan dan selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan serum dari komponen darah lainnya. Serum yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk pemeriksaan kadar (aktivitas) enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT.

Kadar enzim SGOT (AST) dan SGPT (ALT) dalam serum ditentukan dengan metode Begmeyer dengan cara kerja sebagai berikut : pipetkan campuran reagen SGOT (AST) atau SGPT (ALT) 2 ml dan serum 0,2 ml ke dalam kuvet (perbandingan sampel serum : reagen = 1:10), kemudian dicampur sampai homogen. Setelah 1 menit, campuran tersebut dibaca pada panjang gelombang 340 nm. Pembacaan diulang tepat pada menit ke 2 dan ke 3. Perbedaan absorbens (dA) per menit dimasukkan ke dalam rumus :

$$\text{Aktivitas/volume} = \text{dA/menit} \times \text{faktor}$$

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{6.3 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

TV : *Total reaction volume* (mL)

SV : Volume sampel (mL)

6.3 : *millimolar absorption coefficient NADH* pada 340nm

P : panjang cuvet (cm)

Kadar enzim γ -GT dalam darah ditentukan dengan metode Szasz. Metode ini menggunakan asam L-glutamat-5-(4-nitroamilide) sebagai substrat. Gamma-glutamyl transferase akan memindahkan gugus gamma-glutamyl kesuatu akseptor, yaitu glisilglisin. 4-nitroanilin yang terbentuk dari pemecahan substrat dapat mengabsorpsi gelombang 405 nm. Perubahan pembacaan spektrofotometer per unit waktu adalah sebanding dengan laju pemecahan substrat dan dengan demikian sebanding dengan aktivitas enzim (Muliaman M, 1981). Prosedurnya adalah sebagai berikut :

1. Masukkan ke dalam tabung reaksi dengan pipet 2,0 ml larutan buffer/glisilglisin, 2,0 ml larutan substrat dan 0,2 ml serum.
2. Biarkan larutan-larutan tersebut bercampur dan setelah 1 menit, absorbens diukur pada suhu kamar dengan spektrofotometer pada gelombang 405 nm, serta sekaligus stopwatch dijalankan. Pengukuran diulang setiap menit untuk menit ke 3, 4 dan 5.
3. Perbedaan absorbens per menit (dA/menit) pada pemeriksaan tunggal dimasukkan ke dalam rumus :

$$\text{Aktivitas/volume} = \text{dA/menit} \times 1212 \text{ U/L}$$

4.8.2 Prosedur Pemeriksaan dan Pengambilan Data Sediaan Histologi Hati

Pengambilan organ hati dilakukan bersamaan dengan pengambilan darah. Hewan coba yang akan diambil darahnya dianestesi dengan menggunakan eter secara inhalasi dan dilakukan pembedahan di bagian perut untuk mencapai organ hati. Selanjutnya organ hati dipotong dari struktur yang memfiksasinya dengan gunting bedah dan direndam dalam larutan formalin 10 %.

Tahapan pembuatan preparat histologi menurut metode Harris :

1. Fiksasi

Jaringan hati dengan tebal kurang dari 0,5 cm dimasukkan dalam larutan formalin 10 % selama 24 jam

2. Pemrosesan jaringan

Dilakukan secara otomatis dengan teknik *autotechnicon* selama 24 jam

3. Pemotongan jaringan

Menggunakan pisau mikrotom dengan ketebalan 6-7 mikron. Potongan jaringan dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu 30-60 ° C agar parafin larut. Kemudian dipilih potongan yang baik, diletakkan di atas gelas slide dan dibiarkan sampai kering atau dimasukkan ke dalam inkubator.

4. Pewarnaan jaringan

Dilakukan pewarnaan dengan hematoxyllin eosin metode Harris.

Pengamatan preparat histologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya. Penilaian sediaan histologi berdasarkan derajat inflamasi, degenerasi, dan nekrosis berdasarkan skala Metavir dan menghitung persentase rerata sel normal, steatosis dan nekrosis pada setiap sampel sediaan jaringan hati unit replikasi.

Derajat kerusakan sel menurut skala Metavir dibagi atas 5 derajat, yaitu **derajat 0**: tidak ada inflamasi atau inflamasi minimal, **derajat 1**: inflamasi lobuler, tetapi tanpa nekrosis, **derajat 2** : nekrosis fokal atau nekrosis *piecema* ringan, **derajat 3** : nekrosis *piecema* sedang atau kerusakan seluler fokal berat, **derajat 4**: nekrosis *piecema* berat atau nekrosis *bridging*.

Penentuan derajat kerusakan jaringan hati dilihat dari perubahan struktur sel dan jaringan. Inflamasi ditandai dengan adanya infiltrasi sel inflamasi. Secara umum, semua kerusakan seluler yang bersifat reversibel disebut steatosis. Berdasarkan perubahan yang terjadi, steatosis dikelompokkan menjadi lebih spesifik lagi. Degenerasi *balloning* dicirikan oleh hepatosit yang membengkak dengan organel sitoplasma ireguler dan daerah jernih yang luas dalam sitoplasma. Steatosis, dicirikan oleh adanya akumulasi trigliserida dalam sitoplasma, bila droplet trigliserida tersebut kecil dan banyak serta tidak mengubah posisi inti sel maka disebut steatosis mikrovesikuler, sedangkan bila droplet tersebut tunggal dan besar sehingga menggeser posisi inti sel, disebut steatosis makrovesikuler. Sel dikatakan mengalami nekrosis apabila inti sel terlihat *picnotic* atau *karyohexis* atau *karyolisis*.

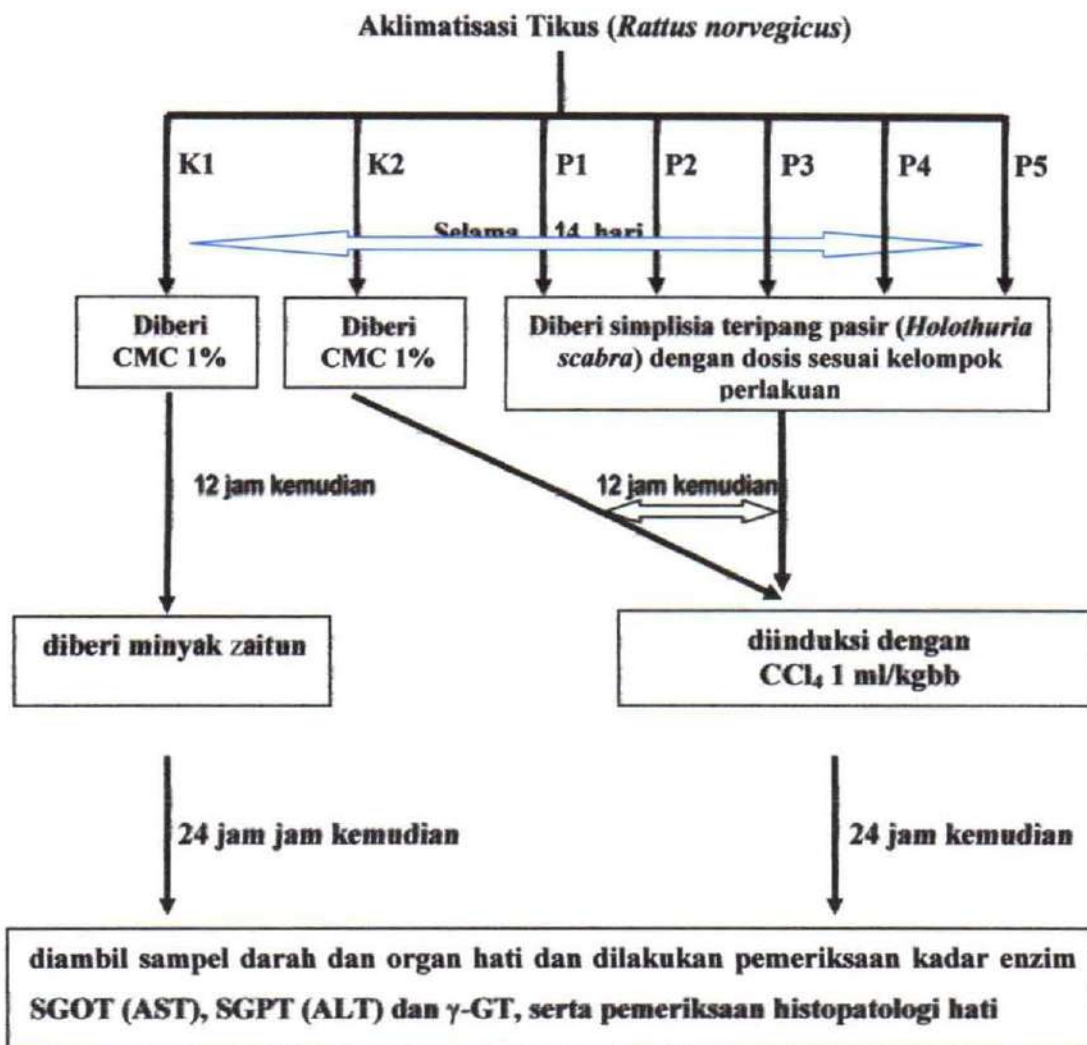
Penentuan derajat kerusakan sel dilakukan pada setiap sampel sediaan jaringan hati unit eksperimental. Dari setiap sampel organ hati, pengamatan dilakukan pada 2 lobuli, dan pada setiap lobuli diamati sebanyak 4 lapang pandang.

4.9 Analisis Data

Data variabel darah (SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT) dan hasil pemeriksaan histopatologi hepar, diuji dengan uji statistik non parametrik yaitu uji

Kruskal Wallis. Hasil ini dikatakan bermakna jika diperoleh harga $P < 0.05$. Untuk menentukan *Dose Response Relationship*, dilakukan uji korelasi spearman dan untuk melihat gambaran hubungan antara dosis perlakuan dengan parameter penelitian dilakukan dengan melihat kurva estimasi.

4.10 Kerangka Operasional Penelitian



BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA****5.1 HASIL PENELITIAN****5.1.1 Hasil analisis deskriptif pengaruh pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGOT (AST)**

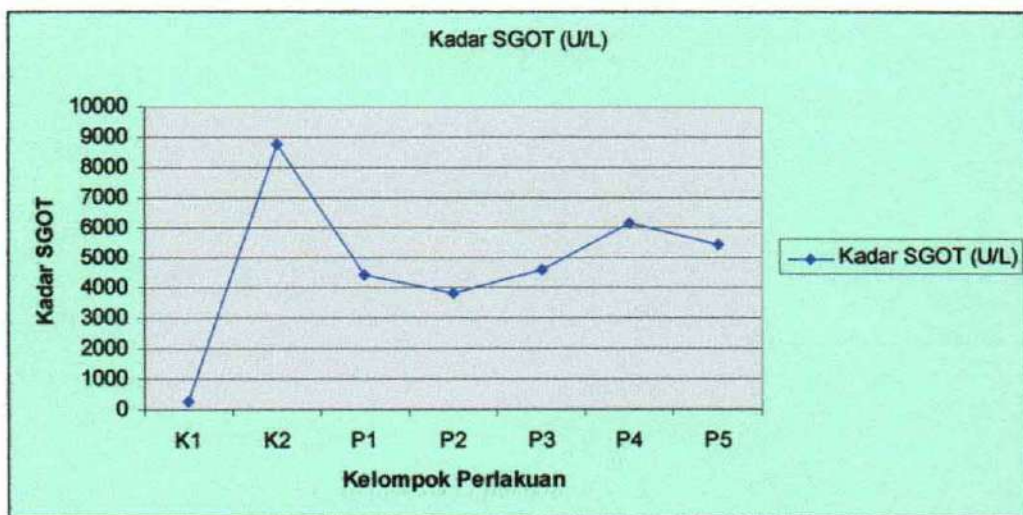
Hasil analisis deskriptif kadar enzim SGOT (AST) pada kelompok perlakuan yang diberi teripang pasir dengan dosis berturut-turut 25, 50, 75, 100 dan 150 mg peroral selama 14 hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi dengan CCl₄ 1 ml/kg bb peroral, dan hasil analisis deskriptif kadar enzim SGOT (AST) pada kelompok kontrol, dapat dilihat pada tabel 5.1 dan grafik 5.1.

Tabel 5.1 Rerata kadar enzim SGOT (AST)

| No | Kelompok | Jumlah Replikasi | Kadar SGOT (U/L) (X±SD) |
|----|----------|------------------|-------------------------|
| 1 | K 1 | 4 | 304,50±205,37 |
| 2 | K 2 | 4 | 8773,00±157,22 |
| 3 | P1 | 4 | 4455,50±328,64 |
| 4 | P2 | 4 | 3855,00±199,40 |
| 5 | P3 | 4 | 4601,50±473,22 |
| 6 | P4 | 4 | 6146,00±721,84 |
| 7 | P5 | 4 | 5444,50±1454,74 |

Pada tabel 5.1 di atas, terlihat bahwa kadar enzim SGOT (AST) kelompok kontrol 1 (K1) yang tidak diinduksi kerusakan hatinya dengan karbon tetraklorida

Berdasarkan data yang tertera dalam tabel 5.1 di atas, kadar enzim SGOT (AST) pada kelompok kontrol 1 (K1) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) dan lebih rendah dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Dari tabel 5.1 juga terlihat, kadar enzim SGOT (AST) semua kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) dan kadar enzim SGOT (AST) kelompok perlakuan 2 (P2) paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain (P1, P3, P4, dan P5).



Grafik 5.1 Rerata kadar enzim SGOT (AST)

Keterangan :

- K1 : kelompok kontrol 1 (diberi CMC 1% dan minyak zaitun)
- K2 : kelompok kontrol 2 (diberi CMC 1% dan diinduksi dengan CCL₄)
- P1 : kelompok perlakuan 1 (diberi simplisia teripang pasir dosis 25 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P2 : kelompok perlakuan 2 (diberi simplisia teripang pasir dosis 50 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P3 : kelompok perlakuan 3 (diberi simplisia teripang pasir dosis 75 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P4 : kelompok perlakuan 4 (diberi simplisia teripang pasir dosis 100 mg dan diinduksi dengan CCL₄)

diinduksi dengan CCL₄)

P5 : kelompok perlakuan 5 (diberi simplisia teripang pasir dosis 150 mg dan diinduksi dengan CCL₄)

5.1.2 Hasil analisis deskriptif pengaruh pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT)

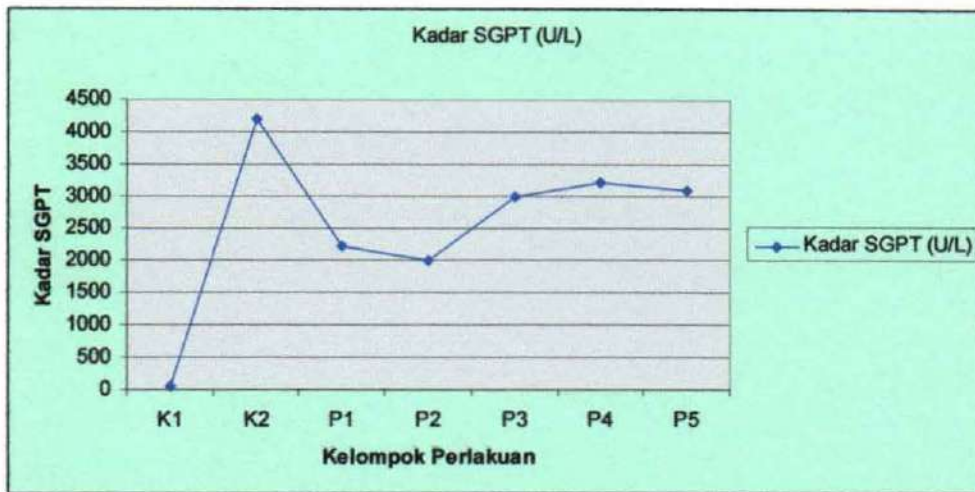
Hasil analisis deskriptif kadar enzim SGPT (ALT) pada kelompok perlakuan yang diberi teripang pasir dengan dosis berturut-turut 25, 50, 75, 100 dan 150 mg peroral selama 14 hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi dengan CCl₄ 1 ml/kg bb peroral, dan hasil analisis deskriptif kadar enzim SGPT (ALT) pada kelompok kontrol, dapat dilihat pada tabel 5.2 dan grafik 5.2.

Tabel 5.2 Rerata kadar enzim SGPT (ALT)

| No | Kelompok | Jumlah Replikasi | Kadar SGPT (U/L) (X±SD) |
|----|----------|------------------|-------------------------|
| 1 | K 1 | 4 | 62,00±24,98 |
| 2 | K 2 | 4 | 4192,25±197,64 |
| 3 | P1 | 4 | 2224,50±501,24 |
| 4 | P2 | 4 | 2006,26±25,85 |
| 5 | P3 | 4 | 2997,25±21,22 |
| 6 | P4 | 4 | 3220,00±402,54 |
| 7 | P5 | 4 | 3107,00±718,01 |

Berdasarkan data yang tertera dalam tabel 5.2 di atas, kadar enzim SGPT (ALT) pada kelompok kontrol 1 (K1) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) dan lebih rendah dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Dari tabel 5.1 juga terlihat, kadar enzim SGPT (ALT) semua kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) dan kadar

enzim SGPT (ALT) kelompok perlakuan 2 (P2) paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain (P1, P3, P4, dan P5).



Grafik 5.2 Rerata kadar enzim SGPT (ALT)

Keterangan :

- K1 : kelompok kontrol 1 (diberi CMC 1% dan minyak zaitun)
- K2 : kelompok kontrol 2 (diberi CMC 1% dan diinduksi dengan CCL₄)
- P1 : kelompok perlakuan 1 (diberi simplisia teripang pasir dosis 25 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P2 : kelompok perlakuan 2 (diberi simplisia teripang pasir dosis 50 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P3 : kelompok perlakuan 3 (diberi simplisia teripang pasir dosis 75 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P4 : kelompok perlakuan 4 (diberi simplisia teripang pasir dosis 100 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P5 : kelompok perlakuan 5 (diberi simplisia teripang pasir dosis 150 mg dan diinduksi dengan CCL₄)

5.1.3 Analisis deskriptif pengaruh pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT

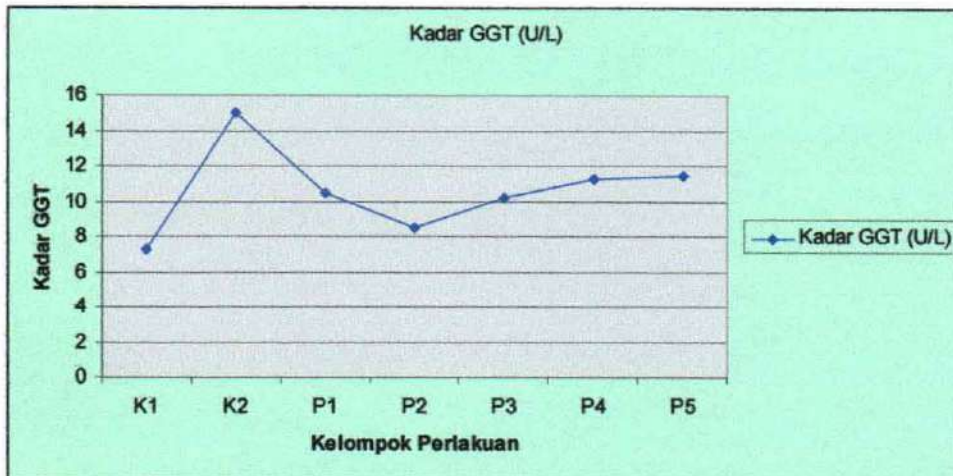
Hasil analisis deskriptif kadar enzim γ -GT pada kelompok perlakuan yang diberi teripang pasir dengan dosis berturut-turut 25, 50, 75, 100 dan 150 mg

peroral selama 14 hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi dengan CCl₄ 1 ml/kg bb peroral, dan hasil analisis deskriptif kadar enzim γ -GT pada kelompok kontrol, dapat dilihat pada tabel 5.3 dan grafik 5.3.

Tabel 5.3 Rerata kadar enzim γ -GT

| No | Kelompok | Jumlah Replikasi | Kadar γ -GT (U/L) (X \pm SD) |
|----|----------|------------------|---------------------------------------|
| 1 | K 1 | 4 | 7,25 \pm 2,63 |
| 2 | K 2 | 4 | 15,00 \pm 1,41 |
| 3 | P1 | 4 | 10,50 \pm 0,58 |
| 4 | P2 | 4 | 8,50 \pm 1,29 |
| 5 | P3 | 4 | 10,25 \pm 1,50 |
| 6 | P4 | 4 | 11,25 \pm 0,50 |
| 7 | P5 | 4 | 11,50 \pm 2,38 |

Berdasarkan data yang tertera dalam tabel 5.3 di atas, kadar enzim γ GT pada kelompok kontrol 1 (K1) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) dan lebih rendah dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Dari tabel 5.1 juga terlihat, kadar enzim γ GT semua kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) dan kadar enzim γ GT kelompok perlakuan 2 (P2) paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain (P1, P3, P4, dan P5).



Grafik 5.3 Rerata kadar enzim GGT

Keterangan :

- K1 : kelompok kontrol 1 (diberi CMC 1% dan minyak zaitun)
- K2 : kelompok kontrol 2 (diberi CMC 1% dan diinduksi dengan CCL_4)
- P1 : kelompok perlakuan 1 (diberi simplisia teripang pasir dosis 25 mg dan diinduksi dengan CCL_4)
- P2 : kelompok perlakuan 2 (diberi simplisia teripang pasir dosis 50 mg dan diinduksi dengan CCL_4)
- P3 : kelompok perlakuan 3 (diberi simplisia teripang pasir dosis 75 mg dan diinduksi dengan CCL_4)
- P4 : kelompok perlakuan 4 (diberi simplisia teripang pasir dosis 100 mg dan diinduksi dengan CCL_4)
- P5 : kelompok perlakuan 5 (diberi simplisia teripang pasir dosis 150 mg dan diinduksi dengan CCL_4)

5.1.4 Analisis deskriptif pengaruh pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar

5.1.4.1 Hasil analisis deskriptif pengaruh pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir

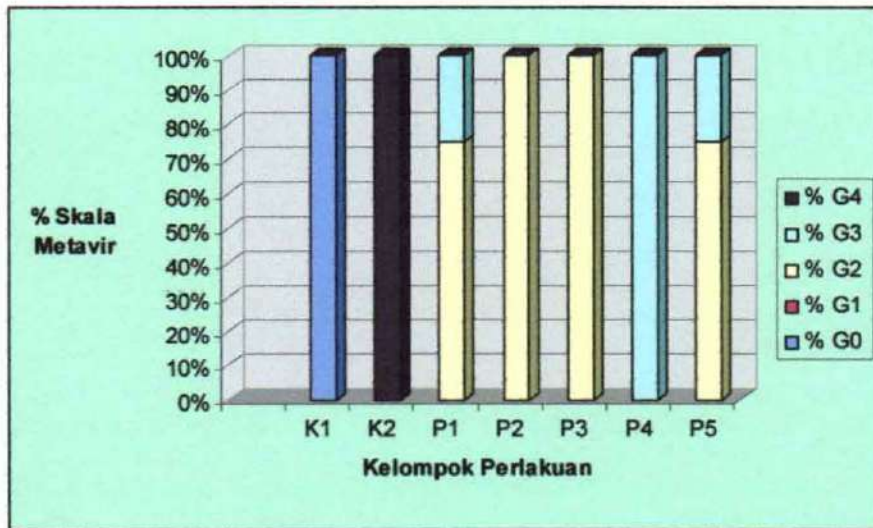
Hasil analisis deskriptif hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir pada kelompok perlakuan yang diberi teripang pasir dengan dosis berturut-turut 25, 50, 75, 100 dan 150 mg peroral selama 14 hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi dengan CCl₄ 1 ml/kg bb peroral, dan hasil analisis deskriptif hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir pada kelompok kontrol, dapat dilihat pada tabel 5.4 dan grafik 5.4.

Tabel 5.4 Hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir

| No | Kelompok | Jumlah Replikasi | % G0 | % G1 | % G2 | % G3 | % G4 |
|----|----------|------------------|------|------|------|------|------|
| 1 | K1 | 4 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | K2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 |
| 3 | P1 | 4 | 0 | 0 | 75 | 25 | 0 |
| 4 | P2 | 4 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| 5 | P3 | 4 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| 6 | P4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 100 | 0 |
| 7 | P5 | 4 | 0 | 0 | 75 | 25 | 0 |

Berdasarkan data yang tertera dalam tabel 5.4 di atas, hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir, kerusakan jaringan hepar pada kelompok kontrol 2 (K 2) sangat berat bila dibandingkan dengan kelompok kontrol 1 dan lebih berat kerusakannya dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan (P1-P5). Data dari tabel 5.4 juga memperlihatkan gambaran histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir pada kelompok perlakuan juga

lebih berat bila dibandingkan dengan kelompok kontrol 1 (K1). Pada kelompok perlakuan, gambaran histopatologi hepar paling baik diperoleh pada kelompok perlakuan 2 (P2) dan 3 (P3), yaitu 100 % dalam kategori G2.



Grafik 5.4 Rerata hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan skala Metavir

Keterangan :

- K1 : kelompok kontrol 1 (diberi CMC 1% dan minyak zaitun)
- K2 : kelompok kontrol 2 (diberi CMC 1% dan diinduksi dengan CCL₄)
- P1 : kelompok perlakuan 1 (diberi simplisia teripang pasir dosis 25 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P2 : kelompok perlakuan 2 (diberi simplisia teripang pasir dosis 50 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P3 : kelompok perlakuan 3 (diberi simplisia teripang pasir dosis 75 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P4 : kelompok perlakuan 4 (diberi simplisia teripang pasir dosis 100 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P5 : kelompok perlakuan 5 (diberi simplisia teripang pasir dosis 150 mg dan diinduksi dengan CCL₄)

5.1.4.2 Analisis deskriptif pengaruh pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar persentase sel normal dan abnormal (steatosis dan nekrosis)

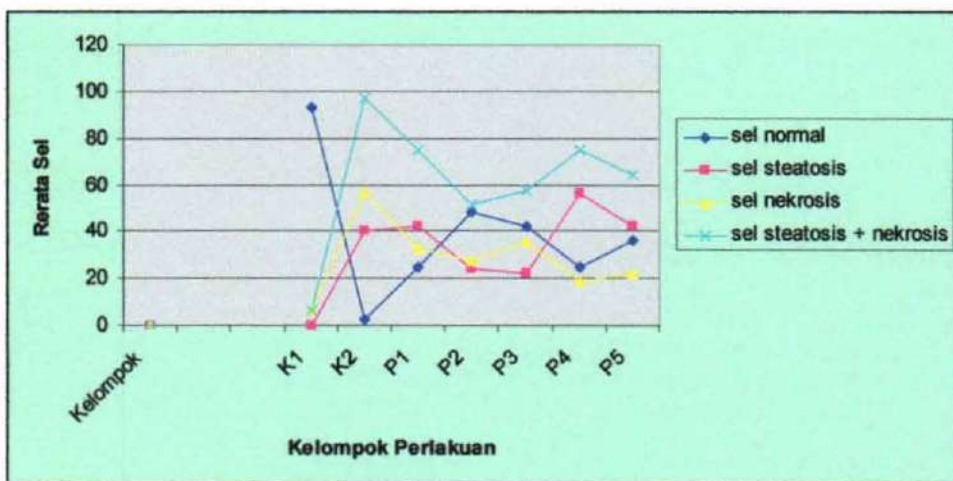
Hasil analisis deskriptif hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan persentase sel normal dan abnormal (steatosis dan nekrosis) pada kelompok perlakuan yang diberi teripang pasir dengan dosis berturut-turut 25, 50, 75, 100 dan 150 mg peroral selama 14 hari pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinduksi dengan CCl₄ 1 ml/kg bb peroral, dan hasil analisis deskriptif hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan persentase sel normal dan abnormal (statisis dan nekrosis) pada kelompok kontrol, dapat dilihat pada tabel 5.5 dan grafik 5.5.

Tabel 5.5 Rerata hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan persentase sel normal dan abnormal (steatosis dan nekrosis)

| No | Kelompok | Jumlah Replikasi | Rerata % sel normal (X±SD) | Rerata % sel abnormal | | |
|----|----------|------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | | | Rerata sel steatosis (X±SD) | Rerata sel nekrosis (X±SD) | Rerata sel abnormal (X±SD) |
| 1 | K1 | 4 | 93.15±2.25 | 0,00±0,00 | 6.85±2.25 | 6.85±2.25 |
| 2 | K2 | 4 | 2.84±2.95 | 40.18±4.03 | 56.98±1.52 | 97.16±2.95 |
| 3 | P1 | 4 | 25.22±5.21 | 42.13±11.20 | 32.65±10.05 | 74.78±5.21 |
| 4 | P2 | 4 | 48.37±7.84 | 23.94±6.07 | 27.69±4.72 | 51.63±7.84 |
| 5 | P3 | 4 | 42.52±7.79 | 22.18±13.43 | 35.30±5.87 | 57.48±7.79 |
| 6 | P4 | 4 | 24.81±10.42 | 56.23±10.37 | 18.96±1.85 | 75.19±10.42 |
| 7 | P5 | 4 | 35.96±9.23 | 42.08±9.54 | 21.96±8.26 | 64.04±9.23 |

Berdasarkan data yang tertera pada tabel 5.5 di atas, persentase rerata sel normal paling tinggi pada kelompok kontrol 1 (K1) yaitu 93.15±2.25 % sedangkan persentase rerata sel steatosis (0,00±0,00 %), sel nekrosis (6.85±2.25 %) dan

persentase total sel abnormal (6.85 ± 2.25 %) paling rendah dibandingkan kelompok kontrol 2 (K2) dan semua kelompok perlakuan, sedangkan persentase rerata sel normal paling rendah pada kelompok kontrol 2 (K 2) yaitu 2.84 ± 2.95 %, dan persentase sel nekrosis dan total sel abnormal paling tinggi pada kelompok kontrol 2 (K2). Berdasarkan data dari tabel 5.5 di atas, di antara kelompok perlakuan, persentase rerata sel normal paling tinggi pada kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu 48.37 ± 7.84 % dan persentase rerata sel nekrosis dan total sel abnormal paling rendah pada kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu secara berturut-turut 27.69 ± 4.72 % dan 51.63 ± 7.84 %.



Grafik 5.5 Rerata hasil pemeriksaan histopatologi hepar berdasarkan persentase sel normal dan abnormal (steatosis dan nekrosis)

Keterangan :

- K1 : kelompok kontrol 1 (diberi CMC 1% dan minyak zaitun)
- K2 : kelompok kontrol 2 (diberi CMC 1% dan diinduksi dengan CCL_4)
- P1 : kelompok perlakuan 1 (diberi simplisia teripang pasir dosis 25 mg dan diinduksi dengan CCL_4)
- P2 : kelompok perlakuan 2 (diberi simplisia teripang pasir dosis 50 mg dan diinduksi dengan CCL_4)
- P3 : kelompok perlakuan 3 (diberi simplisia teripang pasir dosis 75 mg dan diinduksi dengan CCL_4)

- P4 : kelompok perlakuan 4 (diberi simplisia teripang pasir dosis 100 mg dan diinduksi dengan CCL₄)
- P5 : kelompok perlakuan 5 (diberi simplisia teripang pasir dosis 150 mg dan diinduksi dengan CCL₄)

5.2 ANALISIS DATA

5.2.1 Pengaruh pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGOT (AST)

5.2.1.1 Uji Normalitas

Sebelum melakukan analisis data dengan uji Anava, dilakukan uji normalitas data enzim SGOT (AST) dengan menggunakan uji Shapiro-wilk. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil uji normalitas data enzim SGOT (AST)

| Variabel | Kelompok | Shapiro-Wilk | |
|------------|----------|--------------|-------|
| | | Statistik | Sig. |
| SGOT (AST) | K 1 | 0.87 | 0.008 |
| | K 2 | 0.961 | 0.782 |
| | P1 | 0.825 | 0.154 |
| | P2 | 0.896 | 0.410 |
| | P3 | 0.763 | 0.050 |
| | P4 | 0.787 | 0.081 |
| | P5 | 0.921 | 0.054 |

Berdasarkan hasil uji normalitas yang tertera pada tabel 5.6 di atas, maka data kadar enzim SGOT (AST) hasil penelitian ini tidak berdistribusi normal ($p < 0.05$). Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.1.2 Perbedaan pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGOT (AST)

Berdasarkan hasil uji normalitas, data enzim SGOT (AST) tidak memenuhi persyaratan untuk dilakukan analisis dengan uji Anava. Untuk

mengetahui apakah terdapat perbedaan pengaruh antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGOT (AST), maka dilakukan analisis data dengan uji statistic non parametric, yaitu uji Kruskal-Wallis. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.7

Tabel 5.7 Hasil Uji Kruskal-Wallis pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGOT (AST)

| Variabel | Chi-square | Df | Sig. |
|------------|------------|----|-------|
| SGOT (AST) | 22.784 | 6 | 0.001 |

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis yang tertera pada tabel 5.8 di atas, diperoleh p hitung =0,001 atau $p < 0,05$, yang berarti ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.1.3 Korelasi dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGOT (AST)

5.2.1.3.1 Uji Korelasi Spearman data enzim SGOT (AST)

Untuk mengetahui korelasi dosis teripang dterhadap kadar enzim SGOT (AST), maka dilakukan uji korelasi spreamen. Hasil uji korelasi Spearman dapat dilihat pada tabel 5.8

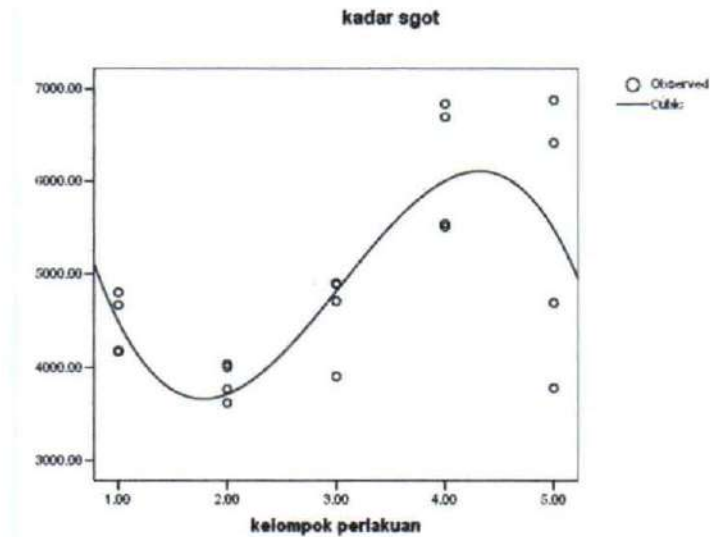
Tabel 5.8 Hasil uji korelasi Spearman data enzim SGOT (AST)

| Variabel | Dosis | | |
|------------|------------------------|----------------|----|
| | CorrelationCoefficient | Sig.(2-tailed) | N |
| SGOT (AST) | 0,287 | 0,138 | 28 |

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman yang tertera pada tabel 5.8 di atas, diperoleh hasil p hitung =0,138 atau $p > 0,05$ sehingga tidak terdapat korelasi antara dosis teripang pasir dengan kadar enzim SGOT (AST) hasil penelitian ini. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.1.3.2 Hubungan antara dosis teripang pasir terhadap kadar enzim SGOT (AST)

Untuk mengetahui gambaran kecenderungan hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan kadar enzim SGOT (AST), maka dilakukan analisis regresi dengan kurva estimasi.



Grafik 5.6 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan kadar enzim SGOT (AST)

Gambaran dari grafik 5.6 di atas, menunjukkan bahwa hubungan peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan kadar enzim SGOT (AST) tidak linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak diikuti dengan penurunan kadar enzim SGOT (AST). Dari grafik di atas, terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.

5.2.2 Pengaruh pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT)

5.2.2.1 Uji Normalitas data enzim SGPT (ALT)

Sebelum melakukan analisis data dengan uji Anava, maka dilakukan uji normalitas data enzim SGPT (ALT) dengan menggunakan uji Shapiro-wilk. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 5.19.

Tabel 5.9 Hasil uji normalitas data enzim SGPT (ALT)

| Variabel | Kelompok | Shapiro-Wilk | |
|------------|----------|--------------|-------|
| | | Statistik | Sig. |
| SGPT (ALT) | K 1 | 0.964 | 0.804 |
| | K 2 | 0.899 | 0.425 |
| | P1 | 0.740 | 0.031 |
| | P2 | 0.756 | 0.054 |
| | P3 | 0.920 | 0.537 |
| | P4 | 0.773 | 0.062 |
| | P5 | 0.796 | 0.095 |

Berdasarkan hasil uji normalitas yang tertera pada tabel 5.9 di atas, maka data kadar enzim SGPT (ALT) pada penelitian ini tidak berdistribusi normal ($p < 0.05$). Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.2.2 Perbedaan pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT)

Berdasarkan hasil uji normalitas, data enzim SGPT (ALT) tidak memenuhi persyaratan untuk dilakukan analisis dengan uji Anava. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pengaruh antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT), maka dilakukan analisis data dengan uji statistic non parametric, yaitu uji Kruskal-Wallis. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.10

Tabel 5.10 Hasil Uji Kruskal-Wallis pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT)

| Variabel | Chi-square | df | Sig. |
|------------|------------|----|-------|
| SGPT (ALT) | 23.52 | 6 | 0.001 |

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis yang tertera pada tabel 5.10 di atas, diperoleh p hitung =0,001 atau $p < 0,05$, yang ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.2.3 Korelasi dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT)

5.2.2.3.1 Uji Korelasi Spearman data enzim SGPT (ALT)

Untuk mengetahui korelasi dosis teripang terhadap kadar enzim SGPT (ALT), maka dilakukan uji korelasi spreamen. Hasil uji korelasi Spearman dapat dilihat pada tabel 5.13

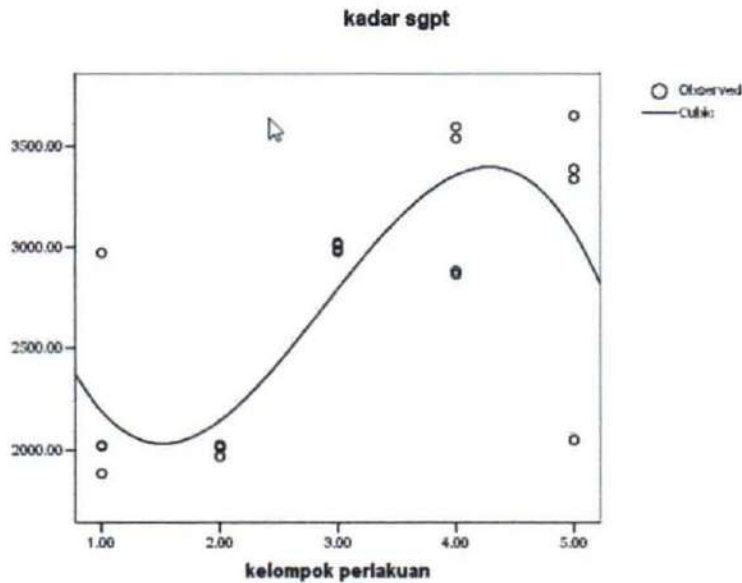
Tabel 5.11 Hasil uji korelasi Spearman data enzim SGPT (ALT)

| Variabel | Dosis | | |
|------------|------------------------|----------------|----|
| | CorrelationCoefficient | Sig.(2-tailed) | N |
| SGPT (ALT) | 0,363 | 0,058 | 28 |

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman yang tertera pada tabel 5.11 di atas, diperoleh hasil p hitung =0,058 atau $p > 0,05$ sehingga tidak ada korelasi antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan kadar enzim SGPT (ALT) pada penelitian ini. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.2.3.2 Hubungan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim SGPT (ALT)

Untuk mengetahui gambaran kecenderungan hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan kadar enzim SGPT (ALT), maka dilakukan analisis regresi dengan kurva estimasi.



Grafik 5.7 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan kadar enzim SGPT (ALT)

Gambaran dari grafik 5.7 di atas, menunjukkan bahwa hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan kadar enzim SGPT (ALT) tidak linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak diikuti dengan penurunan kadar enzim SGPT (ALT). Dari grafik di atas, terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.

5.2.3 Pengaruh pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT

5.2.3.1 Uji Normalitas data enzim γ -GT

Sebelum melakukan analisis data dengan uji Anava, maka dilakukan uji normalitas data enzim γ -GT dengan menggunakan uji Shapiro-wilk. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 5.12.

Tabel 5.12 Hasil uji normalitas data enzim γ -GT

| Variabel | Kelompok | Shapiro-Wilk | |
|--------------|----------|--------------|-------|
| | | Statistik | Sig. |
| γ -GT | K 1 | 0.887 | 0.369 |
| | K 2 | 0.827 | 0.161 |
| | P1 | 0.729 | 0.024 |
| | P2 | 0.993 | 0.972 |
| | P3 | 0.630 | 0.001 |
| | P4 | 0.630 | 0.001 |
| | P5 | 0.911 | 0.488 |

Berdasarkan hasil uji normalitas yang tertera pada tabel 5.12 di atas, data kadar enzim γ -GT pada penelitian ini tidak berdistribusi normal ($p < 0.05$). Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.3.2 Perbedaan pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT

Berdasarkan hasil uji normalitas, data enzim γ -GT tidak memenuhi persyaratan untuk dilakukan analisis dengan uji Anava. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pengaruh antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT, maka dilakukan analisis data dengan uji statistic non parametric, yaitu uji Kruskal-Wallis. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.13.

Tabel 5.13 Hasil Uji Kruskal-Wallis pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT

| Variabel | Chi-square | df | Sig. |
|--------------|------------|----|-------|
| γ -GT | 22.784 | 6 | 0.001 |

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis yang tertera pada tabel 5.16 di atas, diperoleh hasil p hitung = 0,001 atau $p < 0,05$, yang berarti ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.3.3 Korelasi dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT

5.2.3.3.1 Uji Korelasi Spearman data enzim γ -GT

Untuk mengetahui korelasi dosis teripang terhadap kadar enzim γ -GT, maka dilakukan uji korelasi Spearman. Hasil uji korelasi Spearman dapat dilihat pada tabel 5.14

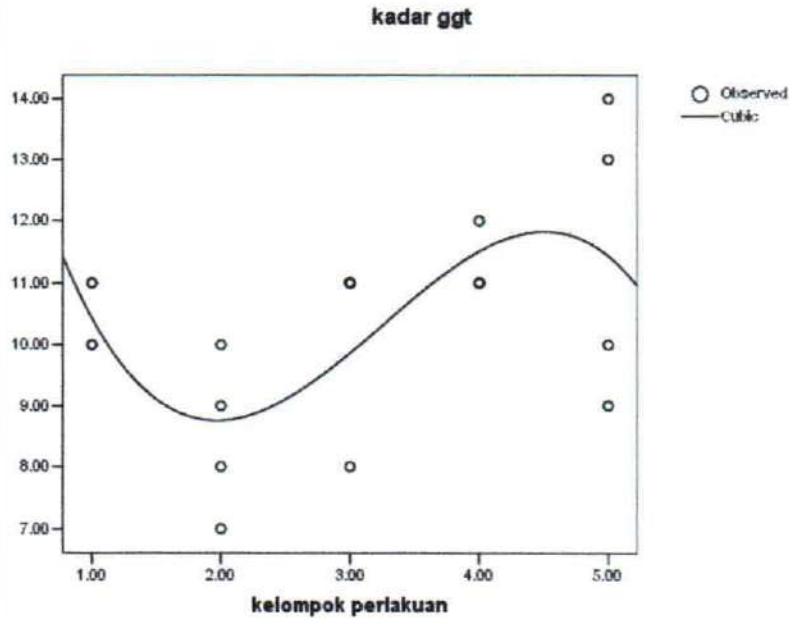
Tabel 5.14 Hasil uji korelasi Spearman data enzim γ -GT

| Variabel | Dosis | | |
|--------------|-------------------------|----------------|----|
| | Correlation Coefficient | Sig.(2-tailed) | N |
| γ -GT | 0,152 | 0,440 | 28 |

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman yang tertera pada tabel 5.14 di atas, diperoleh hasil $p = 0,440$ atau $p > 0,05$, atau tidak ada korelasi antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kadar enzim γ -GT pada penelitian ini. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2.

5.2.3.3.2 Hubungan dosis teripang pasir terhadap kadar enzim γ -GT

Untuk mengetahui gambaran kecenderungan hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan kadar enzim γ -GT, maka dilakukan analisis regresi dengan kurva estimasi.



Grafik 5.8 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan kadar enzim γ -GT

Gambaran dari grafik 5.8 di atas, menunjukkan bahwa hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan kadar enzim γ -GT tidak linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak diikuti dengan penurunan kadar enzim γ -GT. Dari grafik di atas terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.

5.2.4 Pengaruh pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar

5.2.4.1 Perbedaan pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar

Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh dosis teripang pasir (*holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar, dilakukan analisis data menggunakan uji statistic non parametric, yaitu uji Kruskal-Wallis. Hasil perhitungan dapat dilihat pada tabel 5.15

Tabel 5.15 Hasil Uji Kruskal-Wallis pengaruh dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar

| Variabel | Chi-square | df | Sig. |
|--------------------------------------|------------|----|-------|
| Sel normal | 23.889 | 6 | 0.001 |
| Sel steatosis | 21.198 | 6 | 0.002 |
| Sel nekrosis | 22.707 | 6 | 0.001 |
| Sel abnormal (steatosis+nekrosis) | 23.889 | 6 | 0.001 |

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis yang tertera pada tabel 5.15 di atas, diperoleh p hitung $p < 0,05$ untuk sel normal, sel steatosis, sel nekrosis dan sel abnormal, yang berarti ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 3.

5.2.4.2 Korelasi dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar

5.2.4.2.1 Uji Korelasi Spearman data histopatologi hepar

Untuk mengetahui korelasi dosis teripang pasir terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar, maka dilakukan uji korelasi Spearman. Hasil uji korelasi Spearman dapat dilihat pada tabel 5.16

Tabel 5.16 Hasil uji korelasi Spearman data histopatologi hepar

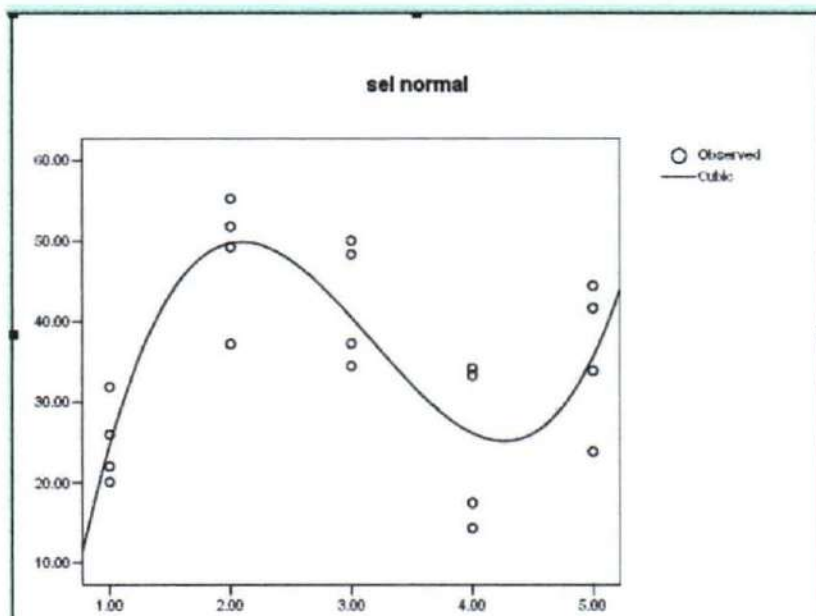
| Variabel | Dosis | | |
|--|------------------------|----------------|----|
| | CorrelationCoefficient | Sig.(2-tailed) | N |
| Sel normal | -0,108 | 0,583 | 28 |
| Sel steatosis | 0,449 | 0,016 | 28 |
| Sel nekrosis | -0,095 | 0,630 | 28 |
| Sel abnormal (steatosis + nekrosis) | 0,108 | 0,583 | 28 |

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman yang tertera pada tabel 5.19 di atas, diperoleh hasil, untuk sel normal $p = 0,583$ atau $p > 0,05$, sel nekrosis $p = 0,630$

atau $p > 0,05$, dan sel abnormal $p = 0,583$ atau $p > 0,05$. Nilai p hitung untuk ketiga kelompok sel ini menunjukkan tidak ada korelasi antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar pada penelitian ini. Sedangkan untuk sel steatosis, $p = 0,016$ atau $p < 0,05$ menunjukkan ada korelasi antara dosis teripang pasir terhadap jumlah sel steatosis pada sediaan hepar pada penelitian ini. Contoh perhitungan dapat dilihat pada lampiran 3.

5.2.4.2.2 Hubungan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hasil pemeriksaan histopatologi hepar

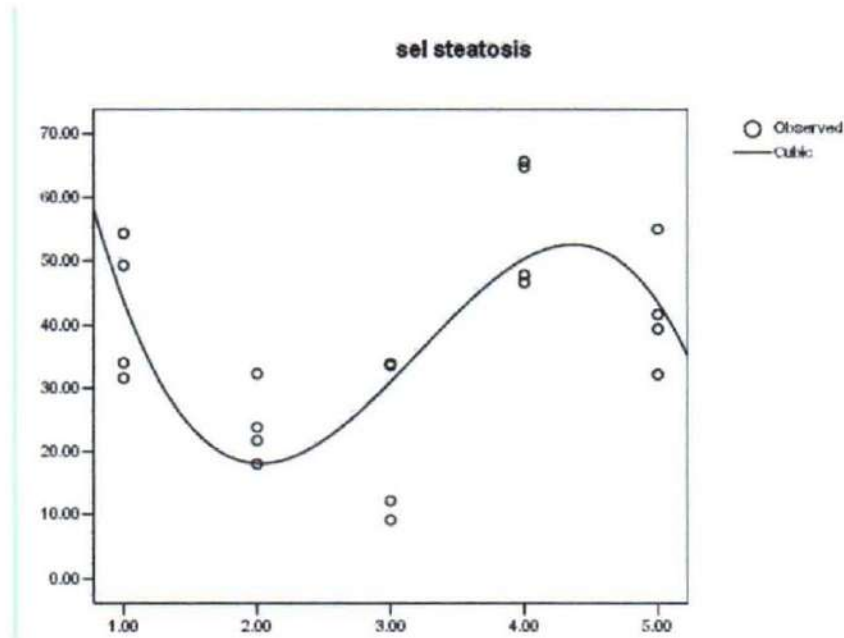
Untuk mengetahui gambaran kecenderungan hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap perubahan hasil pemeriksaan histopatologi hepar, maka dilakukan analisis regresi dengan kurva estimasi.



Grafik 5.9 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jumlah sel normal

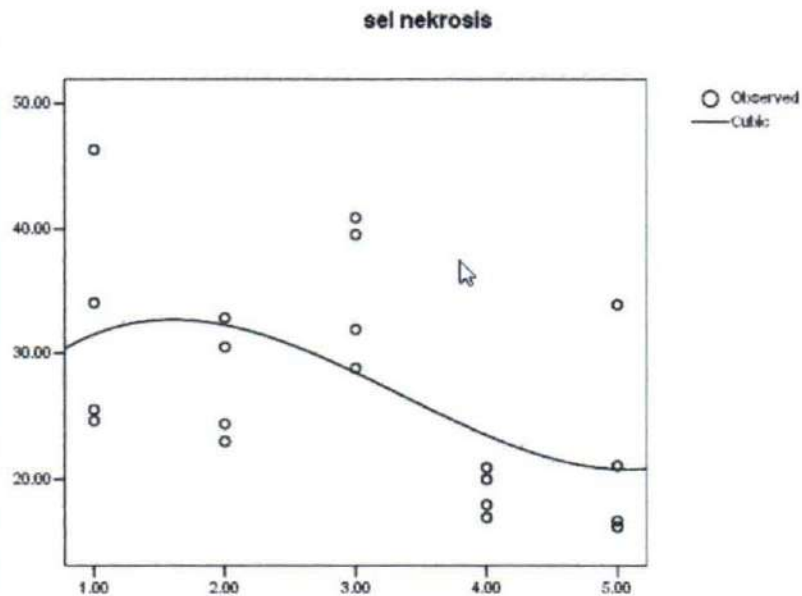
Gambaran dari grafik 5.9 di atas, menunjukkan bahwa hubungan peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan jumlah sel normal tidak linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak

diikuti dengan peningkatan jumlah sel normal. Dari grafik di atas terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.



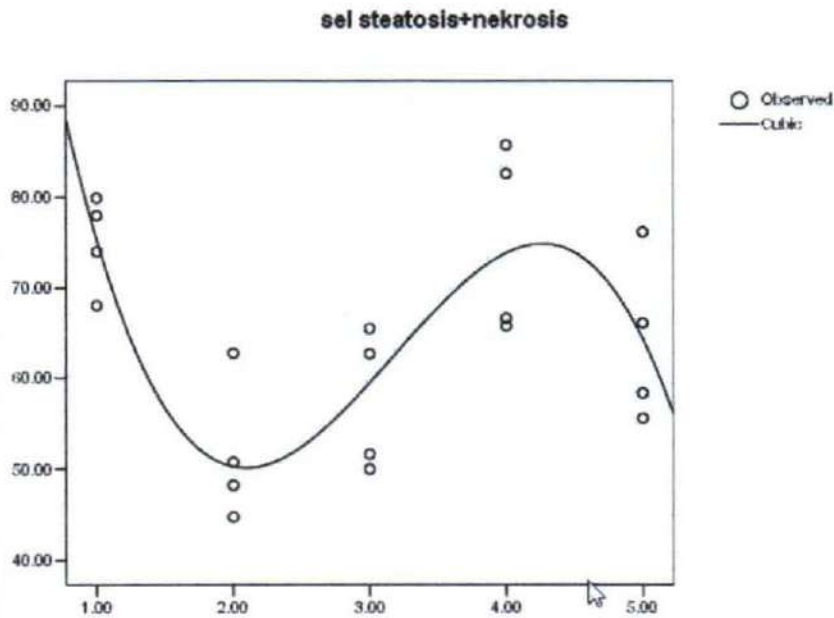
Grafik 5.10 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jumlah sel steatosis

Gambaran dari grafik 5.10 di atas, menunjukkan bahwa hubungan peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan jumlah sel steatosis tidak linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak diikuti dengan penurunan jumlah sel steatosis. Dari grafik di atas terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.



Grafik 5.11 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jumlah sel nekrosis

Gambaran dari grafik 5.11 di atas, menunjukkan bahwa hubungan peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan jumlah sel nekrosis cenderung linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) diikuti dengan penurunan jumlah sel nekrosis. Dari grafik di atas terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.



Grafik 5.12 Hubungan antara peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jumlah sel abnormal (steatosis dan nekrosis)

Gambaran dari grafik 5.12 di atas, menunjukkan bahwa hubungan peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan jumlah sel abnormal tidak linier, atau peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak diikuti dengan penurunan jumlah sel abnormal. Dari grafik di atas terlihat bahwa efek hepatoprotektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) cenderung semakin menurun dengan peningkatan dosis teripang pasir.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian farmakologi eksperimental yang bertujuan untuk melihat efek protektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hepatotoksisitas yang diinduksi oleh karbon tetraklorida (CCl_4). Indikator yang digunakan untuk menilai efek protektif ini adalah kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT serta gambaran sediaan jaringan hati melalui pemeriksaan histopatologi. Untuk melihat kemampuan proteksi teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kerusakan hati yang diinduksi oleh karbon tetraklorida (CCl_4), hasil pengukuran indikator kelompok perlakuan yang diberi intervensi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) akan dibandingkan dengan hasil pengukuran indikator kelompok kontrol yang tidak diberi intervensi. Pengukuran kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT serta gambaran sediaan jaringan hati melalui pemeriksaan histopatologi dilakukan hanya satu kali yaitu setelah perlakuan berakhir (*post test*).

Pada penelitian ini, hewan coba dibagi menjadi 7 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan diberi dosis teripang pasir yang berbeda-beda yaitu secara berturut-turut 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg dan 150 mg/200 gram berat badan tikus percobaan, sedangkan kelompok 2 kelompok kontrol hanya diberi CMC 1%, selama 14 hari. Penentuan dosis simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) berdasarkan hasil penelitian eksplorasi dosis teripang pasir yang dilakukan sebelumnya. Pemilihan bentuk sediaan simplisia didasarkan atas beberapa pertimbangan, yaitu senyawa aktif

yang diduga terkandung dalam teripang pasir yang memiliki efek hepatoprotektif, bila diambil bentuk ekstrak, konsentrasi maksimal senyawa aktif yang bersifat hepatoprotektif terdapat dalam ekstrak yang berbeda, sehingga bila digunakan salah satu jenis ekstrak, maka ada senyawa yang tidak maksimal terlarut atau terekstraksi di dalamnya. Tidak digunakannya sediaan infusum, pada sediaan ini karena senyawa-senyawa aktif tersebut, mengalami kerusakan bila dipanaskan pada suhu lebih dari 40° C. Oleh karena itu, dipilih penggunaan sediaan utuh dari teripang yang dihancurkan (diserbukkan) untuk memudahkan pengukuran dosis dan pemberiannya ke hewan coba. Alasan lainnya adalah segi kepraktisan, di mana hasil penelitian ini diharapkan dapat langsung diaplikasikan oleh masyarakat, tanpa harus menggunakan suatu teknologi tertentu yang tidak mereka miliki atau tidak dikuasai serta membutuhkan biaya tambahan dalam pengolahannya. Namun, penggunaan bentuk simplisia teripang pasir juga memiliki kekurangan, antara lain, semua senyawa baik yang diharapkan efeknya maupun senyawa yang merugikan seperti senyawa holotoksin yang bersifat sitotoksik, sehingga dapat menurunkan efek protektif yang diharapkan.

Pada penelitian ini, senyawa yang digunakan untuk menginduksi kerusakan hati adalah karbon tetraklorida (CCl₄). Karbon tertaklorida (CCl₄) merupakan salah satu senyawa yang sangat hepatotoksik dan saat ini hanya digunakan dalam penelitian sebagai model untuk menjelaskan mekanisme terjadinya beberapa kerusakan hati yang disebabkan oleh suatu radikal bebas (Weber et al., 2003; Junilla et al., 2000). Efek toksik karbon tetraklorida (CCl₄) pada tubuh suatu individu, tergantung antara lain pada dosis, rute pemberian, dan lama paparan. Pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) per oral, diketahui menyebabkan efek

hepatotoksik yang lebih besar dibandingkan dengan rute pemberian lain. Pemberian per oral secara bolus, efek hepatotoksiknya lebih besar bila dibandingkan dengan pemberian per infus. Dosis karbon tetraklorida (CCl_4) sebagai dosis tunggal pada pemberian per oral yang menimbulkan kerusakan organ pada binatang coba tikus berkisar 0,0125 ml-5 ml/kg bb atau setara dengan 19,925-3985 mg/kg bb tikus (EHC 208,1999).

Pada penelitian ini, dosis karbon tetraklorida (CCl_4) yang digunakan adalah sebesar 1 ml/kgbb sebagai dosis tunggal (bolus) dan diberikan per oral. Karbon tetraklorida (CCl_4) tersebut diencerkan dengan minyak zaitun, dengan asumsi indikator yang diukur terutama disebabkan oleh kerusakan hepar.

Karbon tetraklorida (CCl_4) menyebabkan kerusakan pada sel melalui reaksi antara metabolitnya yang bersifat radikal bebas dengan struktur-struktur seluler jaringan hati. Dalam hepatosit, oleh enzim sitokrom P450 (CYP 450), CCl_4 akan dimetabolisme dan menghasilkan 2 metabolit yang bersifat lebih toksik dan lebih reaktif dibandingkan senyawa asalnya, yaitu radikal bebas triklorometil (CCl_3^*) dan triklorometilperoksil CCl_3O_2^* . CCl_3^* dapat berikatan kovalen dengan protein, lemak, DNA yang pada akhirnya dapat memicu kerusakan hepatosit. CCl_3O_2^* dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak yang menimbulkan disfungsi membran sel dan membran organel sel serta membentuk senyawa reaktif aldehid yang juga dapat menyebabkan kerusakan hepatosit. Keadaan ini dapat ditunjukkan dengan peningkatan kadar MDA. Karbon tetraklorida CCl_4 juga dapat mengaktivasi sel kupffer. Kerusakan (nekrosis) hepatosit juga memicu aktivasi sel kupffer. Sel kupffer yang teraktivasi dapat melepaskan berbagai mediator pro inflamasi yang dapat memperberat kerusakan hepatosit. Selain itu, sel kupffer

juga dapat melepaskan ROS yang juga memperberat kerusakan hepatosit (EHC 208,1999; Weber et al.,2003). Karbon tertaklorida juga merusak hepatosit dengan mendepleksi kadar GSH, suatu antioksidan endogen dalam hepatosit.

Bila hepatosit mengalami kerusakan, baik yang bersifat *reversible* (steatosis) maupun *irreversible* (nekrosis), pada akhirnya dapat menyebabkan terlepasnya enzim-enzim dalam hepatosit tersebut ke dalam sirkulasi sistemik. Enzim-enzim yang banyak ditemukan dalam hepatosit antara lain SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT. Kerusakan pada membran hepatosit dapat secara langsung menyebabkan terlepasnya enzim yang terikat pada membran hepatosit seperti enzim γ -GT ke dalam sirkulasi melebihi normal. Kerusakan pada membran juga dapat menyebabkan keluarnya enzim dalam sitoplasma hepatosit yaitu SGPT (ALT) dan SGOT (AST). Kerusakan pada mitokondria hepatosit secara langsung ataupun akibat dari kerusakan struktur lain pada hepatosit, dapat menyebabkan terlepasnya enzim yang terdapat di dalam mitokondria, seperti enzim SGOT (AST). Enzim SGOT (AST) ini paling banyak ditemukan di zona 3 asinus hepatic, sehingga kerusakan yang terjadi terutama pada zona 3, dapat menyebabkan kadar enzim ini dalam plasma meningkat melebihi kadar enzim hepatosit lain (Giannini et al., 2005; Dufour et al.,2007). Peningkatan kadar enzim-enzim ini dalam plasma tergantung pada derajat kerusakan hepatosit. Gambaran biokimiawi pada tipe kerusakan nekrosis, peningkatan kadar SGOT (AST) dan SGPT (ALT) dapat mencapai 10-500 kali dari keadaan normal, sedangkan peningkatan kadar γ -GT hanya mencapai 1-2 kali dari keadaan normal (Maclaren, 2005).

Pada penelitian dibuktikan, bahwa karbon tetraklorida dengan dosis 1 ml/kgbb tikus dosis tunggal (bolus) per oral menimbulkan kerusakan yang berat pada jaringan hepar. Kerusakan jaringan hepar ini, secara biokimiawi ditandai dengan peningkatan kadar enzim SGOT (AST) mencapai 28 kali lipat ($304,50 \pm 205,37$ (K1) : $8773,00 \pm 157,22$ (K2)), SGPT (ALT) mencapai 67 kali ($62,00 \pm 24,98$ (K1) : $4192,25 \pm 197,64$ (K2)) dan γ -GT sebesar 2 kali lipat ($7,25 \pm 2,63$ (K1) : $15,00 \pm 1,41$ (K2)) pada kelompok kontrol 2 (K2) dari kontrol 1 (K1) yang tidak diinduksi kerusakan hatinya.

Gambaran histologi kerusakan jaringan hati atau derajat kerusakan jaringan akibat induksi karbon tetraklorida (CCL_4), sebagaimana indikator biokimiawi juga tergantung pada dosis dan rute pemberiannya. Semakin besar dosis, derajat kerusakan semakin berat. Gambaran kerusakan jaringan hati juga tergantung pada saat pengambilan sampel hati. Gambaran kerusakan jaringan hati setelah 6 jam induksi CCL_4 , nekrosis zona 3 tampak jelas dan setelah 12-24 jam terjadi nekrosis massiv pada lobulus hati (EHC 208,1999). Pada penelitian ini, pengambilan sampel darah maupun sampel jaringan hepar dilakukan 12 jam setelah induksi.

Hasil pemeriksaan histopatologi jaringan hepar pada penelitian ini memberikan bukti tambahan bahwa karbon tetraklorida (CCL_4) dengan dosis 1 ml/kgbb tikus dosis tunggal (bolus) per oral menimbulkan kerusakan yang berat pada jaringan hepar. Hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan kerusakan jaringan hati yang berat pada kelompok kontrol 2 (K2). Berdasarkan skala Metavir, kelompok K2 100% derajat 4, sedangkan pada kelompok K1 100% derajat 0. Berdasarkan persentase sel abnormal, pada kelompok K2 persentase sel abnormal mencapai 97.16 ± 2.95 %, sedangkan pada kelompok K1 hanya

6.85±2.25%, atau meningkat 15 kali lipat dari kelompok K1. Hasil persentase sel abnormal ini bila lebih dirinci, sel steatosis pada kelompok K2 mencapai 40.18 % atau 48 kali lipat dan sel nekrosis mencapai 56.98 % atau 9 kali lipat dari kelompok K1.

Kerusakan hepatosit yang diinduksi oleh radikal bebas seperti metabolit CCl₄ dapat dicegah atau dikurangi oleh senyawa yang bersifat antioksidan. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) diduga mengandung senyawa yang bersifat antioksidan, yaitu carotenoid (Matsuno et al, 1999), vitamin C dan E (Trubus, 2006; Madhavan,1998); senyawa flavonoid dan polifenol (Mamelona et al,2007), DHA dan EPA (Fredelina et al, 1999; Svetashev et al,2002; Kasai,2003;Trubus,2006) serta kondroitin sulfat (Kariya et al,1990; Mourao et al,1996; Tovar et al, 1991).

Vitamin E, vitamin C, karotenoid, senyawa polifenol dan flavonoid merupakan antioksidan pemutus rantai (Amin,1996). β-karoten dapat menghambat reaksi radikal bebas seperti radikal peroksil. β-karoten sangat efisien mengurangi radikal klorometilperoksil (Sies et al, 1995). Radikal klorometilperoksil merupakan radikal bebas yang sangat poten hasil metabolisme karbon tetraklorida (CCl₄).

Vitamin C merupakan antioksidan paling penting dalam cairan ekstraseluler. secara efisien dapat mencegah terbentuknya superoksida, hidrogen peroksida, hipoklorit, radikal hidroksil, radikal peroksil dan radikal oksigen. Vitamin C lebih efektif dalam menghambat peroksidasi lemak oleh radikal peroksil bila dibandingkan komponen plasma lain seperti α-tokoferol. Vitamin C dapat

mencegah peroksidasi membran dengan meningkatkan aktifitas tokoferol dan mencegah kerusakan sel akibat radikal oksigen (Sies et al., 1995).

Vitamin E dapat mencegah jaringan lemak dari serangan radikal bebas, misalnya dalam membran sel, vitamin E sangat penting karena bereaksi dengan radikal peroksida lemak menjadi hidroksiperoksida lemak yang relatif lebih stabil dan radikal tokoferol mengganggu reaksi rantai radikal sehingga mencegah peroksida lemak. Kadar vitamin E dalam tubuh juga menentukan kemampuan oksidan lain seperti radikal hidroksil, radikal alkoksil, radikal peroksil, radikal oksigen, terhadap berbagai sel dan organ tubuh (Sies et al., 1995).

Salah satu penelitian tentang kapasitas antioksidan pada spesies *Cucumaria frondosa*, kandungan polifenol total pada berbagai sistem organ bervariasi dari 22,5 sampai 236,0 mg/100 gram berat kotor, dan flavonoid total dari 2,9 sampai 59,8/100 gram. Kapasitas absorban radikal oksigen atau kapasitas antioksidan mulai dari 140 sampai 800 $\mu\text{mol}/\text{gram}$ berat kotor (Conad, 2007).

Pada penelitian oleh Gonzales et al (2006), secara *in vitro* membuktikan, hepatosit yang ditumbuhkan pada medium kaya DHA, tingkat stress oksidatifnya lebih rendah secara signifikan dari pada hepatosit yang ditumbuhkan pada medium tanpa DHA. Pada penelitian ini juga dibuktikan, DHA mampu mencegah kerusakan DNA oleh hidrogen peroksida. Selain itu, menurut Gonzales et al (2006), EPA dan DHA yang dapat mengurangi reaksi inflamasi (nekroinflamasi) sehingga mencegah kerusakan sel yang lebih parah

Menurut penelitian oleh Ha et al (2003), kondroitin sulfat memiliki kemampuan melawan efek hepatotoksik karbon tetraklorida (CCl_4). Pada penelitian ini diperoleh hasil berupa peningkatan aktivitas enzim antioksidatif hati

yaitu SOD, katalase (CAT), meningkatkan aktivitas glutathion peroksidase (GPx), meningkatkan status redoks glutathion (GSH/GSSG). Peningkatan aktivitas enzim antioksidan alami dalam hepar akan menurunkan efek hepatotoksik karbon tetraklorida (CCl₄). Salah satu pembuktian dalam penelitian ini adalah pemberian kondroitin sulfat 100 mg dan 200 mg/kg berat badan mampu mencegah penurunan kadar MDA pada kelompok perlakuan.

Efek kumulatif dari senyawa antioksidan teripang pasir dan kemampuan senyawa dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*) yaitu kondroitin sulfat untuk mengaktifkan dan mencegah reduksi antioksidan enzimatik endogen dalam hepatosit, untuk melawan efek hepatotoksik karbon tetraklorida (CCl₄) yang ingin dibuktikan dalam penelitian ini.

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg dan 150 mg/200 gram berat badan tikus, selama 14 hari mampu mencegah peningkatan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) secara bermakna ($p < 0,05$) pada semua kelompok dosis perlakuan. Secara statistik deskriptif, kadar enzim SGOT (AST) pada kelompok perlakuan lebih rendah sekitar 29,94% sampai dengan 56,06%, kadar enzim SGPT (ALT) lebih rendah sekitar 28,5 % sampai dengan 52,14% dan kadar enzim γ -GT lebih rendah sekitar 25 % sampai dengan 43,33% dari kelompok K2. Hasil ini didukung oleh hasil pemeriksaan histopatologi jaringan hepar. Pemberian teripang pasir (*Holothuria scabra*) 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg dan 150 mg/200 gram berat badan tikus, secara histopatologi terbukti mencegah kerusakan jaringan hati dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 (K2) secara bermakna ($p < 0,05$). Hasil pemeriksaan

histopatologi secara statistik deskriptif, memperlihatkan persentase sel abnormal atau mengalami steatosis dan nekrosis lebih rendah sekitar 22.61 % sampai dengan 46,89%, sedangkan persentase sel yang mengalami nekrosis menurun 38.05% sampai dengan 66,75% dari kelompok K2. Berdasarkan skala Metavir, juga diperoleh penurunan derajat kerusakan jaringan hati, yaitu pada kelompok perlakuan mencapai derajat 2-3, sedangkan pada kelompok K2 100% derajat 4. Rendahnya kadar indikator biokimiawi dan histopatologi pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa teripang pasir (*Holothuria scabra*) mempunyai potensi untuk digunakan sebagai hepatoprotektor dari radikal bebas.

Secara statistik deskriptif, efek protektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) diperoleh pada pemberian dosis 25 mg sampai dengan 75 mg (kelompok perlakuan 1-3) dan efek protektif tertinggi diperoleh pada dosis 50 mg atau pada kelompok perlakuan 2 (P2). Pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) 50 mg memberikan penurunan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT, serta penurunan persentase sel abnormal dan derajat menurut skala Metavir paling tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain.

Peningkatan dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) melebihi 75 mg, tidak meningkatkan efek protektif dari teripang pasir ini, bahkan kecenderungannya menurun.

Namun, berdasarkan hasil uji korelasi Spearman, tidak terdapat korelasi yang nyata ($p > 0,05$) antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan kadar enzim SGOT (AST), SGPT (ALT) dan γ -GT. Hasil uji korelasi Spearman persentase sel normal dan abnormal juga tidak menunjukkan korelasi yang nyata

($p > 0,05$) antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan persentase sel normal, sel nekrosis dan sel abnormal. Gambaran hubungan berdasarkan analisis regresi dengan kurva estimasi, tidak bersifat linier, tetapi kubik.

Hasil uji korelasi Spearman yang tidak signifikan, dapat disebabkan antara lain oleh dosis karbon tetraklorida (CCl_4) secara bolus per oral menghasilkan efek toksik yang terlalu tinggi melebihi kemampuan senyawa antioksidan yang diduga terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*). Selain itu, dalam teripang, kemungkinan besar juga dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*) terkandung senyawa-senyawa yang bersifat sitotoksik. Senyawa tersebut berupa tripertern glikosida seperti holothurin dan holotoxin. Tripertern glikosida seperti holothurin dan holotoxin dapat menyebabkan hemolisis. Bila eritorisit mengalami lisis, sel tersebut juga akan melepaskan ROS, suatu senyawa yang bersifat oksidan kuat, yang dapat memperberat efek toksik karbon tetraklorida (CCl_4) (Stonik, 1986; Tian et al, 2007; Chi et al, 2005; Dang, 2007; Zhang, 2004). Sampai saat ini, peneliti belum mendapatkan data tentang konsentrasi dan kapasitas antioksidan dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*). Kemungkinan lain yang mungkin dapat terjadi adalah adanya kejenuhan dalam penyerapan. Sebagaimana diketahui, absorpsi vitamin A dan E membutuhkan lemak. Keterbatasan lemak dalam pakan tikus, dapat mengurangi kemampuan absorpsi dari kedua senyawa ini, yang selanjutnya menurunkan efek klinisnya. Hal lain yang tidak dapat disingkirkan pengaruhnya pada penelitian ini adalah ketidakmampuan peneliti untuk menepatkan lama paparan karbon tetraklorida (CCl_4) yaitu selisih waktu antara pemberian karbon tetraklorida (CCl_4) dengan pengambilan sampel antara

kelompok K2 dan semua kelompok perlakuan. Pengambilan sampel membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan waktu penginduksian.

Hasil penelitian ini telah menunjukkan efek protektif dari teripang pasir (*Holothuria scabra*). Namun, penelitian ini masih jauh dari kondisi ideal. Penelitian ini masih membutuhkan penyempurnaan sehingga hasilnya lebih akurat.

BAB 7**KESIMPULAN DAN SARAN****7.1 KESIMPULAN**

Pada penelitian ini, dapat disimpulkan:

1. Pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada hewan coba (*Rattus norvegicus*) mampu mencegah peningkatan kadar enzim SGOT (AST) akibat hepatotoksisitas yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).
2. Pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada hewan coba (*Rattus norvegicus*) mampu mencegah peningkatan kadar enzim SGPT (ALT) akibat hepatotoksisitas yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).
3. Pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada hewan coba (*Rattus norvegicus*) mampu mencegah peningkatan kadar enzim γ -GT akibat hepatotoksisitas yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).
4. Pemberian simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada hewan coba (*Rattus norvegicus*) mampu mencegah terjadinya steatosis dan nekrosis hepatosit akibat hepatotoksisitas yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).
5. Efek protektif teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap kerusakan hepar akibat diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄) diperoleh pada rentang dosis 25 mg-75 mg (dosis perlakuan 1-3).
6. Efek protektif tertinggi teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada tikus percobaan didapatkan pada pemberian dosis 50 mg (dosis perlakuan 2).

7. Tidak ada korelasi antara dosis teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan kemampuan proteksi simplisia teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap hepatotoksisitas yang diinduksi oleh karbon tetraklorida (CCl₄).

7.2 SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui mekanisme hepatoprotektif yang pasti dari teripang pasir (*Holothuria scabra*) dengan jumlah sampel yang lebih besar (besar sampel minimal 30), jumlah dosis percobaan minimal 10 dosis dan dengan rentang dosis antara kelompok perlakuan yang lebih kecil.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan teripang pasir (*Holothuria scabra*) dan konsentrasinya, baik yang bersifat hepatoprotektif maupun yang hepatotoksik.
3. Bila masyarakat ingin memanfaatkan teripang pasir (*Holothuria scabra*) sebagai hepatoprotektor, dianjurkan menggunakan dosis kecil yaitu 1-2 gram.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin M., 1996. *Penyakit Paru Obstruksi Menahun: Polusi Udara, Rokok dan Alfa-1-antitripsin*, Airlangga University Press, Hal:23-28
- Aminin D.L., Agafonova I.G., Berdyshev E.V., Isachenko E.G., Avilov S.A., Stonik V.A., 2001. Immunomodulatory Properties of Cucumariosides from the Edible Far-Eastern Holothurian *Cucumaria japonica*. *Journal of Medicinal Food* 4 (3): 127-135
- Cara Sehat dengan Teripang/Sea Cucumber, <http://www.gamat.rpyou.com>
- Caterina R.D., Basta G. , 2001. n-3 Fatty acids and the inflammatory response-biological background. *European Heart Journal Supplements*; 3 (supplement D):D42-49
- Chi T., 2005. Benefits of a Special sea Cucumber Extrac in Anti-angiogenic Therapy & RTK Inhibition For Cancer. *Journal of The American Naturopathic Association* Vol. 9. No 2: 17-21
- Conad C., (editor) 2007. Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of atlantic sea cucumber, *Curcumaria Frondosa* (abstract). *Beche-De-Mer Information Bulletin*, Issue 25:5-6
- Crawford J M., 2005. *Liver and biliry tract*. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease, seventh edition, W.B. Saunders Company: 877-937
- Dang N.H, Thanh N.V., Kiem P.V. , Huong L.M., Minh C.V., Kim Y.H., 2007. Two New Triterpen Glycosides from the Vietnamese Sea Cucumber *Holothuria scabra*. *Arch Pharm Res*. Vol 30. No 11:1387-1391
- Departemen Kelautan dan Perikanan, 2006. Teripang Geliat Potensi dari Timur Laut. www.dpk.go.id
- Dufour D.R., Lott J.A., Nolte F. S., Gretch D.R., Koff R.S., et.al, 2000. Diagnosis and Monitoring of Heaptic Injury. I. Performance Charateristics of Laboratory Test. *Clinical Chemistry* 46: 12 :2027-2042
- EHC 208, 1999. Carbon Tetrachloride. Enviromental health criteria. International Program on Chemical Safety: 1-142
- DINKES RI, 1979. Farmakope Indonesia,. Edisi ketiga. Ditjen POM:XXX
- Farouk A.E., Ghouse F.A.H., Ridzwan B.H , 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted

- Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 3 (2): 60-65
- Flower R.J., Perretti M., 2005. controlling inflammation: a fat chance?. *JEM*. Vol 201. No 5:671-674
- Fredalina B.D., Ridzwan B.H, Zainal Abidin A.A., Kaswandi M.A., Zaiton H., et al, 1999. Fatty acid compositions in local sea cucumber, *Stichopus chloronatus* for wound healin (abstrack),.General Pharmacology. Volume 33. Issue 4:337-340
- Giannini E.D., Testa R., Savarino V., 2005. Liver Enzyme alteratsion: a guide for clinicians. *CMAJ*. Vol 172 (3):367-379
- Gonzales F.J., 2007. CYP2E1. *Drug Metabolism and Dispotition*. Vol. 35, No 1:1-8
- Gonzalez-Periz A., Planaguma A., Gronert K., Miquel R., Lopez-Parra M., et al, 2006. Docosahexaenoic acid (DHA) blunts liver injury by conversion to protective lipid mediators: protectin D1 and 17S-hydroxy-DHA. *The FASEB Journal* Vol 20:E1844-E1855
- HA B.J., Lee J.Y.,2003. The effect of chondroitin sulfate against CCl4-induced hepatotoxicity (Abstrac). *Biol Pharm Bull*. Vol 26;No 5
- Haug T., Kjuul A.K., Styrvold O.B., Sandsdalen E., Olsen Ø.M., Stensvåg K., 2002. Antibacterial activity in *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucumaria frondosa* (Holothuroidea), and *Asterias rubens* (Asteroidea) (abstract). *Journal of Invertebrate Pathology* Volume 81, Issue 2: 94-102
- Hawa I, Zulaikah M, Jamaluddin M, Zainal Abidin AA, Kaswandi MA, Ridzwan BH, 1999. The Potential of the Coelomic Fluid insea cucumber as an Antioxidant. *Mal J Nutr* 5:55-59
- Holt P.M., Ju C., 2006. Mechanism of Drug-Induced Liver Injury. *The AAPS Journal*, 8 (1) Article 6: E48-E54
- Hong Z., Zou S., Giulivi A., 2001. Hepatitis B and its Control in Southeast Asia and China. *Public Health Agency of Canada*. Volume: 27S3
- Jaeschke H., Bajt M.L., 2006. Intracellular Signaling Mechanism of Acethaminophen-Induced Liver Cell Death. *Toxicological Science* 89(1): 31-41
- Jaeschke H., G.J. Gores, A.I. Cederbaum, J.A. Hinson, D. Pessayre, J.J. Lemasters, 2002. Mechanism of Hepatotoxicity. *Toxilological Science* 65:166-176

- James M.J., Gibson R.A., Cleland L.G., 2000. Dietary Polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr*; 71(suppl):343s-348s
- Junilla M., Rahko T., Sukura A., Lindberg L.-A., 2000. Reduction of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxic Effects by Oral Administration of Betain in Male Han-Wistar Rats : A Morphometric Histological Study. *Vet Pathol* Vol 37, No 3:231-238
- Kanter, M., 1998. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *Proceedings of the Nutrition Society* 57:9-13
- Kaplowitz N., 2004. Drug-Induce Liver Injury. *Clinical Infectious Diseases*: 38 (suppl 2):S44-8
- Kariya Y., S. Watabe, K. Hashimoto, K. Yoshida, 1990. Occurrence of Chondroitin Sulfate E in Glycosaminoglycan Islated from the Body Wall of Sea Cucumber *Stichopus japonicus*. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 265. No. 9. Issue of March 25:5081-5085
- Kasai T., 2003. Lemak Contents and fatty acid compotition of total lemak of sea cucumber *Stichopus japonicus* and Konowata (salted sea cucumber entrails). *Food Sci. Technol. Res.*, 9 (1):45-48
- Kawada N., Mizoguchi Y., Kobayashi K., Yamamoto S., Morisawa S.. 1990. Arachidonic acid metabolites in carbon tetrachloride-induced liver injury (Abstrac). *Journal of Gastroenterology* Vol 25, Number 3
- Kumar V., Cotran R.S., Collins T., 2005. *Cellular adapatations, cell injury, and cell death*. Robins and Cotran Pathologic Basis of Disease, seventh edition, W.B. Saunders Company: 3-46
- Kusuma D., 2004. *Biologi Hewan Coba*. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gadjah Mada University Press: 5-22
- Lee S.S.T., Buters J.T.M., Pineaus T., Fernandez-Salguero P., 1996. Role of CYP2E1 in the Hepatotoxicity of Acetaminophen. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 271. No. 20. Issue 17:12063-12067
- Lee W.M., 1995. Drug-Induce Hepatotoxicity. *The New England Journal of Medicine* Vol 333. No 17 Oct. 26;1118-1127
- Madhavan R., 1996. Mengesankan Kehadiran Vitamin E dan Unsur-unsur Logam dalam tiga spesies timun laut. Tesis Sarjana Muda Sains Bioperubatan (Kepujian). Fakulti Sains Kesihatan Bersekutu, Universitas Kebangsaan Malaysia, dalam Hawa I, Zulaikah M, Jamaluddin M, Zainal Abidin AA, Kaswandi MA, Ridzwan BH, 1999. The Potential of the Coelomic Fluid in sea cucumber as an Antioxidant. *Mal J Nutr* 5:55-59

- Matsuno T., Tsushima M., 1995. Comparative biochemical studies of carotenoids in sea cucumbers^{*1}(abstract). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. Volume 111. Issue 4: 597-605
- Maurao P.A.S., Pereira, M.S., Pavao, M.S.G., Mulloy, B., Tollefsen, D.M, et al., 1996. Structure and Anticoagulant Activity of a Fucosilated Chondroitin Sulfate from Echinoderm. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 271, No. 39, Issue of september 27:23973-23984
- Middleton E., Kaswandi C., Theoharides T.C., 2000. The Effects of Plants Flavonoids on mammalian Cells: Implications For Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *The Americans Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, Pharmacol Rev* 52:673-751
- Mojica E-R.E., Merca F.E.. Lectins from Internal Organs of Sea Cucumber, Institute of Chemistry, University of the Philippines:1-15. www.pcamrd.dost.gov.ph/zone2/papers/8th/mojica2.pdf
- Mojica E-R.E., Layson R.J., Rodil M.C.A., Deocaris C.C. Marine Invertebrates as Source of Potential Antitumor and Bacterial Agents. IC, UPLB, Collage, Laguna and PNRI, Quezon City:1-10 www.pcamrd.dost.gov.ph/zone2/papers/8th/mojica1.pdf
- Ogushi M., Yoshie-Strak Y., Suzuki T., 2005. Cytostatic Activity of Ht Water Extracts from the Sea Cucumber in Caco-2. *Food Sci. Technol. Rec.* 11(2):202-206
- Prim P., Lawrence J. M., Turner R. L., 1975. Protein, carbohydrate, and lipid levels of the adult body wall of *Actinopyga agassizi*, *Synaptula hydriformis* and *Pentacta pygmaea* (Echinodermata: Holothuroidea) (abstract). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. Volume 55, Issue 2:307-309
- Roberts S.M., James R.C., Franklin M.R., 2000. Hepatotoxicity : *Toxic Effect on the Liver*. Principles Of Toxicology Environmental and Industrial Applications. second edition. John Wiley & Sons, Inc.:111-128
- Rodrigues E., Gonzales M., Caride B., Lamas M.A., Taboada M.C., 2000. Nutritional value of *Holothuria forskali* protein and effects on serum lipid profile in rats. *J. Physiol. Biochem.* 58(1):39-44
- Romero F.J., Bosch-Morell F, Romero M.J., Janero E.J., Romero B., et al, 1998. Lipid Peroxidation Products and Antioxidants in Human Disease. *Environmental Health Perspective*. Vol 106 supplement 5:1229-1234
- Simopoulos A.P., 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr*; 70(Suppl):560S-569S

- Simopoulos A.P., 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune disease. *Journal of the American Collage of Nutrition*. Vol 21. No 6:495-505
- Sirait M, 1991. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Kelompok Kerja Ilmiah PHYTOMEDICA. Jakarta.
- Serhan C.N., Hong S., Gronert K., Colgan S.P., Devchan P.R., et al, 2002. Resolvins: A Family Bioactive Products of Omega-3 Fatty Acid Transformation Circuits Initiated by Aspirin Treatment that Counter Proinflammation Signals. *Journal Express Medicine*. Volume 196, No 8:1025-1037
- Sies H., Stahl W., 1995. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants¹⁻³. *American Journal Clinical Nutrition* 62(suppl):1315S-21S
- Stonik V.A., 1986. Some terpenoid and steroids derivatives from achinoderms and sponges. *Pure & Appl. Chem*. Vol 58, No. 3:423-439
- Susilawati Y., 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium folium*) terhadap Kadar Malondhid Plasma dan aktivitas Superoksida Dismutase Eritrosit Rattus norvegicus Akibat Latihan Olahraga. Ringkasan Tesis. Program Pascasarjana universitas Airlangga. Surabaya
- Svetashev V.I., Levin V. S., Lam C. N., Nga D. T., 1991. lipid and fatty acid composition of holothurians from tropical and temperate waters (abstract). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. Volume 98. Issue 4:89-494
- Tian F., Zhu C., Zhang X-w., Xie X., Xin X-l., et al, 2007. Philippioside E, a New Sulphated Saponin from Sea Cucumber, Blocks the Interaction between Kinase Insert Domain_Containing Receptor (KDR) and $\alpha v \beta$ Integrin Via Binding to the Extracellular Domain of KDR (Abstrac). *Molecular Pharmacology* 72:545-552
- Tovar A.M.F., Mourão P.A.S., 1996. High affinity of a fucosylated chondroitin sulfate for plasma low density lipoprotein (abstract). *Atherosclerosis*. Volume 126. Issue 2:185-195
- Trubus, 2006. Reportase Malaysia, Obat Mujarab dari Laut. Trubus edisi Minggu 02 Juli dalam Cara Sehat dengan Teripang/Sea Cucumber. <http://www.gamat.rpyou.com>
- Weber LW, Boll M, Stampfl A., 2003. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol*. 33(2):105-36
- Youngson R., 1994. *The antioxidant Health Plan, How to Beat the Effects of Free Radicals*. Thorsons. London, hal:1-13

Zhang, S-H., Ling-Li, Y-H Yi, Z-R Zou, Peng-Sun, 2004. Philinopnegin A,B and C, Three New Triterpenoid Aglycones from Sea Cucumber *Pentacta quadrangulalis*. *Marine Drugs* 2:185-191

Zhiguang, LI, Hong, W., Jiazeng, LI., Guangshen, Z., Cunji, G., 2000. Basic and Clinical Study on The Antithrombotic mechanism of glycosaminoglycan extracted from sea cucumber. *Chinese Medical Journal*. Vol. 113. No. 8:706-711

LAMPIRAN 1

**TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS
UNTUK BEBERAPA JENIS HEWAN DAN MANUSIA**

| Konversi Spesies | Mencit 20 g | Tikus 200 g | Marmot 400 g | Kelinci 1,5 kg | Kucing 2 kg | Monyet 4 kg | Anjing 12 kg | Manusia 70 kg | Manusia 50 kg |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Mencit 20 g | 1.0 | 7.0 | 12.25 | 27.8 | 29.7 | 64.1 | 124.2 | 387.9 | 277.1 |
| Tikus 200 g | 0.14 | 1.0 | 1.74 | 3.9 | 4.2 | 9.2 | 17.8 | 56.0 | 39.9 |
| Marmot 400 g | 0.08 | 0.57 | 1.0 | 2.25 | 2.4 | 5.2 | 10.2 | 31.5 | 22.5 |
| Kelinci 1,5 kg | 0.04 | 0.25 | 0.44 | 1.0 | 1.08 | 2.4 | 4.5 | 14.2 | 10.1 |
| Kucing 2 kg | 0.03 | 0.23 | 0.41 | 0.92 | 1.0 | 2.2 | 4.1 | 13.0 | 9.3 |
| Monyet 4 kg | 0.016 | 0.11 | 0.19 | 0.42 | 0.45 | 1.0 | 1.9 | 6.1 | 4.4 |
| Anjing 12 kg | 0.008 | 0.06 | 0.10 | 0.22 | 0.24 | 0.52 | 1.0 | 3.1 | 2.2 |
| Manusia 70 kg | 0.0026 | 0.018 | 0.031 | 0.07 | 0.076 | 0.16 | 0.32 | 1.0 | 0.7 |
| Manusia 50 kg | 0.0036 | 0.025 | 0.043 | 0.10 | 0.106 | 0.22 | 0.45 | 1.4 | 1.0 |

Dikutip dari :

Ghosh M.N., 1971. *Fundamentals of Experimental Pharmacology*, Scientific Book agency, Calcuta

Untuk menentukan dosis absolut beberapa spesies yang tercantum dalam baris paling atas, dosis per berat badan absolut beberapa spesies yang dicantumkan pada kolom kiri dikalikan dengan nilai konversi yang terdapat pada potongan baris dan kolom yang sesuai.

Lampiran 2

Hasil analisa data enzim

Descriptives

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|----------------|----|-----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| kadar sgot | 4 | 304.5000 | 205.37040 | 102.68520 | -22.2901 | 831.2901 | 186.00 | 812.00 |
| kcc14 | 4 | 9773.0000 | 157.22171 | 78.61086 | 9522.8252 | 9023.1748 | 8616.00 | 9984.00 |
| p 1 | 4 | 4455.5000 | 328.64317 | 164.32159 | 3932.5554 | 4978.4446 | 4170.00 | 4904.00 |
| p 2 | 4 | 3965.0000 | 199.40244 | 99.70122 | 3537.7082 | 4172.2938 | 3616.00 | 4034.00 |
| p 3 | 4 | 4601.5000 | 473.21982 | 236.60991 | 3848.5017 | 5354.4983 | 3904.00 | 4902.00 |
| p 4 | 4 | 6146.0000 | 721.84394 | 360.92197 | 4997.3952 | 7294.6148 | 5506.00 | 6840.00 |
| p 5 | 4 | 5444.5000 | 1454.74156 | 727.37078 | 3129.6816 | 7759.3184 | 3780.00 | 6882.00 |
| Total | 28 | 4797.1429 | 2481.91518 | 489.03788 | 3834.7586 | 5759.5291 | 196.00 | 9994.00 |
| Model | | | 662.88676 | 125.27382 | 4536.6217 | 5057.6840 | | |
| Fixed Effects | | | | 966.98348 | 2431.0195 | 7183.2662 | | |
| Random Effects | | | | | | | | |
| kadr sgpt | 4 | 82.0000 | 24.97989 | 12.49000 | 22.2813 | 101.7487 | 36.00 | 92.00 |
| kcc14 | 4 | 4192.2500 | 197.64003 | 99.82002 | 3877.7806 | 4508.7394 | 3982.00 | 4392.00 |
| p 1 | 4 | 2224.5000 | 501.24212 | 250.62106 | 1426.9119 | 3022.0881 | 1884.00 | 2970.00 |
| p 2 | 4 | 2006.2500 | 26.85053 | 12.92527 | 1965.1160 | 2047.3840 | 1968.00 | 2025.00 |
| p 3 | 4 | 2997.2500 | 21.21910 | 10.60955 | 2963.4857 | 3031.0143 | 2975.00 | 3020.00 |
| p 4 | 4 | 3220.0000 | 402.53861 | 201.26931 | 2579.4712 | 3860.5288 | 2864.00 | 3596.00 |
| p 5 | 4 | 3107.0000 | 718.00557 | 359.00279 | 1984.4828 | 4248.5071 | 2050.00 | 3652.00 |
| Total | 28 | 2544.1786 | 1275.11223 | 240.97356 | 2049.7417 | 3038.6155 | 36.00 | 4392.00 |
| Model | | | 372.17835 | 70.33510 | 2397.9087 | 2690.4404 | | |
| Fixed Effects | | | | 493.95604 | 1336.6117 | 3752.8454 | | |
| Random Effects | | | | | | | | |
| kadar ggt | 4 | 7.2500 | 2.82986 | 1.31488 | 3.0852 | 11.4348 | 5.00 | 11.00 |
| kcc14 | 4 | 15.0000 | 1.41421 | .70711 | 12.7497 | 17.2503 | 13.00 | 16.00 |
| p 1 | 4 | 10.5000 | .57735 | .28868 | 9.5813 | 11.4187 | 10.00 | 11.00 |
| p 2 | 4 | 8.5000 | 1.29099 | .64550 | 6.4457 | 10.5543 | 7.00 | 10.00 |
| p 3 | 4 | 10.2500 | 1.50000 | .75000 | 7.8632 | 12.6368 | 8.00 | 11.00 |
| p 4 | 4 | 11.2500 | .50000 | .25000 | 10.4544 | 12.0456 | 11.00 | 12.00 |
| p 5 | 4 | 11.5000 | 2.38048 | 1.19024 | 7.7121 | 15.2879 | 9.00 | 14.00 |
| Total | 28 | 10.8071 | 2.73982 | .51778 | 9.5448 | 11.8895 | 5.00 | 16.00 |
| Model | | | 1.85112 | .31203 | 9.9582 | 11.2580 | | |
| Fixed Effects | | | | | | | | |
| Random Effects | | | | | | | | |

| Kruskal-Wallis Test | | | | Test Statistics^{a,b} | | | |
|----------------------------|-----------------|---|-----------|--------------------------------------|------------|-----------|-----------|
| Ranks | | | | | | | |
| | dosis perlakuan | N | Mean Rank | Chi-Square | kadar sgot | kadr sgpt | kadar ggt |
| kadar sgot | k neg | 4 | 2.50 | 22.788 | 6 | 6 | 6 |
| | kcc14 | 4 | 26.50 | | | | |
| | p 1 | 4 | 13.00 | | | | |
| | p 2 | 4 | 7.50 | | | | |
| | p 3 | 4 | 14.50 | | | | |
| | p 4 | 4 | 21.00 | | | | |
| | p 5 | 4 | 16.50 | | | | |
| Total | 28 | | | | | | |
| kadr sgpt | k neg | 4 | 2.50 | 23.452 | 6 | 6 | 6 |
| | kcc14 | 4 | 26.50 | | | | |
| | p 1 | 4 | 9.75 | | | | |
| | p 2 | 4 | 8.00 | | | | |
| | p 3 | 4 | 17.50 | | | | |
| | p 4 | 4 | 18.00 | | | | |
| | p 5 | 4 | 19.25 | | | | |
| Total | 28 | | | | | | |
| kadar ggt | k neg | 4 | 5.88 | 17.731 | 6 | 6 | 6 |
| | kcc14 | 4 | 26.13 | | | | |
| | p 1 | 4 | 13.75 | | | | |
| | p 2 | 4 | 8.75 | | | | |
| | p 3 | 4 | 14.13 | | | | |
| | p 4 | 4 | 18.25 | | | | |
| | p 5 | 4 | 16.63 | | | | |
| Total | 28 | | | | | | |

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: dosis perlakuan

Tests of Normality

| | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------|--------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| kadar sgot | k neg | .417 | 4 | . | .687 | 4 | .008 |
| | k ccl4 | .212 | 4 | . | .961 | 4 | .782 |
| | p 1 | .299 | 4 | . | .826 | 4 | .154 |
| | p 2 | .273 | 4 | . | .896 | 4 | .410 |
| | p 3 | .341 | 4 | . | .763 | 4 | .050 |
| | p 4 | .299 | 4 | . | .787 | 4 | .081 |
| kadr sgot | k neg | .212 | 4 | . | .964 | 4 | .804 |
| | k ccl4 | .251 | 4 | . | .899 | 4 | .425 |
| | p 1 | .405 | 4 | . | .740 | 4 | .031 |
| | p 2 | .397 | 4 | . | .765 | 4 | .053 |
| | p 3 | .234 | 4 | . | .920 | 4 | .537 |
| | p 4 | .301 | 4 | . | .773 | 4 | .062 |
| kadar ggt | k neg | .288 | 4 | . | .887 | 4 | .369 |
| | k ccl4 | .260 | 4 | . | .827 | 4 | .161 |
| | p 1 | .307 | 4 | . | .729 | 4 | .024 |
| | p 2 | .151 | 4 | . | .993 | 4 | .972 |
| | p 3 | .441 | 4 | . | .630 | 4 | .001 |
| | p 4 | .441 | 4 | . | .630 | 4 | .001 |
| | p 5 | .236 | 4 | . | .911 | 4 | .488 |

a. Lilliefors Significance Correction

Correlations

| | | | kadar sgpt | kadar sgot | kadar ggt | kelompok perlakuan |
|----------------|--------------------|-------------------------|------------|------------|-----------|--------------------|
| Spearmen's rho | kadar sgpt | Correlation Coefficient | 1.000 | .859** | .792** | -.014 |
| | | Sig. (2-tailed) | . | .000 | .000 | .948 |
| | | N | 24 | 24 | 24 | 24 |
| | kadar sgot | Correlation Coefficient | .859** | 1.000 | .937** | -.134 |
| | | Sig. (2-tailed) | .000 | . | .000 | .533 |
| | | N | 24 | 24 | 24 | 24 |
| | kadar ggt | Correlation Coefficient | .792** | .937** | 1.000 | -.186 |
| | | Sig. (2-tailed) | .000 | .000 | . | .385 |
| | | N | 24 | 24 | 24 | 24 |
| | kelompok perlakuan | Correlation Coefficient | -.014 | -.134 | -.186 | 1.000 |
| | | Sig. (2-tailed) | .948 | .533 | .385 | . |
| | | N | 24 | 24 | 24 | 24 |

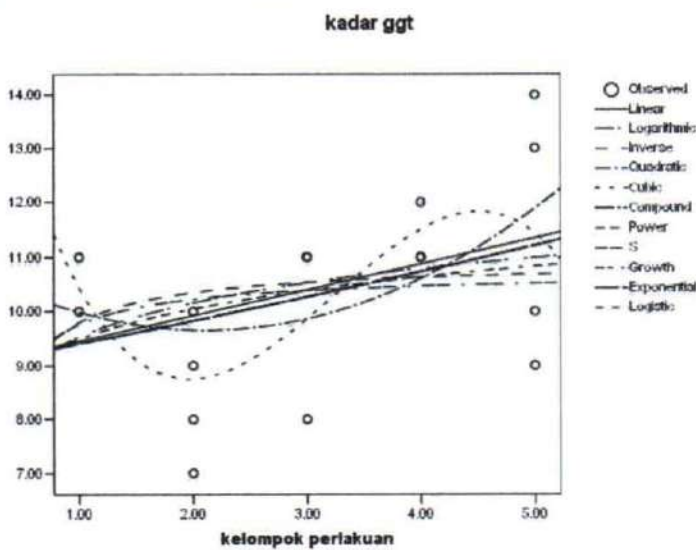
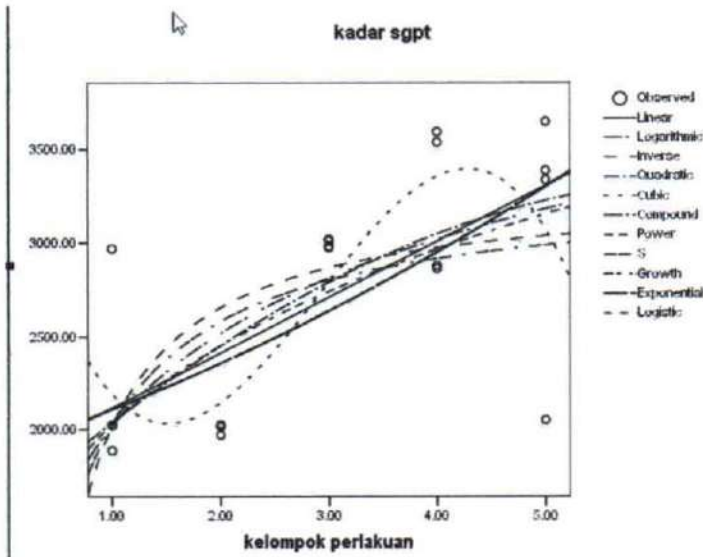
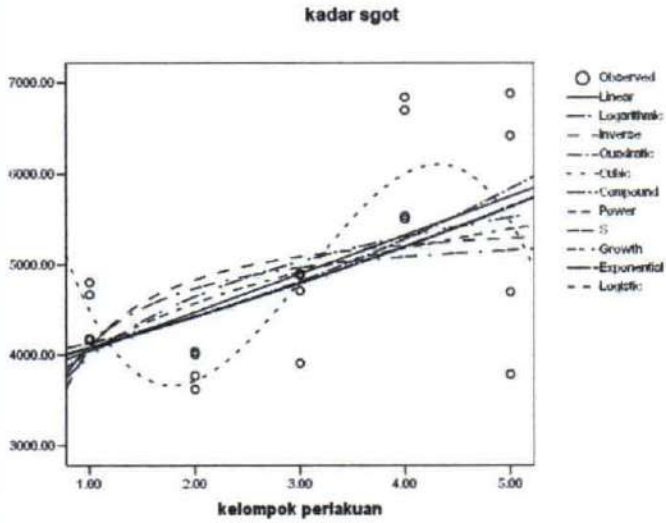
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: kadar sgot

| Equation | Model Summary | | | | | Parameter Estimates | | | |
|-------------|---------------|-------|-----|-----|------|---------------------|-----------|----------|----------|
| | R Square | F | df1 | df2 | Sig. | Constant | b1 | b2 | b3 |
| Linear | .332 | 8.958 | 1 | 18 | .008 | 3619.800 | 426.900 | | |
| Logarithmic | .271 | 6.685 | 1 | 18 | .019 | 3982.414 | 958.839 | | |
| Inverse | .181 | 3.991 | 1 | 18 | .061 | 5602.761 | -1537.797 | | |
| Quadratic | .337 | 4.319 | 2 | 17 | .030 | 3917.800 | 171.471 | 42.571 | |
| Cubic | .572 | 7.136 | 3 | 16 | .003 | 8948.000 | -6894.762 | 2737.321 | -299.417 |
| Compound | .315 | 8.285 | 1 | 18 | .010 | 3761.245 | 1.084 | | |
| Power | .254 | 6.123 | 1 | 18 | .024 | 4033.477 | .181 | | |
| S | .185 | 3.567 | 1 | 18 | .075 | 8.606 | -286 | | |
| Growth | .315 | 8.285 | 1 | 18 | .010 | 8.233 | .081 | | |
| Exponential | .315 | 8.285 | 1 | 18 | .010 | 3761.245 | .061 | | |
| Logistic | .315 | 8.285 | 1 | 18 | .010 | .000 | .922 | | |

The independent variable is kelompok perlakuan.



Lampiran 3
Hasil analisa data histopatologi hepar

Descriptive Statistics

| | N | Mean | Std. Deviation | Minimum | Maximum |
|------------------------|----|---------|----------------|---------|---------|
| sel normal | 28 | 38.9566 | 27.25434 | .00 | 96.04 |
| sel steatosis | 28 | 32.4204 | 19.11033 | .00 | 65.64 |
| sel nekrosis | 28 | 28.6232 | 15.65984 | 3.96 | 58.97 |
| sel steatosis+nekrosis | 28 | 61.0432 | 27.25517 | 3.96 | 100.00 |
| kelompok perlakuan | 28 | 4.0000 | 2.03670 | 1.00 | 7.00 |

Ranks

| | kelompok perlakuan | N | Mean Rank |
|------------------------|--------------------|----|-----------|
| sel normal | k1 | 4 | 26.50 |
| | k2 | 4 | 2.50 |
| | p1 | 4 | 9.00 |
| | p2 | 4 | 21.00 |
| | p3 | 4 | 18.50 |
| | p4 | 4 | 9.25 |
| | p5 | 4 | 14.75 |
| | Total | 28 | |
| sel steatosis | k1 | 4 | 2.50 |
| | k2 | 4 | 18.75 |
| | p1 | 4 | 18.50 |
| | p2 | 4 | 9.00 |
| | p3 | 4 | 9.50 |
| | p4 | 4 | 25.00 |
| | p5 | 4 | 18.25 |
| | Total | 28 | |
| sel nekrosis | k1 | 4 | 2.50 |
| | k2 | 4 | 26.50 |
| | p1 | 4 | 18.50 |
| | p2 | 4 | 15.25 |
| | p3 | 4 | 19.75 |
| | p4 | 4 | 8.50 |
| | p5 | 4 | 10.50 |
| | Total | 28 | |
| sel steatosis+nekrosis | k1 | 4 | 2.50 |
| | k2 | 4 | 26.50 |
| | p1 | 4 | 20.00 |
| | p2 | 4 | 8.00 |
| | p3 | 4 | 10.50 |
| | p4 | 4 | 19.75 |
| | p5 | 4 | 14.25 |
| | Total | 28 | |

Test Statistics(a,b)

| | sel normal | sel steatosis | sel nekrosis | sel steatosis+nekrosis |
|-------------|------------|---------------|--------------|------------------------|
| Chi-Square | 23.889 | 21.198 | 22.707 | 23.889 |
| df | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Asymp. Sig. | .001 | .002 | .001 | .001 |

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: kelompok perlakuan

Correlations

| | | | sel normal | sel steatosis | sel nekrosis | sel steatosis+nekrosis | kelompok perlakuan |
|--------------------|------------------------|-------------------------|------------|---------------|--------------|------------------------|--------------------|
| Spearman's rho | sel normal | Correlation Coefficient | 1.000 | -.795(**) | -.587(**) | -1.000(**) | -.108 |
| | | Sig. (2-tailed) | . | .000 | .001 | .000 | .583 |
| | | N | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 |
| | sel steatosis | Correlation Coefficient | -.795(**) | 1.000 | .108 | .795(**) | .449(*) |
| | | Sig. (2-tailed) | .000 | . | .584 | .000 | .016 |
| | | N | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 |
| | sel nekrosis | Correlation Coefficient | -.587(**) | .108 | 1.000 | .587(**) | -.095 |
| | | Sig. (2-tailed) | .001 | .584 | . | .001 | .630 |
| | | N | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 |
| | sel steatosis+nekrosis | Correlation Coefficient | 1.000(**) | .795(**) | .587(**) | 1.000 | .108 |
| | | Sig. (2-tailed) | .000 | .000 | .001 | . | .583 |
| | | N | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 |
| kelompok perlakuan | | Correlation Coefficient | -.108 | .449(*) | -.095 | .108 | 1.000 |
| | | Sig. (2-tailed) | .583 | .016 | .630 | .583 | . |
| | | N | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 |

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

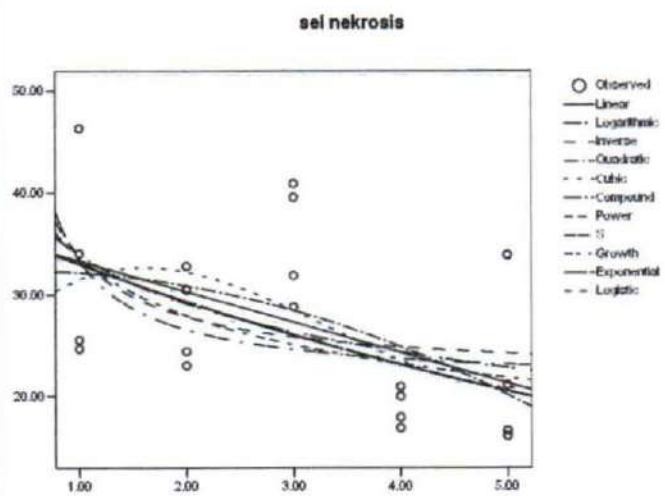
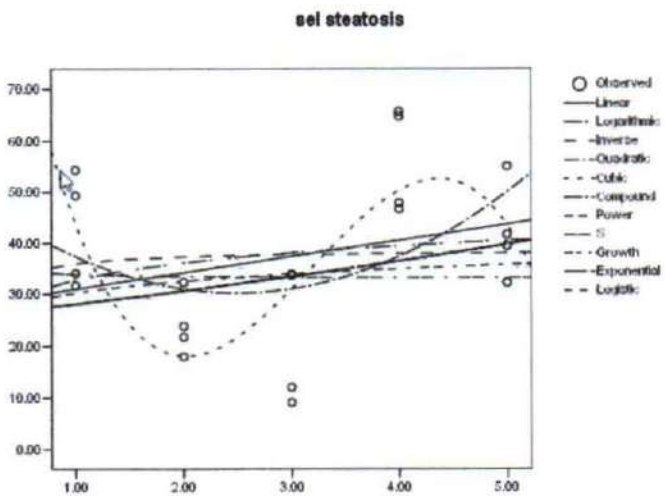
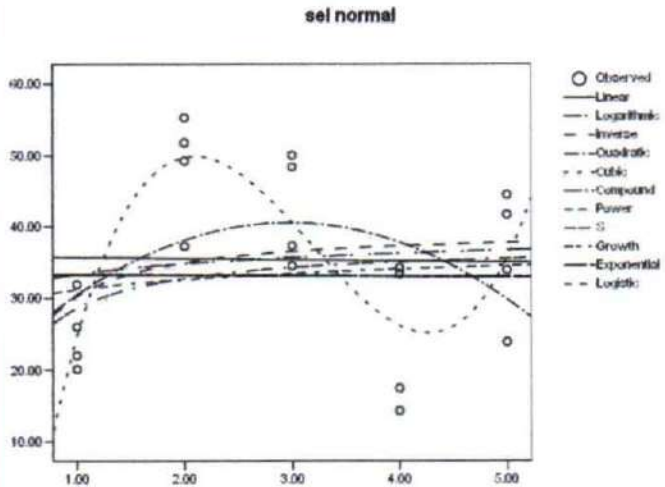
* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

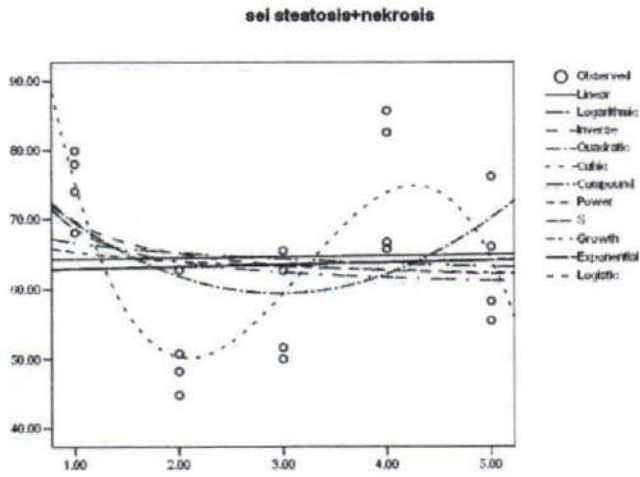
Model Summary and Parameter Estimates

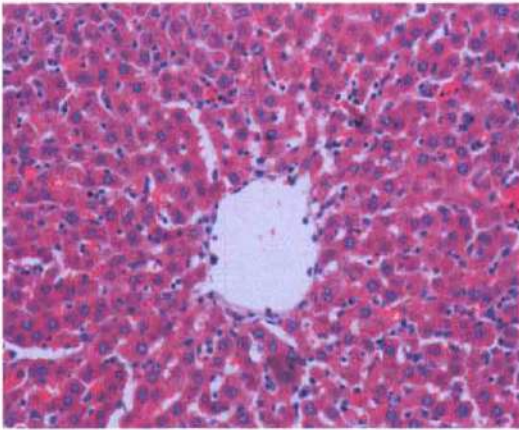
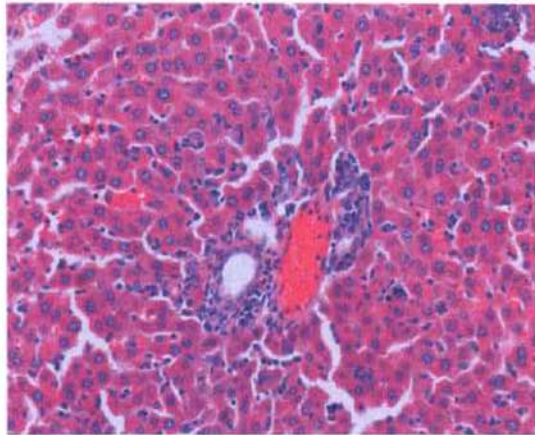
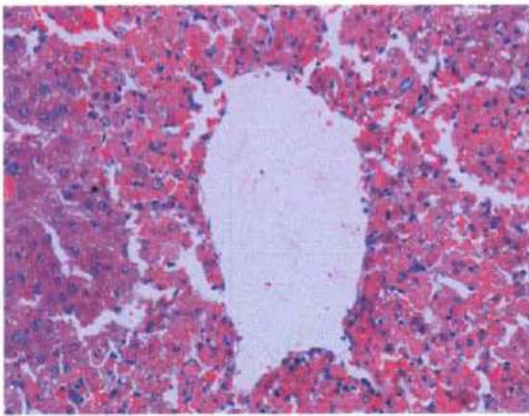
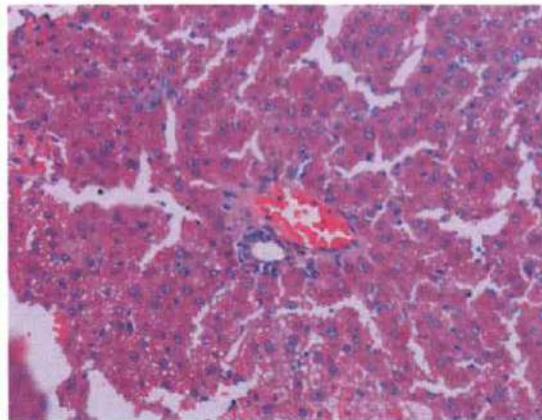
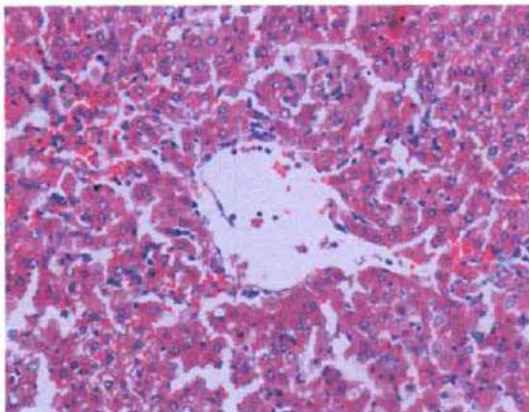
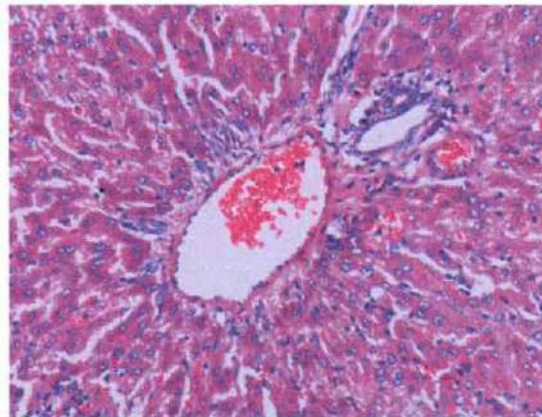
Dependent Variable: sel normal

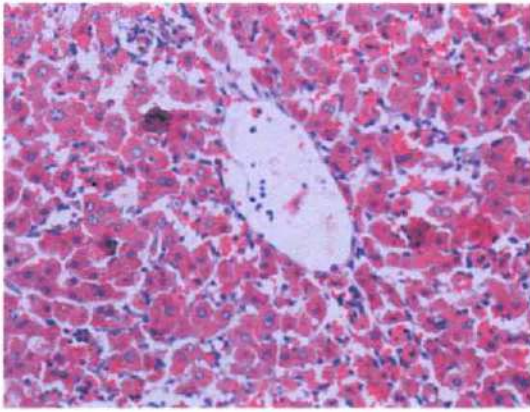
| Equation | Model Summary | | | | | Parameter Estimates | | | |
|-------------|---------------|-------|-----|-----|------|---------------------|---------|---------|-------|
| | R Square | F | df1 | df2 | Sig. | Constant | b1 | b2 | b3 |
| Linear | .000 | .007 | 1 | 18 | .934 | 35.838 | -.166 | | |
| Logarithmic | .010 | .181 | 1 | 18 | .675 | 33.355 | 2.073 | | |
| Inverse | .052 | .994 | 1 | 18 | .332 | 39.589 | -9.306 | | |
| Quadratic | .135 | 1.331 | 2 | 17 | .290 | 17.694 | 15.385 | -2.592 | |
| Cubic | .620 | 8.686 | 3 | 16 | .001 | -63.617 | 129.608 | -46.152 | 4.840 |
| Compound | .000 | .002 | 1 | 18 | .966 | 33.405 | .997 | | |
| Power | .009 | .163 | 1 | 18 | .691 | 31.214 | .062 | | |
| S | .044 | .826 | 1 | 18 | .375 | 3.624 | -.270 | | |
| Growth | .000 | .002 | 1 | 18 | .966 | 3.509 | -.003 | | |
| Exponential | .000 | .002 | 1 | 18 | .966 | 33.405 | -.003 | | |
| Logistic | .000 | .002 | 1 | 18 | .966 | .030 | 1.003 | | |

The independent variable is VAR00001.

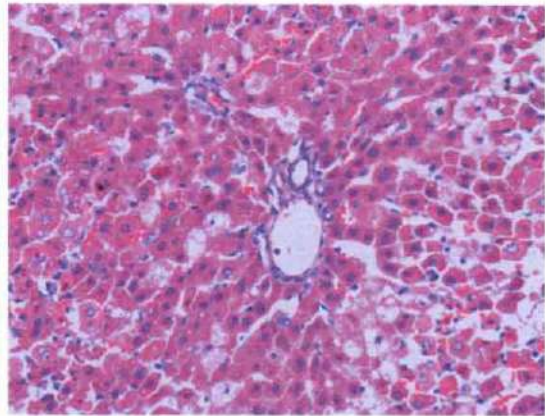




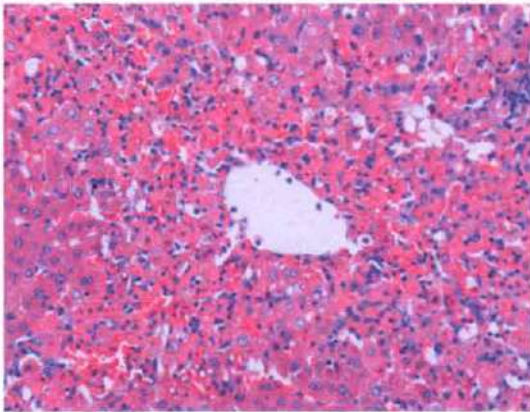
Lampiran 4**Foto sediaan histopatologi hepar****Vena sentralis K1****Segitiga porta K1****Vena sentralis K2****Segitiga porta K2****Vena sentralis P 1****Segitiga porta P 1**



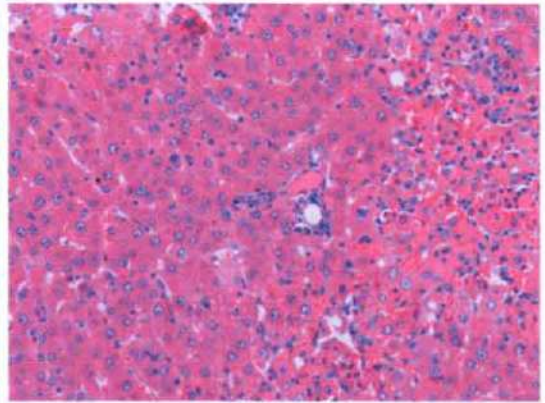
Vena sentralis P 2



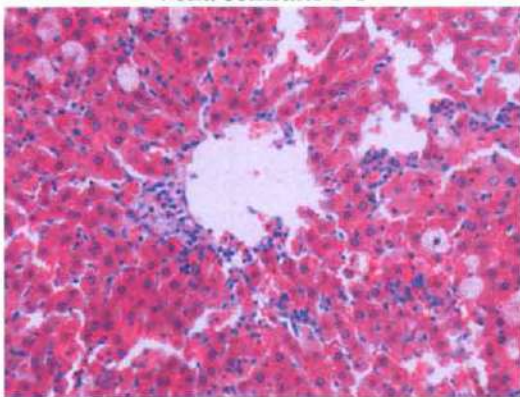
Segitiga porta P 2



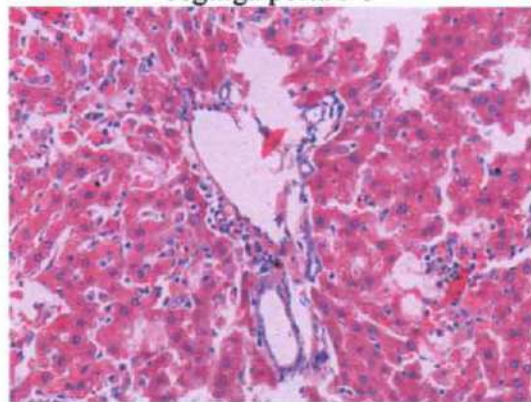
Vena sentralis P 3



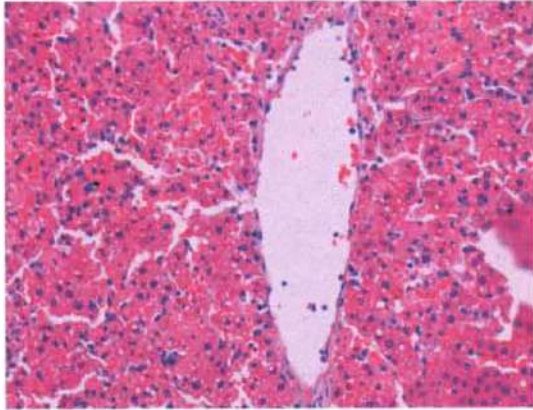
Segitiga porta P 3



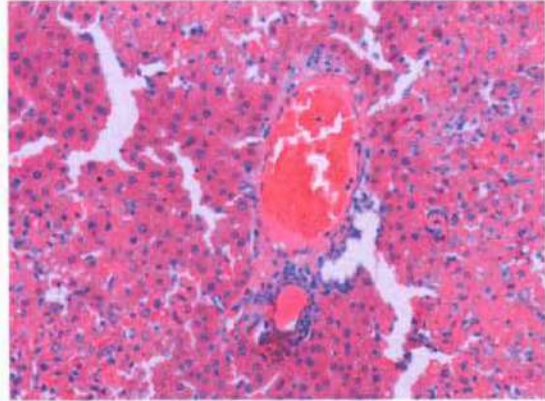
Vena sentralis P 4



Segitiga porta P 4



Vena sentralis P 5



Segitiga porta P 5

Lampiran 5

Foto Teripang pasir (*Holothuria scabra*)

