

**SKRIPSI**

**KADAR SGPT DAN SGOT TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) SETELAH DISUNTIK DOSIS TUNGGAL  
FORMULA VAKSIN HEPATITIS B**



**Oleh :**

**BALQIS AFIFAH  
NIM 061411131032**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2018**

**KADAR SGPT DAN SGOT TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*)  
SETELAH DISUNTIK DOSIS TUNGGAL  
FORMULA VAKSIN HEPATITIS B**

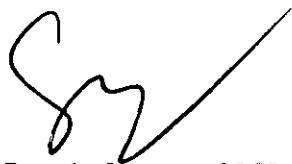
Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan  
pada  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

**BALQIS AFIFAH**  
NIM 061411131032


Menyetujui

Komisi Pembimbing,



**(Dr. Kuncoro Puguh Santoso, M.Kes., drh)**

Pembimbing Utama



**(Sri Mumpuni Sosiawati, M.Kes., drh)**

Pembimbing Serta

## PERNYATAAN

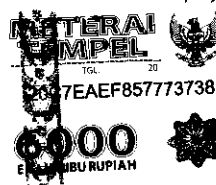
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**Kadar SGPT dan SGOT Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Setelah Disuntik**

**Dosis Tunggal Formula Vaksin Hepatitis B**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 10 Januari 2018



Balqis Afifah

NIM 061411131032

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal :17 Januari 2018

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

**Ketua** : Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S

**Sekretaris** : Dr. Jola Rahmahani, drh., M.Kes

**Anggota** : Retno Sri Wahjuni, drh., M.S

**Pembimbing Utama** : Dr. Kuncoro Puguh, drh., M.Kes

**Pembimbing Serta** : Sri Mumpuni Sosiawati, drh., M.Kes

Telah diuji pada

Tanggal : 24 Januari 2018

#### KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S

Anggota : Dr. Jola Rahmahani, drh., M.Kes

Retno Sri Wahjuni, drh., M.S

Dr. Kuncoro Puguh, drh., M.Kes

Sri Mumpuni Sosiawati, drh., M.Kes

Surabaya, 24 Januari 2018

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga



Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes

NIP : 195601051986011001

**THE CONTENT OF SGPT AND SGOT LEVEL ON MALE RAT (*Rattus norvegicus*) AFTER HAVING INJECTED BY SINGULAR DOSSAGE OF HEPATITIS B VACCINE'S FORMULA**

Balqis Afifah

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine the impact of giving hepatitis B virus vaccine against the overview of SGPT and SGOT of male rats. This study used 20 male rats as a laboratory animals were divided into four treatment groups, control group namely K that given 0.4 ml phosphate buffered saline, treatment one namely P1 which was given 0.4 ml hepatitis B virus vaccine formula type 1, treatment two namely P2 which was given 0.4 ml hepatitis B virus vaccine formula type 2 and treatment three namely P3 which was given 0.4 ml hepatitis B virus vaccine formula type 3. Examination of SGPT and SGOT with optimized UV test method, analysis of the data used Analysis of Variance. The result of the examination shows that no significant changes in every treatment. In conclusion, there is no changing of SGPT and SGOT's male rat (*Rattus norvegicus*) by giving hepatitis B virus vaccine formula .

**Keywords:** vaccines, hepatitis B virus, SGPT, SGOT.

Senior-senior yaitu drh. Ulvie, drh. Ire, drh. Lia, drh. Arif, drh. Panjat, drh. Ari atas wawasan keilmuan selama mengikuti masa penelitian dan atas segala bimbingan, kritik, saran serta ilmu yang diberikan kepada penulis.

Rekan Penelitian Ratna Fatmalasari, Kartika Buana, Nur Shabrina, Maura Deva, Fariz Rozianwar, Mijar, Mas Adi, Pipin, Shendy, Siti, Alut, Eka, Dinda, Indahsari, dan Dhea yang selalu memberikan semangat dan tempat bertukar pikiran selama penyelesaian penelitian.

Sahabat yang selalu mendukung khususnya Aqidiah Metri Mahadini, Maulinda Agchirilia Vladika, Maulidya Wardhani, dan Amara Lintang Pagati, kak Anayushinta, keluarga besar The Welling yang telah menemani dari awal masa SMA serta lainnya yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi semua pihak yang berkepentingan.

Terimakasih.

Surabaya, 10 Januari 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUL DEPAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
HALAMAN IDENTITAS.....	iv
ABSTRACT.....	vi
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiiiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG.....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Landasan Teori .....	5
1.4 Tujuan Penelitian .....	7
1.5 Manfaat Penelitian .....	8
1.6 Hipotesis Penelitian .....	8
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>9</b>
2.1 Virus Hepatitis B.....	9
2.1.1 Tinjauan tentang Virus Hepatitis B.....	9
2.1.2 Karakteristik Virus Hepatitis B.....	10
2.1.3 Penularan Virus Hepatitis B.....	11



2.1.4 Patogenesis Virus Hepatitis B.....	12
2.1.5 Gejala Klinis Virus Hepatitis B.....	15
2.1.6 Pengendalian dan Pencegahan Virus Hepatitis B.....	16
2.2 Vaksin.....	18
2.2.1 Pengertian tentang vaksin.....	18
2.2.2 Vaksin Hepatitis B.....	19
2.3 Uji Toksisitas Vaksin.....	22
2.4 Hepar.....	24
2.4.1 Tinjauan tentang hepar.....	24
2.5 Enzim Transaminase.....	25
2.5.1 SGPT.....	26
2.5.2 SGOT.....	27
2.6 Hewan Coba.....	30
2.7 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	33
2.7.1 Tikus sebagai hewan coba.....	33
2.7.2 Klasifikasi Tikus Putih.....	35
<b>BAB 3 MATERI DAN METODE.....</b>	<b>36</b>
3.1 Rancangan Penelitian.....	36
3.2 Besar Sampel.....	36
3.3 Variabel Penelitian.....	37
3.3.1 Variabel Bebas.....	37
3.3.2 Variabel Tergantung.....	37
3.3.3 Variabel Kendali.....	37
3.4 Definisi Operasional Variabel.....	37
3.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	38

3.6 Bahan dan Materi Penelitian.....	38
3.6.1 Bahan Penelitian.....	38
3.6.2 Alat Penelitian.....	39
3.6.3.Hewan Percobaan.....	39
3.7 Prosedur Penelitian.....	39
3.7.1 Adaptasi Hewan Coba.....	39
3.7.2 Perlakuan Penyuntikan Formula Vaksin Hepatitis B....	40
3.7.3 Pengambilan Sample Darah.....	40
3.7.4 Pemeriksaan Kadar SGPT.....	41
3.7.5 Pemeriksaan Kadar SGOT.....	41
3.8 Analisis Data.....	42
3.9 Diagram Alir Penelitian.....	43
<b>BAB 4 HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>44</b>
4.1 Pengelompokan Hewan Coba.....	44
4.2 Hasil Pemeriksaan dan analisis data SGPT.....	44
4.3 Hasil Pemeriksaan dan analisis data SGOT.....	45
<b>BAB 5 PEMBAHASAN.....</b>	<b>47</b>
5.1 Pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin hepatitis B terhadap kadar SGPT tikus jantan ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	49
5.2 Pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin hepatitis B terhadap kadar SGPT tikus jantan ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	49
5.3 Patogenesis Virus Hepatitis B.....	50
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>52</b>

6.1 Kesimpulan.....	52
6.2 Saran.....	52
RINGKASAN.....	53
DAFTAR PUSTAKA .....	55
LAMPIRAN.....	60

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.2.1 Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) kadar SGPT (IU/L).....	45
4.3.1 Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) kadar SGOT(IU/L).....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pemeriksaan kadar SGPT.....	60
2. Pemeriksaan kadar SGOT.....	62
3. Tabel Hasil Pemeriksaan SGPT Tikus Jantan.....	64
4. Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) kadar SGPT (IU/L).....	66
5. Hasil analisis data ( <i>Analysis Of Variance</i> ) Variabel SGPT.....	67
6. Tabel Hasil Pemeriksaan SGOT Tikus Jantan.....	69
7. Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) kadar SGOT (IU/L).....	71
8. Hasil analisis data ( <i>Analysis Of Variance</i> ) Variabe lSGOT.....	72

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

ALT	=	Alanin Aminotransferase
ANOVA	=	Analysis of Variance
Anti-HBs	=	Antibodi Hepatitis B surface
Anti-HBC	=	Antibodi Hepatitis B core
AST	=	Aspartate Aminotransferase
BPOM	=	Badan Pengawas Obat dan Makanan
cccDNA	=	covalently closed circle DNA
CDC	=	Centre of Disease Control and Prevention
DNA	=	DeoxyriboseNucleid Acid
HbeAg	=	Hepatitis B envelope Antigen
HbcAg	=	Hepatitis B core Antigen
HbsAg	=	Hepatitis B surface Antigen
HBIG	=	Hepatitis B Immunoglobulin
IFA	=	Incompleted Frednd Adjuvant
IgG	=	Immunoglobulin G
IgM	=	Immunoglobulin M
IM	=	Intra Musculus
LHBs	=	Large HBs
Mg/kgBB	=	milligram per kilogram berat badan
Mg/ml	=	milligram per milliliter
MHBs	=	Medium HBs
MHC	=	Major Histocompatibility Complex
mRNA	=	messenger RNA
ORF	=	Open Reading Frame
PBS	=	Phospat Buffered Saline
PPHI	=	Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia
RAL	=	Rancangan Acak Lengkap
RNA	=	Ribonucleic Acid
SGOT	=	Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase
SGPT	=	Serum Glutamic Pyruvic Transaminase
SHBs	=	Small HBs
SPF	=	Spesific Patogen Free
SPSS	=	Statistical Program of Social Science
TCDB+	=	Sel T Sitotoksik
IU/L	=	International Unit per Liter
VHB	=	Virus Hepatitis B
WHO	=	World Health Organization

**BAB 1**  
**PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hepatitis B adalah penyakit yang disebabkan oleh Virus Hepatitis B (VHB) yang dapat menyebabkan peradangan hati akut dan sebagian kecil kasus dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati (Mustofa dan Kurniawaty, 2013). Penyakit hepatitis B merupakan problem kesehatan masyarakat di seluruh dunia. Diperkirakan ada 350 juta *carrier* (pengidap) di dunia (Astuti dan Kusumawati, 2014).

Hepatitis B dapat menunjukkan gejala penyakit akut yang berlangsung beberapa minggu, seperti kulit dan mata ikterik (*jaundice*), urin berwarna lebih gelap, kelelahan yang ekstrem, mual, muntah, dan sakit perut (WHO, 2017). Hati merupakan organ yang paling besar dan mempunyai fungsi yang sangat banyak dan penting, antara lain sintesis protein plasma, katabolisme, menyimpan karbohidrat, detoksifikasi dan ekskresi berbagai bahan-bahan toksik atau obat. Karena peran penting tersebut hepar mudah mengalami kerusakan akibat penyakit infeksi, metabolik atau toksik (Triakoso, 2016).

*World Health Organization* (2017) memperkirakan lebih 2 milyar penduduk dunia telah terinfeksi virus hepatitis B, dimana 378 juta atau 4,8% terinfeksi yang bersifat *carier* kronis dengan angka kematian 620.000 jiwa setiap tahun. Lebih dari 4,5 juta kasus infeksi baru virus hepatitis B terjadi setiap tahun,



dan  $\frac{1}{4}$  dari kejadian kasus tersebut berkembang menjadi penyakit hati *sirosis hepatis* dan *arsinoma hepatoseluler primer*. Menurut *World Health Organization* pada tahun 2017 Hepatitis B merupakan bahaya kerja yang penting bagi petugas kesehatan, untuk menanggulangi masalah tersebut maka vaksinasi Hepatitis B dapat menjadi jalan keluar. Vaksin ini efektif dalam mencegah infeksi, mencegah perkembangan penyakit kronis dan kanker hati karena Hepatitis B. Pemerintah Indonesia saat ini telah menerapkan vaksinasi Hepatitis B untuk balita ke dalam Program Pengembangan Imunisasi. Vaksinasi Hepatitis B yang selama ini dilakukan mampu menurunkan angka kesakitan, namun keberhasilan vaksinasi terancam oleh adanya *escape mutant* atau virus mutasi yang lolos. Oleh karena itu, perlu desain vaksin Hepatitis B yang tepat dan optimum untuk Indonesia (Siswono, 2001).

Profesi dokter hewan termasuk ke dalam golongan *general practitioner*. Artinya, tugas seorang dokter hewan mempunyai peran yang penting disemua aspek khususnya bagi kesehatan dalam usaha pencegahan dan pengendalian penyakit. Keberhasilan pencegahan dan pengendalian penyakit dengan menggunakan vaksin yang sesuai serta ketepatan dan kecermatan dalam penentuan agen untuk produksi vaksin memerlukan pemahaman ilmu Vaksinologi yang mendalam. Kemajuan teknologi vaksin memerlukan sumber daya manusia yang berkualitas, untuk itu diperlukan profesi dokter hewan.

Mengacu kepada peraturan dan standarisasi dari WHO tahun 2003 bahwa vaksin termasuk dari jenis obat, sehingga vaksin harus melewati uji toksisitas. Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat

pada sistem biologis, sehingga data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberikan informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model, untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014). Uji toksisitas dimulai dari uji pra-klinis dan dilanjutkan dengan uji-klinis, setelah uji pra-klinis diputuskan memenuhi standart.

Model hewan coba yang sering digunakan untuk pengujian tersebut harus dipertimbangkan dengan jenis sensitivitas, cara metabolisme sediaan yang serupa dengan manusia, kecepatan pertumbuhan dan mudah tidaknya penanganan saat perlakuan. Hewan pengerat seperti tikus merupakan jenis hewan yang memenuhi persyaratan. Tikus merupakan spesies ideal untuk pengujian karena tikus lebih mudah dipegang, dikendalikan atau dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif besar. Organ-organ tubuh tikus pun relatif besar sehingga materi dapat diberikan dengan mudah melalui berbagai rute (Kusumawati, 2014).

Uji pra-klinis merupakan uji yang pertama kali dilakukan pada hewan coba dengan berbagai parameter yaitu efek toksik dan derajat toksisitas, yang meliputi perubahan berat badan, gejala klinis, parameter hematologi, biokimia klinis, makropatologi, histopatologi, kematian dan efek umum lain atau efek yang spesifik (BPOM, 2014). Pemeriksaan kimia darah merupakan salah satu tolak

ukur uji pra-klinis yaitu meliputi fungsi fisiologis, diantaranya adalah pemeriksaan kadar enzim SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) yaitu suatu enzim yang terdapat didalam hati. Pada pemeriksaan kimia darah di laboratorium, akan terlihat kadar aktivitas enzim SGPT dan SGOT pada serum meningkat ketika sel di dalam hati mengalami kerusakan. Pengukuran konsentrasi enzim didalam darah dengan uji SGPT dan SGOT dapat memberikan informasi penting mengenai tingkat gangguan fungsi hati ( Ulfiatul, 2013).

Profesi Dokter Hewan mempunyai tanggung jawab untuk mengatasi pencegahan dan pengendalian penyakit, maka dari itu Dokter Hewan harus memastikan bahwa obat-obatan yang diberikan kepada manusia harus *zero risk* sebelum digunakan kepada manusia. Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin meneliti bahwa formula vaksin Hepatitis B dari suatu pabrik obat di Indonesia sudah aman untuk digunakan ke manusia, yang bisa dilihat dari perubahan kadar enzim SGPT dan SGOT tikus jantan setelah disuntik dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B dalam uji pra klinis yaitu uji toksisitas.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ada pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B terhadap kadar enzim SGPT pada tikus jantan ?
2. Apakah ada pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B terhadap kadar enzim SGOT pada tikus jantan ?

### 1.3 Landasan Teori

Hepatitis B adalah penyakit hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis B , suatu anggota *hepadnavirus* yang dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati (Hutari, 2014). Virus Hepatitis B dapat hidup di luar tubuh dan dapat dengan mudah ditularkan melalui darah, saliva, sekret nasofaring, semen, sekret vagina dan darah menstruasi, air susu ibu, tinja, sekresi usus dan urine penderita yang terinfeksi (*U.S. Departement of Health and Human Service, 2016*).

Perjalanan klinis hepatitis B akut dibagi menjadi empat tahap yaitu fase inkubasi, fase pra-ikterik, fase ikterik, dan fase penyembuhan. Fase inkubasi adalah masa antara penularan infeksi dengan waktu terjadinya gejala yang lamanya berkisar rata-rata 75 hari. Lamanya masa inkubasi tergantung dari besar kecilnya inokulum yang infeksi. Fase kedua yaitu fase pra-ikterik yaitu fase antara timbulnya gejala pertama dengan timbulnya ikhterus. Keluhan awal adalah lemas, anoreksia, mual, muntah, panas dan rasa tidak enak daerah perut kanan atas. Pada akhir masa inkubasi, beberapa individu mengalami gejala hipersensitivitas berupa ruam kulit dan vaskulitis. Fase yang ketiga adalah fase ikterik yaitu fase yang terjadi antara 1 – 3 minggu tetapi dapat terjadi beberapa hari atau bahkan sampai 6 bulan. Fase ikhterik berakhir antara 2-6 minggu. Ketika gejala ikhterik tampak, maka demam dan malaise akan menghilang. Bila ikhterus berlangsung hebat maka akan terjadi hepatitis fulminan yang dapat menyebabkan kematian. Dan yang terakhir adalah fase penyembuhan, yaitu fase

semua penyakit. Kadar yang tertinggi ditemukannya enzim tersebut berhubungan dengan keadaan yang menyebabkan nekrosis hati yang sangat luas seperti hepatitis virus berat, cedera hati akibat toksin atau kolaps sirkulasi yang berkepanjangan. Peningkatan yang lebih rendah ditemukan pada hepatitis akut ringan demikian pula pada penyakit hati kronik difus maupun lokal (Podolsky dan Isselbacher, 2002). Ketika sel hati mengalami kerusakan enzim tersebut berada dalam darah sehingga dapat diukur peningkatan aktivitasnya, hal ini disebabkan karena kerusakan pada struktur dan fungsi sel membran hati. Adanya peningkatan aktivitas enzim SGOT dan SGPT menjadi indikator yang kuat dan peka terhadap kelainan pada sel-sel hepar karena kedua enzim ini akan keluar dari sel hati apabila sel hati mengalami kerusakan sehingga dengan sendirinya akan menyebabkan peningkatan kadarnya dalam serum darah (Gajawat *et al.*, 2016).

Pemeriksaan fisiologis hati berguna untuk melihat efek patologi yang ditimbulkan pada kadar enzim SGPT dan SGOT akibat pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B.

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B terhadap kadar enzim SGPT pada tikus jantan.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B terhadap kadar enzim SGOT pada tikus jantan.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

1. Dengan diadakan penelitian ini, bisa menjadi acuan pemberian formula vaksin Hepatitis B yang baik dan benar yang *zero risk* dan dapat dilanjutkan ke uji klinis dan diterapkan pada manusia.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan dan diaplikasikan khususnya pada vaksin Hepatitis B di Indonesia.

### **1.6 Hipotesis Penelitian**

1. Tidak adanya pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B terhadap kadar enzim SGPT pada tikus jantan.
2. Tidak adanya pengaruh pemberian dosis tunggal formula vaksin Hepatitis B terhadap kadar enzim SGOT pada tikus jantan.

**BAB 2**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

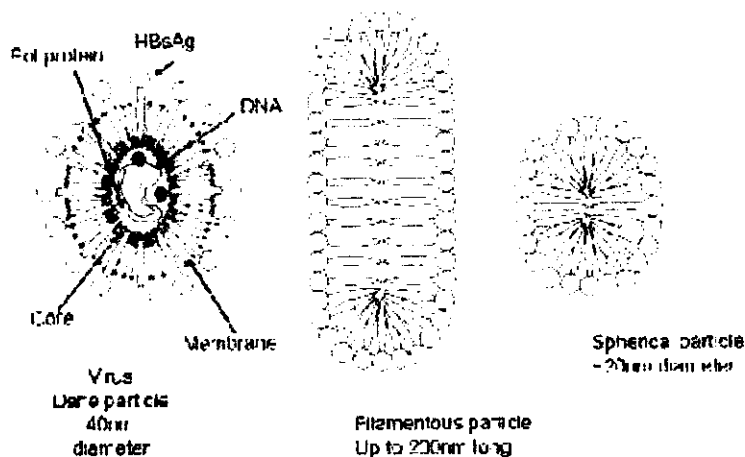
## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Virus Hepatitis B

#### 2.1.1 Tinjauan tentang Virus Hepatitis B

Hepatitis B adalah suatu penyakit hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis B, suatu anggota famili *hepadnavirus* yang dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis dan dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati (Mustofa dan Kurniawaty, 2013). Infeksi virus Hepatitis B (VHB) endemis di daerah Timur, sebagian besar di kepulauan Pasifik, Afrika, Timur Tengah, dan di lembah Amazon. *Centre for Disease Control and Prevention* (2010) memperkirakan bahwa sejumlah 200.000 hingga 300.000 orang terinfeksi VHB setiap tahunnya. Hanya 25% dari mereka yang mengalami ikhterus, 10.000 kasus memerlukan perawatan di Rumah Sakit, dan sekitar 1-2% meninggal karena penyakit fulminan (Price dan Wilson, 2012). Prevalensi pengidap VHB tertinggi ada di Afrika dan Asia. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Rikesdas) tahun 2007 menunjukkan bahwa hepatitis terdeteksi di seluruh provinsi di Indonesia dengan prevalensi sebesar 0,6%. Hasil Riskesdas Biomedis tahun 2007 dengan jumlah sampel 10.391 orang, menunjukkan bahwa persentase HbsAg positif 9,4%. Persentase Hepatitis B tertinggi pada kelompok umur 45-49 tahun (11,92%), umur lebih dari 60 tahun (10,57%) dan umur 10-14 tahun (10,02%). Hal ini menunjukkan bahwa 1 dari 10 penduduk di Indonesia telah terinfeksi virus Hepatitis B (Kemenkes, 2014).





Gambar 2.1.2 Struktur virus Hepatitis B ( Hunt, 2011).

### 2.1.3 Penularan Virus Hepatitis B

Di daerah yang sangat endemik, hepatitis B paling umum menyebar dari ibu ke anak saat lahir (transmisi perinatal/vertikal), atau melalui transmisi horizontal (terpapar darah yang terinfeksi). Penularan dari ibu ke anak merupakan mekanisme infeksi yang paling penting di negara-negara dengan prevalensi VHB tinggi. VHB dapat terjadi melalui tiga mekanisme: transmisi intrauterine, transmisi selama proses persalinan, dan transmisi pasca persalinan (Gentile dan Borgia, 2014). Penularan intrauterine hanya menyumbang sebagian kecil kasus penularan VHB (Piratvisuth, 2013). Penularan VHB selama persalinan merupakan metode transmisi vertikal yang paling sering. Hal ini terutama disebabkan oleh kontak dengan sekresi atau darah yang terinfeksi dari seorang ibu pada saat persalinan (Piratvisuth, 2013). Proporsi bayi yang terinfeksi setelah kelahiran karena kontak dengan ibu setinggi 34% (Degli dan Shah, 2011). Namun,

menyusui bukanlah faktor risiko untuk terjadinya penularan VHB (Piratvisuth, 2013).

Penularan secara horizontal infeksi hepatitis B dapat terjadi melalui darah, air mani, atau cairan tubuh lainnya yang terinfeksi virus hepatitis B dan masuk ke tubuh seseorang yang tidak terinfeksi (CDC, 2011). Penularan hepatitis B secara seksual dapat terjadi, terutama pada pria yang tidak divaksinasi yang berhubungan seks dengan sesama jenis dan orang heteroseksual dengan banyak pasangan atau kontak dengan pekerja seks. Penularan virus juga dapat terjadi melalui penggunaan kembali jarum suntik. Selain itu, infeksi dapat terjadi selama prosedur medis, melalui tato, atau melalui penggunaan alat cukur dan benda serupa yang terkontaminasi dengan darah yang terinfeksi. Infeksi pada usia dewasa menyebabkan hepatitis kronis kurang dari 5% kasus (WHO, 2014). Virus hepatitis B tidak dapat disebarkan dengan berpegangan tangan, berbagi peralatan dengan berpegangan tangan, berbagi peralatan makan, berciuman, memeluk, batuk, bersin, atau menyusui (CDC, 2011).

#### **2.1.4 Patogenesis Hepatitis B**

Masa inkubasi virus hepatitis B rata-rata 75 hari, namun dapat bervariasi dari 30 sampai 180 hari (WHO, 2014). Variasi tersebut tergantung pada jumlah virus yang menginfeksi, cara penularan, dan faktor host (WHO, 2002 dalam Citraningputri, 2016). Patogenesis penyakit hepatitis B terjadi saat dimulainya replikasi virus di dalam tubuh inang. Replikasi virus sebagian besar terjadi di dalam sel hati. Proses replikasi virus secara umum terbagi ke dalam

beberapatahap, yaitu perlekatan (*attachment*), penetrasi, *uncoating*, ekspresi gen, replikasi genom, perakitan (*assembling*), dan pelepasan (*release*) (Citraningputri, 2016).

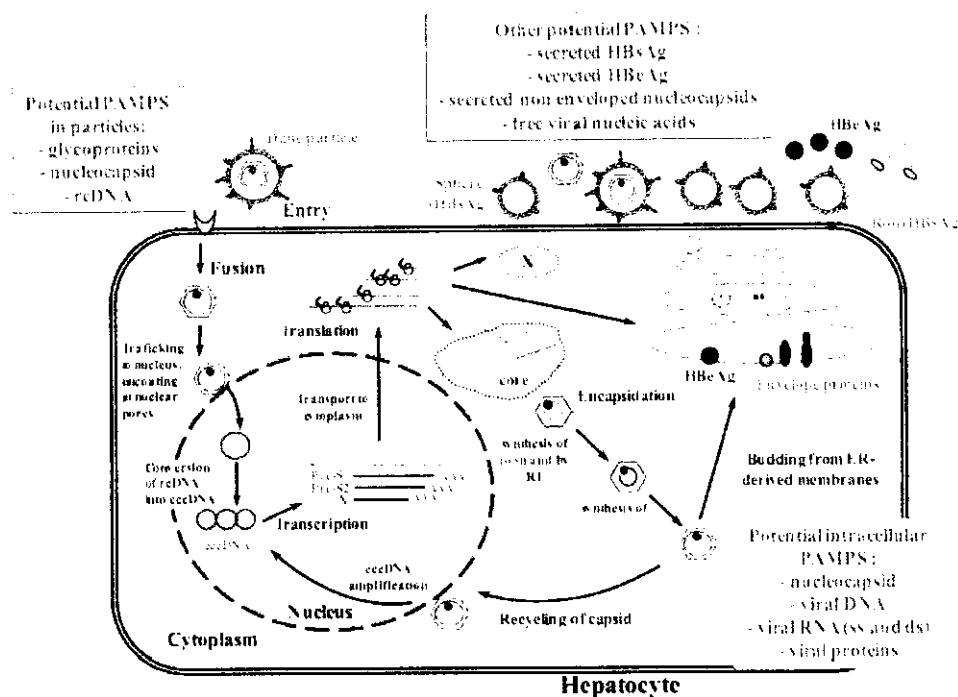
Mekanisme replikasi VHB pada manusia, dimulai dengan perlekatan protein permukaan virion pada reseptor spesifik di membran sel hati inang yang dapat terjadi melalui beberapa cara. Pertama, melalui reseptor spesifik pada permukaan hepatosit yang mengenali dan mengikat daerah pre-S1 LHBs. Cara kedua, melalui reseptor p-HSA (*polymerized human serum albumin*) yang terdapat pada daerah gen pre-S2 (Tedja, 2002). Setelah terjadi fusi membran, partikel *core* kemudian ditransfer ke dalam sitoplasma dan selanjutnya dilepaskan ke dalam nukleus (*genom release*), selanjutnya DNA VHB yang masuk ke dalam nukleus mula-mula berupa untai DNA yang tidak sama panjang, kemudian akan terjadi proses DNA repair yaitu pemanjangan rantai DNA yang pendek sehingga menjadi dua untai DNA yang sama panjang atau *covalently closed circle DNA* (cccDNA) (Hardjoeno, 2007 dalam Citraningputri, 2016).

*Covalently closed circle DNA* (cccDNA) merupakan *template* untuk propagasi RNA pre-genom selanjutnya (tahap transkripsi). RNA pre-genom mempunyai fungsi penting sebagai cetakan pada saat translasi protein *core* dan *polymerase* virus, dan sebagai cetakan untuk sintesis DNA untai negatif melalui proses transkripsi balik yang terjadi di dalam nukleus. Setelah untai negatif di bentuk, maka untai positif akan dibentuk dari DR2 (*Direct Repeat 2*) pada ujung 5' untai negatif. Pada proses ini terjadi *template transfer* yang

menyebabkan terbentuknya genom VHB yang sirkuler/rc DNA. Bentuk RNA yang lain akan mengalami proses translasi menjadi protein masing-masing sesuai mRNA nya di ribosom (Lu dan Block, 2004; Lok *et al.*, 2001).

Partikel *core* VHB dirakit di dalam sitosol, mengalami enkapsidasi RNA pre-genom oleh protein HBsAg, kemudian terdegradasi selama transkripsi balik, RNA pre-genom menjadi untaian DNA komplementer. Protein permukaan VHB awalnya disintesis dan dipolimeriasi dalam retikulum endoplasma kasar (RER). Protein ini selanjutnya diangkut ke retikulum endoplasma dan pre-Golgi, sebagai tempat pembentukan nukleokapsid. Virion VHB yang telah selesai dirakit dan partikel sub-virus diangkut ke badan golgi untuk modifikasi *glycans protein* permukaan, dan kemudian disekresikan keluar dari sel inang (Lu dan Block, 2004).

Virus Hepatitis B tidak secara langsung bersifat *cytopathic* terhadap sel hati inang. Masa inkubasi terjadi dalam 3 – 6 bulan. Manifestasi klinis dan kerusakan organ hati pada infeksi hepatitis B akut ditentukan oleh respon imunologi dari inang untuk dapat mengeliminasi dan menekan agen infeksi. Pada infeksi hepatitis akut, sel mononuklear terinfiltrasi ke jaringan hati, terutama sel T sitotoksik. Sel T sitotoksik secara sensitif-spesifik dapat mengenali antigen virus hepatitis B, yaitu HBsAg pada permukaan sel hati. Selain HBsAg, protein nukleokapsid (HBcAg dan HBeAg) yang muncul di membran sel juga memicu sel T sitotoksik untuk menghancurkan sel hati yang terinfeksi (Dienstag dan Isselbacher, 1998; Taylor dan Thomas, 1984).



**Gambar 2.1.4** Siklus hidup virus hepatitis B (Ait-goughoulte, *et al.*, 2010)

### 2.1.5 Gejala Klinis

Gejala klinis infeksi virus hepatitis B pada pasien hepatitis akut cenderung ringan. Kondisi asimtomatis ini terbukti dari tingginya angka pengidap tanpa adanya riwayat hepatitis akut. Gejala hepatitis akut terbagi dalam 4 tahap yaitu fase inkubasi, fase prodromal, fase ikterus, dan fase konvalesen. Fase inkubasi merupakan waktu antara masuknya virus dan timbulnya gejala atau ikterus. Fase inkubasi Hepatitis B berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata 60-90 hari. Fase prodromal (pra ikterik) diantara timbulnya keluhan-keluhan pertama dan timbulnya gejala ikterus, awalnya singkat atau *insidious* ditandai dengan malaise

umum, mialgia, artalgia, mudah lelah, gejala saluran napas atas dan anoreksia. Diare atau konstipasi dapat terjadi. Nyeri abdomen biasanya ringan dan menetap di kuadran kanan atas atau epigastrium, kadang diperberat dengan aktivitas akan tetapi jarang menimbulkan kolestitis (Sudoyo, 2010).

Fase ikterus muncul setelah 5-10 hari, tetapi dapat juga muncul bersamaan dengan munculnya gejala, banyak kasus pada fase ikterus tidak terdeteksi. Setelah timbul ikterus jarang terjadi perburukan gejala prodromal, tetapi justru akan terjadi perbaikan klinis yang nyata. Fase konvalesen (penyembuhan) diawali dengan menghilangnya ikterus dan keluhan lain, tetapi hepatomegali dan abnormalitas fungsi hati tetap ada. Muncul perasaan sudah lebih sehat dan kembalinya nafsu makan. Sekitar 5-10% kasus perjalanan klinisnya mungkin lebih sulit ditangani hanya <1% yang menjadi fulminan (Sudoyo, 2010).

#### **2.1.6 Pengendalian dan Pencegahan**

Pengendalian dan pencegahan infeksi hepatitis B dapat dilakukan dengan modifikasi perilaku untuk mencegah terjadinya penularan penyakit, pemberian imunoprofilaksis pasif, serta pemberian imunisasi aktif (Hou *et al.*, 2005).

Modifikasi perilaku dapat dilakukan dengan melakukan perubahan pada praktik seksual dan peningkatan ukuran *screening* darah terkait transfusi. Modifikasi perilaku dianggap lebih efektif untuk diterapkan di negara maju daripada negara berkembang dimana bayi dan anak-anak memiliki risiko paling tinggi untuk dapat tertular infeksi hepatitis B. Pada kelompok ini pemberian

imunoprofilaksis baik aktif maupun pasif akan lebih efektif . Pemberian imunoprofilaksis pasif dapat dilakukan dengan *Hepatitis B Immune Globulin* (HBIG) yang berupa larutan steril dari antibodi yang siap dipakai untuk melawan infeksi hepatitis B. HBIG dibuat dari darah manusia sebagai donor terpilih yang telah memiliki antibodi yang tinggi terhadap hepatitis B. Pemberian imunoprofilaksis pasif dapat digunakan dalam empat situasi, yaitu bayi baru lahir yang terinfeksi hepatitis B, setelah terpapar oleh jarum suntik, setelah terpapar karena hubungan seksual, serta setelah transplantasi hati (Hou *et al.*, 2005).

Pencegahan infeksi primer dengan vaksinasi merupakan strategi penting untuk mengurangi risiko infeksi VHB kronis dan komplikasi selanjutnya. Vaksin hepatitis B generasi pertama merupakan vaksin turunan plasma yang tidak aktif dan tersedia pada tahun 1982. Vaksin hepatitis B generasi kedua digunakan secara umum pada tahun 1986 yang berupa vaksin rekombinan DNA. Kedua vaksin tersebut terbukti aman dan efektif dalam mencegah infeksi hepatitis B. Pada tahun 1991 *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan agar vaksinasi hepatitis B harus disertakan dalam sistem imunisasi nasional di semua negara dengan prevalensi pembawa hepatitis B (HbsAg) 8% atau lebih tinggi pada tahun 1995 dan di semua negara pada tahun 1997. Pada bulan Mei 2002, 154 negara menerapkan imunisasi hepatitis B rutin pada bayi (Lavanchy, 2004).

Ada tiga macam pencegahan infeksi virus hepatitis B menurut Ramaliah (2005) yaitu yang pertama adalah perbaikan hygiene dan sanitasi, yang kedua adalah pencegahan penularan parenteral, dan yang ketiga adalah imunisasi.

Pencegahan parenteral yang terpenting adalah penapisan HbsAg pada darah pritransfusi, sterilisasi alat kedokteran secara virusidal dan prinsip penggunaan satu alat steril untuk satu orang pada tindakan parental.

## **2.2 Vaksin**

### **2.2.1 Pengertian tentang Vaksin**

Vaksin merupakan preparat biologis yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh terhadap penyakit tertentu. Vaksin mengandung mikroorganisme penyebab penyakit yang telah dilemahkan baik dari tingkat toksin yang dihasilkan atau protein permukaan pada partikel virus tersebut (WHO, 2006). Jenis-jenis vaksin berdasar komponen penyusunnya ada tiga, yaitu vaksin bakteri, toksoid bakteri, vaksin virus, dan rickettsia. Pada vaksin bakteri, mengandung komponen biakan galur bakteri baik yang masih hidup atau mati ataupun komponen immunogeniknya. Toksoid bakteri, tersusun atas toksin yang sudah dihilangkan toksisitasnya tetapi tetap memiliki sifat imunogenitasnya. Vaksin virus dan rickettsia, tersusun atas suspensi dari virus atau rickettsia yang ditumbuhkan pada telur ayam berembrio (TAB) ataupun dalam biakan sel. Vaksin virus dan rickettsia ini mengandung komponen virus hidup atau inaktif atau komponen immunogeniknya (DepKes RI, 1995).

Vaksin mengandung beberapa bahan tambahan seperti eksipien, antigen, dan adjuvant. Bahan-bahan tersebut dikombinasikan untuk memberi perlindungan yang maksimal terhadap berbagai macam penyakit infeksius. Bahan tambahan yang digunakan dalam formula vaksin ada dua macam yaitu berupa adjuvant dan



ekspien. Adjuvant merupakan suatu bahan yang ditambahkan ke dalam formula vaksin untuk meningkatkan respon imun spesifik serta imunogenitas dari antigen. Contoh beberapa adjuvant yaitu garam mineral (*aluminium salts*), kalsium fosfat, IFA (*Incompleted Freund's adjuvant*), dan lain-lain (Dangi *et al.*, 2011).

Eksipien merupakan bahan atau substansi yang ditambahkan ke dalam formula vaksin yang berfungsi sebagai pengawet vaksin (*preservatives*), stabilisator vaksin, pengencer (*diluents*), *buffer*, dan pengemulsi (*emulsifiers*). Fungsi ekspien sebagai pengawet vaksin berperan dalam mencegah pertumbuhan mikroba apabila terjadi kontaminasi dalam proses pembuatan atau penyimpanan vaksin. Contoh ekspien yang berperan sebagai pengawet vaksin yaitu 2-Phenoxyethanol, thiomersal, dan phenol. Fungsi ekspien sebagai stabilisator vaksin berperan menghambat reaksi kimia, menjaga homogenisitas, dan mencegah pemisahan komponen-komponen pada vaksin. Contoh ekspien yang berperan sebagai stabilisator yaitu gula, seperti sukrosa dan laktosa. Fungsi ekspien sebagai *buffer* berperan menjaga dan mengontrol keseimbangan pH dalam beberapa formula vaksin. Contohnya yaitu sodium klorida. Fungsi ekspien sebagai pengencer (*diluents*) yaitu untuk mencairkan vaksin menjadi konsentrasi yang tepat sebelum diberikan. Contohnya yaitu air steril atau saline steril. Fungsi ekspien sebagai pengemulsi atau (*emulsifiers*) yaitu untuk menurunkan tegangan antar cairan atau komponen yang berada dalam vaksin tersebut. Contohnya polysorbate 80 atau tween 80 (Collin *et al.*, 2012).

rekombinan juga dapat diproduksi dengan memasukkan plasmid yang mengandung gen HBsAg ke dalam sel mamalia (Chen, 2009).

Meskipun vaksin yang telah ada saat ini memiliki efektivitas yang sangat tinggi (94-98%) dalam melindungi infeksi VHB kronis dalam 20 tahun (Ni *et al.*, 2007 dalam Chen, 2009), vaksin tersebut masih jauh dari sempurna. Masih ada beberapa populasi dengan tingkat non-respon yang cukup besar, seperti orang tua, perokok, obesitas, serta orang dengan penyakit ginjal kronis. Hal ini mengakibatkan lebih banyak vaksin hepatitis B imunogenik yang dikembangkan dengan memasukkan sekuens DNA VHB yang mengkode protein pra-S1 dan pra-S2 ke dalam vektor dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan (Shapira *et al.*, 2001; Young *et al.*, 2001). Selain itu peningkatan efektivitas *adjuvant* untuk membuat vaksin lebih imunogenik juga telah dicoba (Kundi, 2007).

Vaksin hepatitis B harus disimpan pada suhu 2-8°C dan tidak boleh dibekukan. Vaksin ini relatif stabil terhadap panas, imunogenisitas tidak berubah meskipun disimpan pada suhu kamar dalam waktu satu bulan atau bahkan pada suhu tropis (Hipgrave *et al.*, 2006).

### **2.3 Uji Toksisitas Vaksin**

Vaksin sebagai salah satu jenis obat memerlukan tahapan uji keamanan sebelum digunakan untuk manusia, vaksin harus lolos tahap uji pertama yakni uji pra-klinis sebelum dilanjutkan ke uji klinis. Uji pra-klinis meliputi uji toksisitas dan uji farmakokinetik (Sukandar, 2004). Sukandar menjelaskan bahwa uji

pra-klinis merupakan persyaratan uji untuk calon obat, dari uji ini diperoleh informasi tentang efikasi (efek farmakologi), profil farmakokinetik dan toksisitas calon obat. Pada mulanya yang dilakukan pada uji pra-klinis adalah pengujian ikatan obat pada reseptor dengan kultur sel terisolasi atau organ terisolasi, selanjutnya dipandang perlu menguji pada hewan utuh.

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia. Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan / sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014).

Tujuan akhir dari uji toksisitas dan penelitian lainnya yang berkaitan dalam menilai keamanan atau resiko toksikan pada manusia, idealnya data dikumpulkan dari manusia. Tetapi karena hambatan etik, sehingga tidak memungkinkan untuk langsung melakukan uji toksisitas pada manusia. Oleh karena itu uji toksisitas umumnya dilakukan pada binatang, hewan sel tunggal, atau sel kultur. Dari data-data tersebut dilakukan ekstrapolasi ke manusia,

sehingga diperoleh batasan-batasan nilai yang dapat diterapkan pada manusia guna memenuhi tujuan akhir dari uji toksikologi tersebut (Hodgson *et al.*, 2000).

Kajian yang dilakukan pada uji toksisitas antara lain adalah evaluasi hubungan dosis dan efek yang terjadi untuk semua kelompok yaitu terjadinya efek toksik dan derajat toksisitas, yang meliputi perubahan berat badan, gejala klinis, parameter hematologi, biokimia klinis, makropatologi dan histopatologi, organ sasaran, kematian dan efek umum lain atau efek yang spesifik (BPOM, 2014).

## **2.4 Hepar**

### **2.4.1 Tinjauan tentang Hepar**

Hepar adalah kelenjar terbesar yang ada di dalam tubuh dan merupakan organ yang paling sering mengalami kerusakan tetapi sekaligus memiliki cadangan fungsional yang luar biasa. Pada binatang percobaan telah dibuktikan bahwa 10% parenchima hati saja, sudah cukup untuk mempertahankan fungsi hati normal. Hati mempunyai fungsi yang sangat kompleks detoksikasi merupakan salah satu fungsi hati yang dikerjakan oleh enzim melalui mekanisme oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konjugasi. Setiap hari hati mensekresikan cairan empedu, kemampuan hati untuk mensekresikan empedu mempunyai beberapa manfaat yang penting bagi tubuh dalam membantu pencernaan makanan, membantu ekskresi zat yang tidak berguna bagi tubuh dan berfungsi dalam metabolisme bilirubin (Bijanti dkk., 2010)

Sel utama penyusun hati adalah hepatosit. Hepatosit merupakan sel utama yang bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Di dalam hati sel hepatosit terdapat sebanyak 60% dari total sel yang terdapat di dalam hati. Pada struktur hati terdapat lubang yang merupakan pembuluh darah kapiler yang disebut sinusoid, dinding sinusoid mengandung sel fagosit yang disebut sel Kupfer yang bertugas memfagositosis dan menghancurkan partikel padat bakteri dalam sel darah mati (Hodgson, 2004). Secara anatomi hati terbagi menjadi 4 lobus yaitu lobus kanan, lobus kiri, lobus quadratus dan lobus kaudatus. Masing-masing lobus dibentuk oleh lobulus-lobulus yang merupakan unit fungsional dasar hati. Secara keseluruhan, hati dibentuk oleh sekitar 100.000 lobulus yang terdiri dari hepatosit, saluran sinusoid yang dikelilingi oleh endotel vaskuler dan sel kupfer yang merupakan bagian dari sistem retikuloedotiel. Struktur ini berbentuk heksagonal yang mengelilingi vena sentral, pada setiap sudut heksagonal terdapat traktus portal yang masing-masing mengandung cabang-cabang arteri hepatica, vena portal dan duktus biliaris intra hepatica. Karena garis khayal dari tiap sudut heksagonal sampai ke vena sentral, tiap lobulus terbagi menjadi 6 area yang disebut asinus yang berbentuk segitiga (segitiga kiernan) dengan vena sentral sebagai puncak. Kerja terpenting hati adalah pengambilan komponen bahan makanan yang diantarkan dari saluran cerna melalui pembuluh porta ke dalam hati, detoksifikasi senyawa-senyawa toksik melalui biotransformasi, sebagai pembuat dan penyimpanan hasil metabolisme dan biosintesis, penyerapan asam amino, karbohidrat, protein, lipid, asam empedu, kolesterol, vitamin. Selain itu fungsi hati juga untuk melindungi

tubuh terhadap terjadinya penumpukan zat berbahaya dari luar maupun dari dalam. Hati juga merupakan tempat dimana obat dan bahan toksik lainnya dimetabolisme melalui darah (Sativani, 2010).

## **2.5 Enzim Transaminase**

Manifestasi klinik baru timbul apabila terjadi kerusakan hepatosit yang cukup luas, hal ini disebabkan karena hati mempunyai kapasitas cadangan yang cukup baik. Sehingga, untuk mendeteksi kerusakan hepatoseluler yang sedang berlangsung dapat dilakukan dengan mengukur indeks fungsional dan mengamati produk hepatosit yang rusak atau nekrotik yang masuk kedalam sirkulasi (plasma atau serum).

Hati merupakan pusat sintesis protein dan penyaluran asam amino keseluruhan organ-organ yang membutuhkannya, sehingga hati merupakan organ yang banyak mengandung aminotransferase. Dua enzim aminotransferase yang paling sering berkaitan dengan kerusakan hepatoseluler adalah SGPT / ALT dan SGOT / AST (Bijanti dkk., 2010).

### **2.5.1 SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) atau ALT**

Enzim ini memerantai reaksi antara asam alanin dan alfa ketoglutamat. Enzim ini banyak terdapat di dalam sel hati sedangkan di organ lain konsentrasinya rendah. Oleh sebab itu hati mempunyai konsentrasi ALT yang sangat tinggi walaupun organ lain seperti ginjal, jantung otot bergaris juga mengandung ALT dalam jumlah sedang. Lokasi ALT sendiri di sitoplasma

hepatosit ( Bijanti dkk., 2010). Satuan enzim SGPT ini adalah IU/L , dengan batas normal SGPT untuk tikus jantan adalah 17,5 IU/L– 30,2 IU/L (Kusumawati, 2004).

Kondisi yang meningkatkan kadar SGPT /ALT menurut Dian (2012) adalah yang pertama peningkatan SGPT lebih dari 20 kali normal biasanya disebabkan karena hepatitis viral akut, nekrosis hati (toksisitas obat atau bahan kimia). Kedua, peningkatan 3-10 kali normal biasanya disebabkan oleh infeksi mononuklear, hepatitis kronis aktif, sumbatan empedu ekstra hepatic, sindrom Reye dan infark miokard. Dan yang terakhir adalah peningkatan 1-3 kali normal disebabkan oleh pankreatitis, perlemakan hati, sirosis Laennec, sirosis biliaris. Faktor yang dapat mempengaruhi temuan laboratorium menurut Kee (2007) adalah pengambilan darah intravena dapat menurunkan kadar, trauma pada proses pengambilan sampel dapat meningkatkan kadar, hemolisis sampel darah, dan obat-obatan yang dapat meningkatkan kadar seperti antibiotik (ampisilin, klindamisin, karbenisilin, kloksasilin, eritromisin, gentamisin, linkomisin, mitramisin, nafsilin, oksasilin, polisilin, spektinomisin, tetrasiklin), narkotika (meperidin/demerol, morfin, kodein), antihipertensi (metildopa/aldomet, guanetidin), preparat digitalis, indometasin (indosin), salisilat, rifampin, flurazepam (Dalmane), propranolol (inderal), kontrasepsi oral (progestin-estrogen), lead, heparin.

### 2.5.2 SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) atau AST

Enzim ini memindahkan gugus amino antara asam glutamat dan asam alfa ketoglutamat dan dapat ditemukan pada organ lain selain pada sel hati. Karakteristik dari enzim ini yaitu lebih banyak di jantung daripada dihati ( Bijanti dkk., 2010 ) . Lokasi dihepatosit terletak di mitochondria. Enzim ini kurang spesifik untuk penyakit hati . Satuan enzim SGOT ini adalah IU/L , dengan batas normal SGOT untuk tikus jantan adalah 45.7 IU/L – 80.8 IU/L (Kusumawati, 2004). Nilai klinik suatu pemeriksaan laboratorium tergantung pada sensitivitas , spesifik, dan akurasi. SGOT adalah parameter yang memiliki sensitivitas maksimum 90% namun hanya 18% yang spesifik pada hati, ini menunjukkan bahwa SGOT sensitif tetapi tidak spesifik untuk melihat kerusakan hati (Gorosia *et al.*,2013).

Kondisi yang meningkatkan kadar SGPT /ALT menurut Widdman (1989) adalah peningkatan tegas (5 kali atau lebih dari nilai normal) pada kerusakan hepatoseluler akut, infark miokard, kolaps sirkulasi, pankreatitis akut,mononukleus infeksiosa. Peningkatan sedang (3-5 kali dari nilai normal) pada obstruksi saluran empedu, aritmia jantung, gagal jantung kongestif, tumor hati (metastatis atau primer), dystrophia muscularis. Peningkatan ringan (sampai 3 kali nilai normal) pada perikarditis, sirosis, infark paru, *delirium tremens*, *cerebrovascular accident*.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi temuan laboratorium menurut Dian (2012) adalah injeksi intramuskular (IM) dapat meningkatkan kadar



SGOT/AST, pengambilan darah secara intra-vena dapat menurunkan kadar SGPT, hemolisis sampel darah, dan obat-obatan dapat meningkatkan kadar yaitu antibiotik (ampisilin, kerbenisilin, klindamisin, kloksasilin, eritromisin, gentamisin, limkomisin, nafsilin, oksasilin, polisilin, tetrasilin) vitamin (asam folat, piridoksin, vitamin A), narkotika (kodein, morfin, meperidin), antihipertensi (metildopa/aldomet, guanetidin), metramisin, preparat digitalis, kortison, flurazepam (Dalmane), indometasin (Indosin), isoniazid (INH), rifampin, teofilin. Salisilat dapat menyebabkan kadar serum positif atau negatif yang keliru

Aktivitas enzim AST dan ALT serum meningkat pada hampir semua penyakit. Kadar yang tertinggi ditemukan dalam hubungannya dengan keadaan yang menyebabkan nekrosis hati yang luas, seperti hepatitis virus berat, cedera hati akibat toksin, atau kolaps sirkulasi yang berkepanjangan. Peningkatan yang lebih rendah ditemukan pada hepatitis akut ringan demikian pula pada penyakit hati kronik difus maupun lokal (Podolsky dan Isselbacher, 2002). Ketika sel hati mengalami kerusakan, enzim tersebut berada dalam darah, sehingga dapat diukur peningkatan aktivitasnya. Hal ini disebabkan karena kerusakan pada struktur dan fungsi membran sel hati. Apabila kerusakan yang timbul oleh radang hati hanya kecil, aktivitas ALT lebih dini dan lebih cepat meningkat dari kadar AST. Peningkatan aktivitas ALT dalam serum menjadi petunjuk yang lebih sensitif ke arah kerusakan hati karena sangat sedikit kondisi selain hati yang berpengaruh pada aktivitas ALT dalam serum.

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel SGPT adalah enzim mikrosomal, sedangkan SGPT adalah enzim sitosolik. Kenaikan enzim-enzim tersebut meliputi kerusakan sel-sel hati oleh karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatus dan yang disebabkan oleh alkohol. Kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi biasanya menunjukkan berkembangnya kelainan dan nekrosis hati. Maka perlu pemeriksaan secara serial untuk mengevaluasi perjalanan penyakit hati. Kadar transaminase dalam serum diukur dengan metode kolorimetrik atau lebih teliti dengan metode spektrofotometrik (PAPDI, 2004).

## **2.6 Hewan Coba**

Hewan coba adalah hewan yang dapat digunakan untuk suatu tujuan penelitian, hewan-hewan ini meliputi hewan laboratorium hingga hewan ternak. Pemakaian hewan coba dilakukan dalam berbagai penelitian biomedikal seperti penelitian toksikologi, nutrisi, mikrobiologi, imunologi, pengembangan obat-obatan, vaksin dan produk-produk khusus (misalnya kosmetik, shampoo, dan pasta gigi) serta bedah. Selain itu, hewan coba juga dipakai untuk pembelajaran dalam dunia pendidikan, sekitar 5% dari hewan yang dipelihara di laboratorium digunakan untuk pendidikan mulai tingkat sekolah menengah sampai tingkat universitas guna mengetahui anatomi dan fisiologinya. Hipotesis-hipotesis mengenai proses terjadinya penyakit atau pengaruh positif dan negatif materi-materi tertentu pada manusia atau hewan seringkali tidak dapat

(misalnya mencit dan tikus) dan mamalia diwakilkan oleh kelinci. Tikus adalah hewan coba yang paling sering digunakan dan ekonomis (Risqa, 2015). Kelinci memiliki usus yang khas yakni caecum yang relatif besar dengan flora khusus (Kusumawati, 2004). Rodensia dan kelinci umumnya dipakai untuk penelitian berbagai macam infeksi seperti Hepatitis. Tahap awal penelitian menggunakan rodensia yang diwakilkan oleh tikus dan tahap di atasnya penggunaan kelinci sebagai hewan coba sebelum dilanjutkan ke uji klinis yaitu pada manusia.

Kelompok hewan coba kedua adalah *carnivora*, anjing dan kucing mudah didapat dan dipelihara. Dengan ukuran tubuhnya yang cukup besar, susunan anatomi tubuh hewan-hewan ini memudahkan penelitian mengenai fisiologi, sistem syaraf dan untuk eksperimental *surgery*. Hewan dalam kelompok ini juga dipakai untuk penelitian berbagai jenis cancer dan tumor (Kusumawati, 2004). Penggunaan anjing sebagai hewan coba telah dilakukan sejak awal abad ke-17 hal ini dikarenakan adanya persamaan sistem organ tubuh, otot, fisiologi dengan manusia, ukuran tubuh anjing relatif sedang sehingga memudahkan dalam penanganan serta anjing mempunyai usia hidup yang lama (Risqa, 2015).

Kelompok hewan coba yang ketiga adalah primata. Hewan primata adalah monyet, kera, dan orang utan memiliki sejarah panjang dan sudah digunakan selama bertahun-tahun untuk uji vaksin dan obat (Risqa, 2015). Primata merupakan hewan yang tergolong mahal, akan tetapi karena anatomi dan fisiologinya paling mendekati manusia maka kelompok hewan ini sering digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan manusia (Kusumawati, 2004)

Primata dan manusia memiliki sistem kekebalan tubuh yang baik ditandai kera sering digunakan untuk mengevaluasi imunogenitas dan kandidat vaksin (Risqa, 2015). Primata memiliki keunggulan dibandingkan dengan hewan coba yang lain (Health and science bulletin, 2011)

Kelompok hewan coba yang keempat yaitu ungulata. Hewan yang termasuk kelompok ini meliputi kuda, sapi, kambing dan domba (Kusumawati, 2004). Ternak dapat dilakukan ujiantang untuk menjadi sakit dan uji coba dapat diselesaikan dalam waktu yang relatif singkat (Manabe *et al.*, 2008).

## **2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

### **2.7.1 Tikus sebagai hewan coba**

Penggunaan hewan coba terhadap infeksi hepatitis B akan membantu pemahaman dari pathogenesis antara virus hepatitis B pada hewan dan virus hepatitis B pada manusia. Tikus putih merupakan spesies ideal untuk pengujian karena tikus mempunyai fisiologis yang hampir sama dengan manusia. Selain itu, tikus lebih mudah dipegang, dikendalikan, dan mudah beradaptasi dengan lingkungan baru. Organ-organ tubuh tikus pun relatif besar sehingga materi dapat diberikan dengan mudah melalui berbagai rute (Kusumawati, 2004).

Tikus yang mewakili rodensia merupakan hewan coba pada tingkatan pertama lalu pada tingkatan di atasnya dilanjutkan menggunakan hewan coba kelinci sebagai tingkatan akhir sebelum dinyatakan aman dan dapat lanjut ke uji klinis.

Temperatur yang cocok untuk habitat tikus yang juga tergolong dalam hewan nokturnal, yaitu pada temperatur 19°C hingga 23°C dengan kelembaban 40-70% (Malole dan Pramono, 1989; Sudrajat, 2008) . Berat tikus jantan dewasa yaitu sekitar 200-300 gram. Tikus jantan lebih berat daripada tikus betina pada semua kelompok umur serta terjadinya perubahan bobot organ (ginjal, hati, paru, limpa), nilai hematologi, nilai kimia darah (AST dan ALT) seiring dengan bertambahnya umur tikus.

Kebutuhan makan dan minum masing-masing hingga 10 gram per 100 gram berat badan dan 10 mililiter per 100 gram berat badan . Pakan ideal untuk tikus harus memenuhi kebutuhan zat makanan antara lain protein 12%, lemak 5 %, dan serat kasar kira-kira 5% harus cukup mengandung vitamin A, vitamin D, asam linoleat, tiamin, riboflaavin, pantotenat, vitamin B12, biotin, piridoksin, dan kolin serta mineral-mineral tertentu. Pakan yang diberikan pada tikus harus mengandung asam amino esensial seperti Arginin, Isoleusin, Leusin, Methionin, Fenilalamin, Treonin, Tryptofan dan Valine (Wolfeshon and Lloyd, 2013).

Selain pakan, hal yang perlu diperhatikan dalam penggunaan tikus putih sebagai hewan percobaan adalah perkandangan yang baik. Kandang tikus terbuat dari kotak plastik yang ditutup dengan kawat berlubang. Kulit biji padi dapat digunakan sebagai alas kandang tikus. Alas kandang diganti setiap 3 hari bertujuan agar kebersihan tikus tetap terjaga dan tidak terkontaminasi bakteri yang ada di feses serta urine tikus ( Marice and Sulistyowati, 2011).

### 2.7.2 Klasifikasi Tikus Putih

Klasifikasi ilmiah tikus putih menurut Kusumawati (2004) sebagai berikut:

Kingdom : Chordata

Kelas : Vertebrata

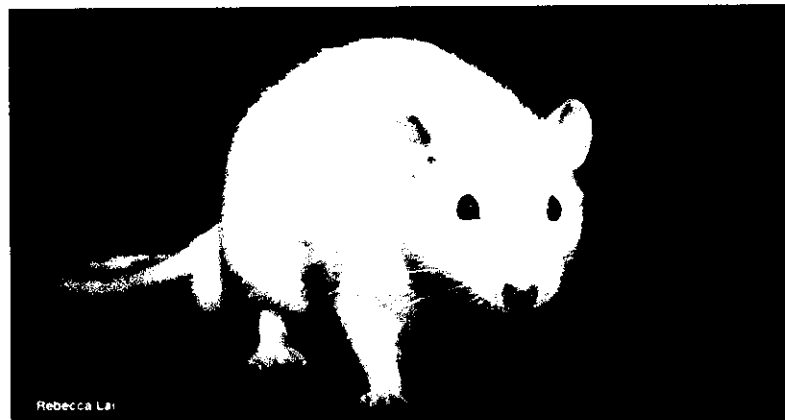
Ordo : Rodentia

Subordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Genus : Rattus

Species : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.7.2 Tikus Putih (Myres and Armitage, 2004)

**BAB 3**  
**MATERI DAN METODE**

## **BAB 3 MATERI DAN METODE**

### **3.1 Rancangan Penelitian**

Pada penelitian ini menggunakan empat kelompok perlakuan, yaitu satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) menggunakan empat kelompok perlakuan dengan 5 kali ulangan tiap kelompok perlakuan.

Kontrol (K) : 0,4 ml PBS secara IM

Perlakuan 1 (P1) : 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 1 secara IM

Perlakuan 2 (P2) : 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 2 secara IM

Perlakuan 3 (P3) : 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 3 secara IM

### **3.2 Besaran Sampel**

Pada penelitian ini besar sampel yang digunakan ditentukan dengan rumus  $t(n-1) \geq 15$  dengan t adalah jumlah perlakuan dan n adalah jumlah ulangan dalam setiap kelompok perlakuan (Kusriningrum, 2011).

Perhitungan Jumlah Sampel

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$



$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \text{ (dibulatkan menjadi 5)}$$

Dengan empat perlakuan, hasil perhitungan menunjukkan lebih dari 5 ulangan sehingga jumlah tikus yang digunakan sejumlah 20 ekor.

### **3.3 Variabel Penelitian**

#### **3.3.1 Variabel bebas**

Bahan perlakuan dimana kelompok kontrol diberi larutan PBS pada hari ke-0 serta kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 yang diberi dosis tunggal formula vaksin hepatitis B tipe 1, 2, dan 3.

#### **3.3.2 Variabel tergantung**

Kadar enzim SGPT dan SGOT tikus jantan.

#### **3.3.3 Variabel kendali**

Kandang, pakan, minum, umur, jenis kelamin, hewan coba, umur hewan coba, dosis formula vaksin hepatitis B.

### **3.4 Definisi operasional variable**

Vaksin merupakan preparat biologis yang mampu meningkatkan kekebalan tubuh terhadap penyakit tertentu. Vaksin mengandung mikroorganisme penyebab penyakit yang telah dilemahkan baik dari tingkat toksin yang dihasilkan ataupun protein permukaan pada partikel virus tersebut (WHO, 2006).

SGPT adalah enzim yang memerantai reaksi antara asam alanin dan alfa ketoglutamat. Enzim ini banyak terdapat di dalam sel hati sedangkan di organlain konsentrasinya rendah. Oleh sebab itu hati mempunyai konsentrasi ALT yang sangat tinggi walaupun organ lain seperti ginjal, jantung otot bergaris juga mengandung ALT dalam jumlah sedang. Lokasi ALT sendiri di sitoplasma hepatosit ( Bijanti dkk., 2010). Satuan SGPT adalah IU/L.

SGOT adalah enzim yang memindahkan gugus amino antara asam glutamat dan asam alfa ketoglutamat dan dapat ditemukan pada organ lain selain pada sel hati. Karakteristik dari enzim ini yaitu lebih banyak di jantung daripada dihati ( Bijanti dkk., 2010 ) . Lokasi dihepatosit terletak di mitochondria. Enzim ini kurang spesifik untuk penyakit hati . Satuan SGOT adalah IU/L.

### **3.5 Tempat dan Waktu Penelitian**

Pemeliharaan hewan coba akan dilakukan di Kandang Hewan Coba yang telah memenuhi standart. Pemeriksaan serum darah untuk mengetahui kadar enzim SGPT dan SGOT dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Surabaya. Waktu penelitian ini berlangsung pada pertengahan bulan November 2017 sampai akhir Desember 2017.

### **3.6 Bahan dan Materi Penelitian**

#### **3.6.1 Bahan penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain formula vaksin Hepatitis B tipe 1, tipe 2 , dan tipe 3 dari suatu pabrik pembuat vaksin di Indonesia, Phosphat Buffer Saline, ketamine, xylazine, dan Alkohol 70%, reagen SGPT yaitu reagen 1 yang terdiri dari TRIS buffer, L-alanin, LDH  $\geq 1700$  U/L,

reagen 2 SGPT terdiri dari 2-oksalooglutarat dan NADH. Lalu reagen SGOT yaitu reagen 1 yang terdiri dari TRIS buffer, L-aspartat, LDH  $\geq 600$  U/L, MDH  $\geq 600$  U/L reagen 2 SGOT terdiri dari 2-oksalooglutarat dan NADH, serum darah sebanyak 100  $\mu$ L.

### **3.6.2 Alat penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus individu yang sudah dilengkapi tempat makan dan minum, autoclave dan BSC (*Biosafety Cabinet*). Peralatan untuk pengambilan dan penampungan sampel adalah scalpel steril, spuit 3ml, tabung vacutainer, pinset dan wadah tempat menyimpan sample, tabung sentrifuge, sentrifuge, spektrofotometer, penangas air, vortex, tabung reaksi ukuran 5 ml, pipet eppendrof, tip eppendrof.

### **3.6.3 Hewan percobaan**

Hewan coba yang dipakai pada penelitian ini adalah *Specific Pathogenic Free* (SPF) tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 20 ekor dengan berat badan rata-rata 200-300 gram dan umur tikus jantan 8 minggu. Hewan coba diperoleh dari suatu pabrik pembuat vaksin di Indonesia. Dipelihara dalam kondisi yang sama di kandang hewan coba yang sudah memenuhi standart dan pemberian makan dan minum secara *ad libitum*.

## **3.7 Prosedur Penelitian**

### **3.7.1 Adaptasi hewan coba**

Sebelum dilakukan perlakuan, hewan coba diadaptasikan dalam kandang hewan coba selama satu minggu dengan pemberian makan dan minum setiap hari

secara *ad libitum*. Kelompok kontrol dan perlakuan ditempatkan pada kandang dalam satu ruangan .

### **3.7.2 Perlakuan penyuntikan dosis tunggal formula vaksin hepatitis B**

Hewan coba dibagi kedalam empat kelompok perlakuan yaitu satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Kelompok kontrol diberikan larutan PBS dan kelompok perlakuan diberikan formula vaksin hepatitis B dengan tipe yang berbeda tipe 1 (perlakuan pertama), tipe 2 (perlakuan kedua) dan tipe 3 (perlakuan kedua). Dosis larutan PBS dan formula vaksin hepatitis B yang diberikan tiap kali perlakuan adalah sama yaitu sebesar 0,4 ml. Pemberian dilakukan secara injeksi intramuscular melalui jarum suntik sebanyak 0,1 ml disetiap kakinya (total dosis = 0,4 ml). Semua perlakuan dilakukan sebanyak satu kali yaitu pada hari ke-0. Setiap tipe formula vaksin Hepatitis B yang diberikan kepada kelompok perlakuan memiliki perbedaan konsentrasi antara seed virus dengan adjuvant, setiap kelompok akan diamati hingga hari ke-14. Pada kelompok perlakuan sebelum pemberian vaksin, hewan harus dianestesi dahulu dengan menggunakan campuran ketamine dan xylazine secara intramuskular (IM). Dosis campuran ketamin untuk tikus putih menurut *The Institutional Animal Care And Use Committee (IACUC)* tahun 2017 yaitu 40-100 mg/kgBB dan dosis campuran xylazine untuk tikus putih yaitu 5-13 mg/kgBB (10 mg/kgBB).

### **3.7.3 Pengambilan sample darah**

Setelah dilakukan perlakuan selama 14 hari, semua hewan coba dikorbankan dengan melakukan euthanasia menggunakan campuran ketamin dan

xylazine 2-3x dosis anestesi pemberian secara intramuskular (IM). Setelah itu, dilakukan pembedahan di area thorax serta dilakukan pengambilan darah secara *intracardial* (melalui jantung) sebanyak 2 ml dengan *disposable syringe* pada saat jantung masih berdenyut. Darah yang diambil dimasukkan ke dalam tabung vacutainer tanpa EDTA, kemudian akan dilakukan pemeriksaan lanjutan terhadap kadar SGOT dan SGPT di Labkesda kota Surabaya.

#### **3.7.4 Pemeriksaan SGPT**

Pemeriksaan SGPT pada penelitian ini dengan menggunakan metode *optimized UV test*. Sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  reagen GPT dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  serum lalu dihomogenkan dengan bantuan vortex. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm dengan faktor konversi sebesar 1745 untuk mendapatkan kadar SGPT (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia nomer 7 tahun 2014). Kadar SGPT dinyatakan dalam satuan international unit/liter (IU/L). Nilai normal SGPT Tikus Jantan adalah 17,5 – 30,2 IU/L (Kusumawati, 2004) Pemeriksaan SGPT tercantum pada Lampiran 1.

#### **3.7.5 Pemeriksaan SGOT**

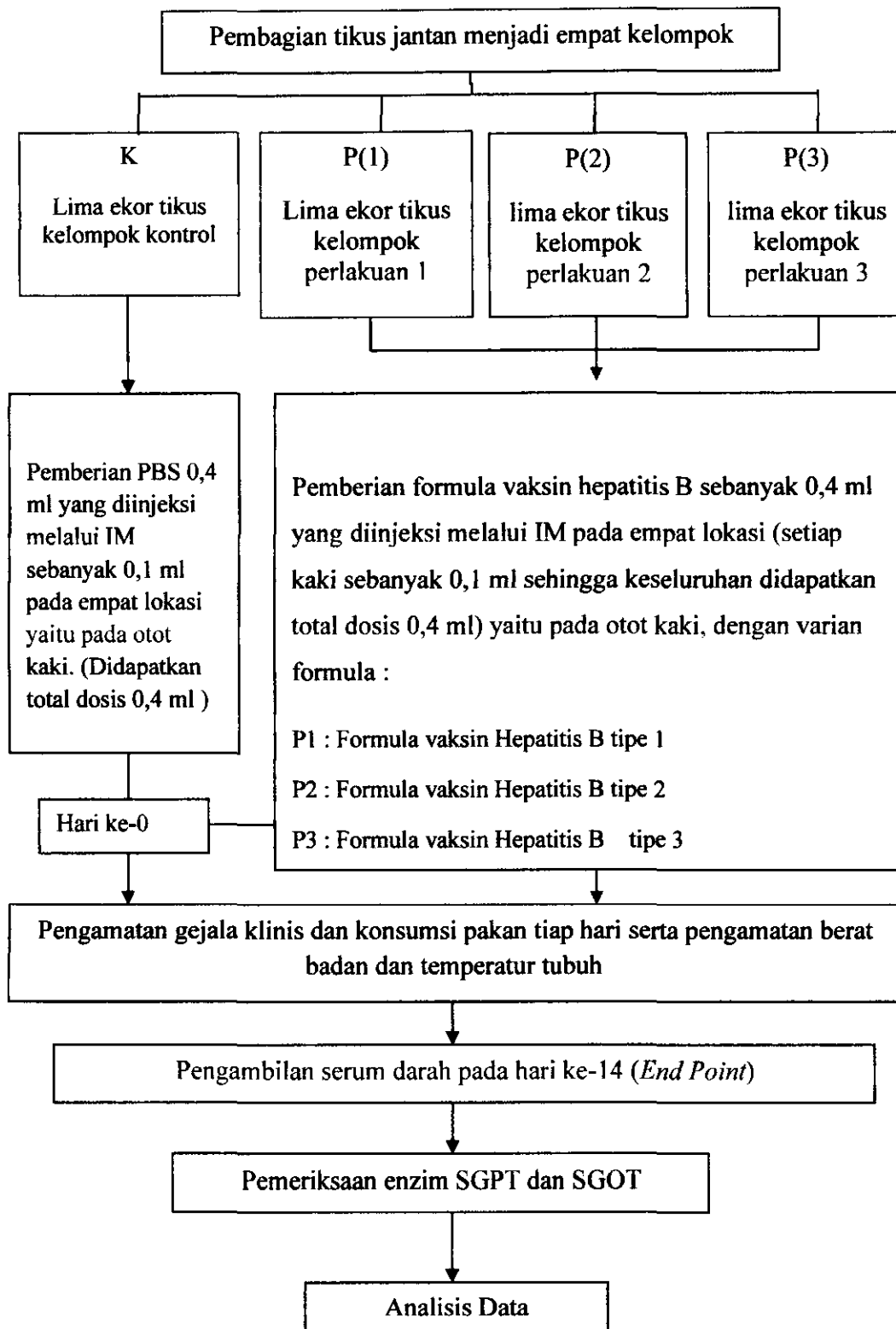
Pemeriksaan SGOT pada penelitian ini dengan menggunakan metode *optimized UV test* Sebanyak 1000  $\mu\text{L}$  reagen GOT dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  serum lalu dihomogenkan dengan bantuan vortex. Kemudian dilakukan pembacaan absorbansi dengan

spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm dengan faktor konversi sebesar 1745 untuk mendapatkan kadar SGOT (Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia nomer 7 tahun 2014). Kadar SGOT dinyatakan dalam satuan international unit/liter (IU/L) (Lampiran 2). Nilai normal SGOT tikus jantan adalah 45,7 – 80,8 IU/L (Kusumawati, 2004). Pemeriksaan SGOT tercantum pada Lampiran 2

### **3.8 Analisis Data**

Hasil pengamatan pada penelitian ini dilakukan secara kuantitatif sehingga data yang didapat selanjutnya dianalisis menggunakan uji *ANOVA* (*Analysis Of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range* menggunakan *Statistical Program and Service Solution (SPSS)*.

### 3.9 Diagram Alir Penelitian



**BAB 4**  
**HASIL PENELITIAN**



## **BAB 4 HASIL PENELITIAN**

Penelitian tentang kadar SGPT dan SGOT tikus jantan (*Rattus norvegicus*) setelah disuntik dosis tunggal formula vaksin hepatitis B diperoleh hasil sebagai berikut :

### **4.1 Pengelompokan Hewan Coba**

Hewan Coba dalam penelitian ini sebanyak dua puluh ekor tikus jantan *Specific Pathogenic Free (SPF)* umur 8 minggu yang terbagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol yang disuntik 0.4 ml larutan *Phosphat Buffer Saline* secara intramuskular , kelompok perlakuan 1 yang disuntik 0.4 ml formula vaksin hepatitis B tipe 1 secara intramuskular, kelompok perlakuan 2 yang disuntik 0.4 ml formula vaksin hepatitis B tipe 2 secara intramuskular , dan kelompok perlakuan 3 yang disuntik 0.4 ml formula vaksin hepatitis B tipe 3 secara intramuskular. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus jantan.

### **4.2 Hasil pemeriksaan dan analisis data SGPT**

Pemeriksaan enzim SGPT pada sampel serum darah dalam penelitian ini menggunakan metode *optimized UV test*, hasil pemeriksaan kadar SGPT dapat dilihat pada lampiran 3. Rata-rata dan simpangan baku kadar SGPT tikus jantan dapat dilihat pada tabel 4.2.1

Tabel 4.2 Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) SGPT tikus jantan (IU/L).

Kelompok Perlakuan	Mean $\pm$ SD
Kontrol	40.40 <sup>a</sup> $\pm$ 9.20
P1 (Perlakuan 1)	33.33 <sup>a</sup> $\pm$ 15.51
P2 (Perlakuan 2)	35.67 <sup>a</sup> $\pm$ 11.27
P3 (Perlakuan 3)	29.00 <sup>a</sup> $\pm$ 11.35

Superskrip : Huruf yang sama pada tiap variabel menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar kelompok ( $p > 0.05$ )

Dapat diketahui bahwa hasil analisis data SGPT yang diperoleh berdasarkan uji *ANOVA* untuk semua parameter antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1,2, dan 3 didapatkan nilai signifikansinya yaitu  $p = 0.484$  ( $p > 0.05$ ) sehingga tidak ada perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3 sehingga disimpulkan bahwa pemberian 0.4 ml formula vaksin hepatitis B tipe 1, tipe 2, dan tipe 3 secara intramuskular pada tikus jantan tidak memberikan pengaruh terhadap kadar SGPT tikus jantan.

### 4.3 Hasil pemeriksaan dan analisis data SGOT

Pemeriksaan enzim SGOT pada sampel serum darah dalam penelitian ini menggunakan metode *optimized UV test* hasil pemeriksaan dapat dilihat pada lampiran 6. Nilai rata-rata dan simpangan baku kadar SGPT tikus jantan dapat dilihat pada tabel 4.3.1.

Tabel 4.3 Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) SGOT tikus jantan (IU/L)

Kelompok Perlakuan	Mean $\pm$ SD
Kontrol	129.80 <sup>a</sup> $\pm$ 27.04
P1 (Perlakuan 1)	114.66 <sup>a</sup> $\pm$ 27.94
P2 (Perlakuan 2)	130.66 <sup>a</sup> $\pm$ 52.03
P3 (Perlakuan 3)	110.33 <sup>a</sup> $\pm$ 14.87

Superskrip : Huruf yang sama pada tiap variabel menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar kelompok ( $p > 0.05$ )

Dapat diketahui bahwa hasil analisis data SGOT yang diperoleh berdasarkan uji *ANOVA* untuk semua parameter antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1,2, dan 3 didapatkan nilai signifikansinya yaitu  $p = 0.696$  ( $p > 0.05$ ) sehingga tidak ada perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3 sehingga disimpulkan bahwa pemberian 0.4 ml formula vaksin hepatitis B tipe 1, tipe 2, dan tipe 3 secara intramuskular pada tikus jantan tidak memberikan pengaruh terhadap kadar SGOT tikus jantan.

**BAB 5**  
**PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan hewan coba 20 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan 5 ulangan. Kelompok kontrol diberikan larutan *phosphat buffer saline* 0,4 ml secara injeksi intramuskular, sedangkan kelompok perlakuan 1 diberikan 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 1, kelompok perlakuan 2 diberikan 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 2, dan kelompok perlakuan 3 diberikan 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 3 dengan cara injeksi intramuskular. Penelitian ini dilakukan pada Kandang Hewan Coba yang telah memenuhi standar dan Laboratorium Kesehatan Daerah dengan penggunaan hewan coba yang seragam dan SPF (*Specific Pathogenic Free*).

Tikus sebagai hewan coba merupakan wakil dari kelompok rodensia, tikus putih merupakan spesies ideal untuk pengujian karena tikus mempunyai fisiologis yang hampir sama dengan manusia selain itu, tikus lebih mudah dipegang, dikendalikan, dan mudah beradaptasi dengan lingkungan baru. Penggunaan tikus terhadap uji toksisitas infeksi hepatitis B akan membantu pemahaman dari patogenesis antara virus hepatitis B pada hewan dan virus hepatitis B pada manusia.

Uji toksisitas bertujuan untuk melihat keamanan dari formula vaksin Hepatitis B yang akan digunakan. Uji toksisitas menurut Peraturan Kepala Obat dan Makanan Republik Indonesia nomer 7 tahun 2014 tentang pedoman uji toksisitas nonklinik secara *invivo* bahwa pengamatan uji toksisitas dilakukan setiap hari selama sekurang-kurangnya 14 hari, maka dari itu dilakukan *end point* pada hari ke-14 untuk mengetahui efek toksikologi salah satunya melalui pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT.

Pemeriksaan kadar SGPT dan SGOT sangat perlu dilakukan mengingat formula vaksin hepatitis B melewati peredaran darah dan melewati semua organ khususnya organ hepar untuk memastikan apakah virus yang dilemahkan tersebut masih memiliki sifat patogen dan menimbulkan kerusakan pada organ hepar yang dilalui. Kerusakan hepatoseluler dapat diidentifikasi dengan meningkatnya kadar enzim SGPT dan SGOT.

Hepar merupakan pusat terjadinya proses metabolisme dalam tubuh. Salah satu indikator kerusakan sel-sel hati adalah meningkatnya kadar enzim-enzim hati dalam serum. Enzim yang digunakan untuk pengukuran kerusakan organ hepar adalah *Alanine Aminotransferase* (ALT) atau SGPT dan *Aspartate Aminotransferase* (AST) atau SGOT. Pada keadaan normal kadar enzim SGPT dan SGOT di dalam darah rendah karena terdapat didalam sel, tetapi jika terjadi kerusakan jaringan maka sel akan pecah dan enzim-enzim akan terurai keluar dari hepatosit masuk kedalam sistem peredaran darah, sehingga

kadarnya dalam darah akan meningkat dibandingkan dengan yang normal ( Suryaningsih dkk., 2017).

### **5.1 Pengaruh pemberian dosis tunggal vaksin hepatitis B terhadap gambaran kadar SGPT**

Pada penelitian ini, pengukuran terhadap kadar enzim SGPT dilakukan pada hari ke-14 dengan metode *optimized UV test* setelah hewan coba diinjeksi formula vaksin hepatitis B secara intramuskular pada hari ke-0. Pemeriksaan ini dilakukan pada 20 tikus jantan untuk mengetahui kadar enzim SGPT.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian 0,4 ml formula vaksin hepatitis B secara injeksi intramuskular pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) tidak memberikan pengaruh terhadap kadar enzim SGPT tikus jantan. Dari hasil analisis statistik *Analisis Of Variance* (Lampiran 5) didapatkan nilai signifikansinya yaitu  $p = 0.484$  ( $p > 0.05$ ) yang artinya tidak terjadi perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3.

Hasil pengukuran SGPT menunjukkan bahwa kadar SGPT hewan coba masih dalam batas normal yaitu 17.5 IU/L – 30.2 IU/L ( Kusumawati, 2004 ) dan tidak ada indikasi kerusakan fungsi hati, sehingga dapat dinyatakan bahwa injeksi 0.4 ml formula vaksin Hepatitis B pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) tidak memberikan pengaruh terhadap fungsi fisiologis hati.

## 5.2 Pengaruh pemberian dosis tunggal vaksin hepatitis B terhadap gambaran kadar SGOT

Pada penelitian ini, pengukuran terhadap kadar enzim SGOT dilakukan pada hari ke-14 dengan metode *optimized UV test* setelah hewan coba diinjeksi formula vaksin hepatitis B secara intramuskular pada hari ke-0. Pemeriksaan ini dilakukan pada 20 tikus jantan untuk mengetahui kadar enzim SGOT.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian 0,4 ml formula vaksin hepatitis B secara injeksi intramuskular pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) tidak memberikan pengaruh terhadap kadar enzim SGOT tikus jantan. Dari hasil analisis statistik *Analisis Of Variance* (Lampiran 8) didapatkan nilai signifikansinya yaitu  $p = 0.696$  ( $p > 0.05$ ) yang artinya tidak terjadi perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3.

Hasil pengukuran SGOT menunjukkan bahwa kadar SGOT hewan coba masih dalam batas normal 45.7 IU/L – 80.8 IU/L dan tidak ada indikasi kerusakan fungsi hati, sehingga dapat dinyatakan bahwa injeksi 0.4 ml formula vaksin Hepatitis B pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) tidak memberikan pengaruh terhadap fungsi fisiologis hati.

## 5.3 Patogenesis Virus Hepatitis B

Sel hati merupakan target organ bagi virus Hepatitis B. Virus Hepatitis B mula-mula melekat pada reseptor spesifik di membran sel hepar



kemudian penetrasi ke dalam sitoplasma sel hepar. Virus melepaskan mantelnya disitoplasma, melepaskan nukleokapsid yang selanjutnya nukleokapsid akan menembus sel dinding hati. Asam nukleat VHB akan keluar dari nukleokapsid dan akan menempel pada DNA hospes dan berintegrasi pada DNA tersebut. Proses selanjutnya adalah DNA VHB memerintahkan sel hati untuk membentuk protein bagi virus baru. Virus Hepatitis B dilepaskan ke peredaran darah, terjadi mekanisme kerusakan hati yang kronis disebabkan karena respon imunologik penderita terhadap infeksi (Mustofa & Kurniawaty, 2013).

Respon imun *host* terhadap antigen virus merupakan faktor penting terhadap kerusakan hepatoseluler dan proses klirens virus, makin lengkap respon imun, makin besar klirens virus dan semakin berat kerusakan sel hati. Respon imun *host* dimediasi oleh respon seluler terhadap epitop protein VHB, terutama HBsAg yang ditransfer ke permukaan sel hati. *Human Leukocyte Antigen* (HLA) *class I-restricted CD8+ cell* mengenali fragmen peptida VHB setelah mengalami proses intrasel dan dipresentasikan ke permukaan sel hati oleh molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) kelas I. Proses berakhir dengan penghancuran sel secara langsung oleh Limfosit T sitotoksik CD8+ (Hardjoeno, 2007).

**BAB 6**

**KESIMPULAN DAN SARAN**

## **BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **6.1 Kesimpulan**

1. Pemberian 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 1, tipe 2, dan tipe 3 secara injeksi intramuskular pada tikus jantan tidak berpengaruh terhadap kadar enzim SGPT tikus jantan.
2. Pemberian 0,4 ml formula vaksin Hepatitis B tipe 1, tipe 2, dan tipe 3 secara injeksi intramuskular pada tikus jantan tidak berpengaruh terhadap kadar enzim SGOT tikus jantan.

### **6.2 Saran**

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu perlunya dilakukan kombinasi beberapa uji biokimiawi untuk tes fungsi hati dan tes fungsi organ lain, serta pemeriksaan lain berupa efek toksik dan derajat toksisitas sebelum dilakukan uji klinis sebagai uji lanjutan.

# **RINGKASAN**

## RINGKASAN

**BALQIS AFIFAH.** Hepatitis B merupakan penyakit hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis B famili *hepadnaviridae*, masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia karena menyebabkan peradangan hati akut, dan sebagian kecil kasus berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati dan bisa menyebabkan kematian. Morbiditas Hepatitis B pun sangat tinggi, karena penularannya bisa secara horizontal maupun vertikal. Di Indonesia prevalensi penyakit Hepatitis B adalah sebesar 10 % pengendalian utama yang dirasa paling baik adalah pemberian vaksinasi.

Mengacu pada *World Health Organization* pada tahun 2013 bahwa vaksin termasuk jenis obat maka perlu diuji pra-klinis yang terdiri dari uji toksisitas. Uji toksisitas pra-klinis merupakan tanggung jawab profesi Dokter Hewan karena uji toksisitas dilakukan pada hewan coba. Maka dari itu, Dokter Hewan harus memastikan bahwa vaksin baru harus aman (*zero risk*) sebelum digunakan pada manusia (*uji klinis*). Parameter yang dinilai dalam penelitian ini adalah perubahan fisiologis hepar salah satunya yaitu kadar enzim SGPT dan SGOT mengingat enzim tersebut diproduksi oleh hepar yang merupakan organ sasaran virus Hepatitis B, disamping vaksin Hepatitis B yang umumnya menggunakan *Live Attenuated Vaccine* yang artinya virus masih bisa melakukan replikasi khususnya pada organ hepar.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis tunggal vaksin Hepatitis B yang diberikan secara injeksi intramuskular terhadap kadar SGPT dan SGOT tikus jantan, serta untuk mengoptimalkan kinerja Dokter Hewan sebagai profesi yang bertanggung jawab penuh atas penanggulangan penyakit pada hewan dan manusia. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa tidak adanya perubahan kadar SGPT dan SGOT yang signifikan pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang artinya vaksin Hepatitis B dari pabrik ini aman untuk selanjutnya diuji klinis kepada manusia.

# **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Ait-goughoulte, M., J.Lucifora., F. Zoulim., D. Durantel. 2010. Innate Antiviral Immune Responses to Hepatitis B Virus. *Viruses* 2. 1394-1410; doi:10.3390/v2071394.
- Asdie A.H., P. Wiyono., P. Rahardjo., Triwibowo., S.N. Marcham., W. Danawati. 2012. Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam. Edisi ke-13. Jakarta: EGC. Halaman 1623-1624.
- Astuti, H.P dan K. Estri. 2014. Kajian Efektivitas Pemberian Vaksinasi Hepatitis B terhadap Pembentukan Antibodi Anti HBs. Prodi D-III Kebidanan STIKes Kusuma Husada Surakarta. Surakarta.
- Bijanti, R., A.Y.M. Gandul., S.W. Retno., U.R. Budi, 2010. Buku Ajar Patologi Klinik Veteriner. Edisi 1. Airlangga University Press. Surabaya.
- BPOM. 2014. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta : Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Viral Hepatitis. Hepatitis B General Fact ; 21(1073): 1-2.
- Chen Ding-Shinn. 2009. Hepatitis B vaccination: The key towards elimination and eradication of hepatitis B. *Journal of Hepatology* 50:805–816.
- Citraningputri, I. 2016. Penapisan Hepadnavirus secara Serologik dan Molekuler pada Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) di Habitat Ex-situ [Thesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Hal: 7
- Collin, N. 2012. The Vaccine Formulation Laboratory. // [http://www.who.int/phi/Day2\\_Session8\\_UNIL\\_Collin.pdf](http://www.who.int/phi/Day2_Session8_UNIL_Collin.pdf). [17 Januari 2018].
- Dangi, A.A.,N.R. Sheth, H.H. Sodha., P.C. Joshi., D.S. Bhalodiya., A.C. Pachal, and P.R. Ramanuj., 2011. Formulation and Development of Vaccines and Their Selection For Next Generation. *Bulletin of Pharmaceutical Research*. 1(3): 49-62.
- Degli Esposti S & D. Shah . 2011. Hepatitis B in pregnancy: challenges and treatment. *Gastroenterol Clin North Am*.40(2):355–372.
- Departemen Kesehatan R.I.Farmakope Indonesia, 1995. Edisi IV. Indonesia



- Dian A.P., A. Sukmaning., L.V.P. Octavia., A. Ridha., J.M.S. Larastuti., K. Megan., I.N.R. Anietta., W. Rany., H.F.J. Ria. 2012. Farmakoterapi Sirosis Hepatik. Fakultas Farmasi Klinik. Universitas Airlangga Surabaya
- Gajawat S., G. Sancheti., and Goyal. 2006. Protection Against Lead Induced Hepatic Lesion in Swiss Albino Mice by absorbis Acid. *Pharmacologionline*. 1 :140-149.
- Gentile I& G. Borgia . 2014. vertical transmission of hepatitis B virus: challenges and solutions. *International Journal of Women's Health*. 6:605–611.
- Gorosia J., C. Kamariya ., U. Vacchani. 2013. Requirement of Newer Parameters to Replace Conventional Liver Function Tests fo Differentiaton of Liver Disease from Non-Liver Disease. *International Journal of Scientific and Research Publications*, Vol.3 (8).
- Hardjoeno U.L. 2007. Kapita Selektta Hepatitis Virus dan Interpretasi Hasil Laboratorium. Makassar:Cahya Dinan Rucitra. Halaman 5-14.
- Health and science bulletin. 2011. The role of biosafety level 3 laboratory in Bangladesh;9(3):2-8.
- Hipgrave D.B., T.N.A.M. Tran., V.U.M. Huong., D. Do Tuan.,N.T. Nga., H.T. Long, N.T.H.U.Van., J.E. Maynard., B.A.N.N. Biggs. 2006. Immunogenicity of a locally produced hepatitis B vaccine with the birth dose stored outside the cold chain in rural Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*;74:255–260.
- Hodgson, E dan L.E Patricia.2004. A Textbook of Modern Toxicolog, third edition.
- Hou J, Z. Liu ., F. Gu . 2005. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. *Int J Med Sci*. 2(1):50-57.
- Hunt R. 2011. Hepatitis Viruses. Dalam web <http://pathmicro.med.sc.edu/virol/hepatitis-virus.htm>. [10 November 2017]
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Situasi dan Analisis Hepatitis. Jakarta Selatan : Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kistner, O. 2003. Baxter Vaccine AG, A Novel Cell-Derived Influenza Vaccines. National Influenza Summit. Chicago.

- Krugman S, J.P Giles., J. Hammond. 1971. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain) prevention with specific hepatitis B immune serum globulin. *JAMA*. 1971 Dec 13;218(11):1665–1670.
- Kumar M., S. Tarandeep , S. Sinha. 2012. Chronic Hepatitis B Virus Infection and Pregnancy.
- Kundi M. 2007. New hepatitis B vaccine formulated with an improved adjuvant system. *Expert Rev Vaccines*;6 :133–140.
- Kusumawati, D.2004. BersahabatdenganHewanCoba. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Kusriningrum. 2011. Dasar Rancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lavanchy D. 2004. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat*. 11:97-107.
- Lok A.S., E.J. Heathcote., J.H Hoofnagle . 2001. Management of Hepatitis B: 2000—Summary of a Workshop. *Gastroenterology* 120:1828–1853.
- Lu X & Block T. 2004. Study of the early steps of the Hepatitis B Virus life cycle. *Int J Med Sci* 1(1):21-33.
- Malole M.B.M dan U.S.C. Pramono. 1989. Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium. Pusat antar universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Manabe Yukari C., A.K. Kesavan., M.J. Lopez., C.L Hatem., M. Brooks., R. Fujiwara.,K. Hochstein., M.L. Pitt., J. Tufariello., J. Chan., D.N McMurray., W.R Bishai., A.M. Dannenberg., S. Mendez. 2008. The aerosol rabbit model of TB latency, Reactivation and Immune reconstituen inflammatory syndrome. *Tuberculosis*. 2008;88 :187-196.
- Mangkoewidjojo,S. 2003. Hewan, Eksperimentasi Hewan, Profesi Dokter Hewan, Peranan dan Masalahnya di Bidang Biomedik. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Indonesia.
- Marice, S dan T. Sulistyowati. 2011. Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda : *Jurnal Veteriner*.
- Myres, P. dan D. Armitage. 2004. *Rattus norvegicus*, Animal Diversity Web,[http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus\\_norvegicus](http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus). [ 18 November 2017]

- Ni Y H., L.M.. Huang., M.H. Chan., C.J. Yen., C.Y. Lu., S.L, You. 2007. Two decades of universal hepatitis B vaccination in Taiwan: impact and implication for future strategies. *Gastroenterology* 132: 1287–1293.
- Persatuan Ahli Penyakit Dalam Indonesia. 2004. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1 Edisi Ketiga*. Jakarta. Balai Penerbit FKUI.
- Piratvisuth T. 2013. Optimal management of HBV infection during pregnancy. *Liver Int.* 33(Suppl 1):188–194.
- Podolsky D.K. and K.J Isselbacher. 2000. Tes diagnostik pada penyakit hati. Dalam : H., dan Asdie. *Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam*, edisi 3 Jilid 4. Jakarta:ECG.hal. 1623-1624
- Rasmaliah. 2005. Infeksi Virus Hepatitis B dan Pencegahannya. *Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara*. Halaman 205 – 208.
- Riset Kesehatan Dasar. 2007. *Laporan Nasional 2007 : Badan peneliti dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan, Republik Indonesia*.
- Risqa Novita. 2015. Pemilihan Hewan Coba pada Penelitian Pengembangan Vaksin Tuberculosis. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* . Vol.4.1.2015:15-23. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes.
- Riswanto. 2009. Tes Kimia Darah. *Laboratorium Kesehatan*. Dalam web <http://labkesehatan.blogspot.co.id/2009/12/sgot-serum-glutamic-oxaloacetic.html> [Diakses pada tanggal 10 Januari 2018]
- Sativani I. 2010. Pengaruh Pemberian Dexametason Dosis Bertingkat Per Oral 30 hari Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus Wistar. *Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*.
- Shapira M Y., E. Zeira ., R. Adler., D. Shouval. 2001. Rapid seroprotection against hepatitis B following the first dose of a pre-S1/ pre-S2/ S vaccine. *J Hepatol* 34 :123–127.
- Sinoussi F., J.C Chermann., F. Rey., M.T Nugeyre., S. Charmaret., J. Gruest., C. Dauquet., B.C. Axler., B.F Vezinet., C. Rouzioux., W. Rozenbaum., L. Montaigner. 1983. Isolation of T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk of acquired immune deficiency syndrome. *Paris, France*.
- Sudoyo A.W., B. Setiyohadi., I. Alwi.,S. Simadibrata., S. Setiati. 2010. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam jilid 3, edisi 5*. Jakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Sukandar, Y.E. 2004. *Tren dan Paradigma Dunia Farmasi Industri Klinik Teknologi Kesehatan*. Departemen Farmasi. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

- The Institutional Animal Care And Use Committee. 2017 . Guidelines: Anesthesia. Dalam web : <https://animal.research.uiowa.edu/iacuc-guidelines-anesthesia> [15 November 2017].
- Tedja M.D. 2002. Dasar molekuler kegagalan deteksi serologis hepatitis B [tesis]. Jakarta (ID): Universitas Indonesia.
- Triakoso, B. 2003. Pemikiran menuju Kebijakan Peraturan di Bidang Hewan Laboratorium. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Indonesia.
- Triakoso, N. 2016. Buku Ajar Penyakit Dalam Veteriner Anjing dan Kucing; ISBN 978-602-0820-84-2 : Airlangga University Press
- Widdman F.K. 1989. Tinjauan Klinis atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Edisi ke-9. Jakarta (ID):EGC
- Wolfensohn, S. and M.Lloyd.2013. Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 4th Edition. USA : Blackwell science.
- World Health Organization.2003. Guidelines Of Non-Clinical Evaluation Of Vaccines. Dalam website resmi: [www.who.int](http://www.who.int) [15 November 2017].
- World Health Organization.2017. Hepatitis B. Dalam wesite resmi: [www.who.int](http://www.who.int) [15 November 2017].
- Young M D, D.L. Schneider., A.J. Zuckerman., W. Du., B. Dickson, W.C. Maddrey. 2001. Adult hepatitis B vaccination using a novel triple antigen recombinant vaccine. *Hepatology* 34:372–376.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Pemeriksaan kadar SGPT (*Serum Glutamat Piruvat Transaminase*)

### Prinsip :

Penetapan kadar SGPT dilakukan dengan metode *optimized UV test*. L-alanin (pereaksi A) dan 2-oksoglutarat (pereaksi B) dengan adanya GPT akan menjadi L-glutamat dan piruvat, hasil urai tersebut dengan adanya NADH akan direduksi menghasilkan l-laktat dan NAD<sup>+</sup>. Jumlah hasil urai yang terbentuk diukur absoransinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm pada suhu 37°C tepat pada menit ke-1 sebagai (A1), menit ke-2 sebagai (A2) dan menit ke-3 sebagai (A3). Kadar SGPT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi setiap menit dikali faktor 1745.

### Bahan :

1. Serum Uji
2. Pereaksi Uji terdiri dari campuran 4 bagian pereaksi A dan 1 bagian pereaksi B.

Pereaksi A =

✦ 100 mM TRIS Ph 7.15

✦ 500 mM L-alanin

✦ ≥ 1700 U/LDH

Pereaksi B =

✦ 15 mM 2-oksaloglutarat

↓ 0.18 mM NADH

**Alat :**

1. Spektrofotometer
2. Penangas Air
3. Vortex
4. Tabung reaksi ukuran 5 ml
5. Pipet Eppendrof 100  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L
6. Tip Eppendrof kuning dan biru

**Prosedur :**

Sejumlah 100  $\mu$ L serum uji direaksikan dengan 1000  $\mu$ L pereaksi uji untuk pemeriksaan SGPT dalam tabung reaksi 5 ml, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C tepat setelah menit ke 1, 2 dan 3 pada panjang gelombang 340 nm. Hal yang sama dilakukan terhadap blanko (pereaksi + aquades). Kadar SGPT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi sampel permenit dikalikan faktor 1745.

Rumus yang digunakan

$$\Delta A \text{ sampel adalah } \frac{(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1)}{2}$$

2

$$\Delta A \text{ blanko adalah } \frac{(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1)}{2}$$

2

$\text{SGPT (U/l)} = (\Delta A \text{ sampel} - \Delta A \text{ blanko}) \times \text{faktor 1745}$
---

## Lampiran 2. Pemeriksaan kadar SGOT (*Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase*)

### Prinsip :

Penetapan kadar SGOT dilakukan dengan metode *optimized UV test*. L-aspartat (pereaksi A) dan 2-oksoglutarat (pereaksi B) dengan adanya GOT akan menjadi L-glutamat dan oksaloasetat, hasil urai tersebut dengan adanya NADH akan direduksi menghasilkan l-malat dan NAD<sup>+</sup>. Jumlah hasil urai yang terbentuk diukur absoransinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm pada suhu 37°C tepat pada menit ke-1 sebagai (A1), menit ke-2 sebagai (A2) dan menit ke-3 sebagai (A3). Kadar GPT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi setiap menit dikali faktor 1745.

### Bahan :

1. Serum Uji
2. Pereaksi Uji terdiri dari campuran 4 bagian pereaksi A dan 1 bagian pereaksi B

Pereaksi A =

- ✦ 80 mM TRIS Ph 7.8
- ✦ 240 mM L-aspartat
- ✦  $\geq 600$  U/I MDH
- ✦  $\geq 600$  U/I LDH

Pereaksi B =

- ✦ 12 mM 2-oksaloglutarat
- ✦ 0.18 mM NADH



**Alat :**

1. Spektrofotometer
2. Penangas Air
3. Vortex
4. Tabung reaksi ukuran 5 ml
5. Pipet Eppendrof 100  $\mu\text{L}$ , 1000  $\mu\text{L}$
6. Tip Eppendrof kuning dan biru

**Prosedur :**

Sejumlah 100  $\mu\text{L}$  serum uji direaksikan dengan 1000  $\mu\text{L}$  pereaksi uji untuk pemeriksaan SGOT dalam tabung reaksi 5 ml, dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C tepat setelah menit ke 1, 2 dan 3 pada panjang gelombang 340 nm. Hal yang sama dilakukan terhadap blangko (pereaksi + aquades). Kadar SGOT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi sampel permenit dikalikan faktor 1745.

Rumus yang digunakan

$$\Delta A \text{ sampel adalah } \frac{(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1)}{2}$$

2

$$\Delta A \text{ blangko adalah } \frac{(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1)}{2}$$

2

$\text{SGOT (U/l)} = (\Delta A \text{ sampel} - \Delta A \text{ blangko}) \times \text{faktor 1745}$
--

**Lampiran 3. Tabel Hasil data pemeriksaan SGPT (IU/L)****Tabel Perlakuan 1 (P1)**

Tabel Perlakuan 1 (P1)		
1	P1.1	26.00
2	P1.2	33.33
3	P1.3	33.33
4	P1.4	16.00
5	P1.5	58.00

**Tabel Perlakuan 2 (P2)**

Tabel Perlakuan 2 (P2)		
1	P2.1	35.67
2	P2.2	40.00
3	P2.3	18.00
4	P2.4	35.67
5	P2.5	49.00

Tabel Perlakuan 3 (P3)

1	P3.1	24.00
2	P3.2	29.00
3	P3.3	20.00
4	P3.4	29.00
5	P3.5	43.00

Tabel Kontrol (K)

1	K.1	33.00
2	K.2	28.00
3	K.3	47.00
4	K.4	47.00
5	K.5	47.00

**Lampiran 4. Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) kadar SGPT (IU/L)**

Kelompok Perlakuan	Mean $\pm$ SD
Kontrol	40.40 <sup>a</sup> $\pm$ 9.20
P1 (Perlakuan 1)	33.33 <sup>a</sup> $\pm$ 15.51
P2 (Perlakuan 2)	35.67 <sup>a</sup> $\pm$ 11.27
P3 (Perlakuan 3)	29.00 <sup>a</sup> $\pm$ 11.35

Superskrip : Huruf yang sama pada tiap variabel menunjukkan persamaan yang bermakna antar kelompok ( $p > 0.05$ )

**Lampiran 5. Hasil analisis data (*Analisis Of Variance*) Variabel SGPT**

**Descriptives**

SGPT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	40,400 0	9,20869	4,11825	28,9659	51,8341	28,00	47,00
2	5	33,332 0	15,51344	6,93782	14,0695	52,5945	16,00	58,00
3	5	35,668 0	11,27682	5,04315	21,6660	49,6700	18,00	49,00
4	5	29,000 0	8,68907	3,88587	18,2111	39,7889	20,00	43,00
Total	20	34,600 0	11,35846	2,53983	29,2841	39,9159	16,00	58,00

(IU/L)

**ANOVA**

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	338,742	3	112,914	,855	,484
Within Groups	2112,533	16	132,033		
Total	2451,276	19			

**Keterangan =**

- Kode 1 = Kontrol ( Phosphat Buffer Saline)**  
**Kode 2 = Perlakuan 1 ( Formula vaksin hepatitis B tipe 1)**  
**Kode 3 = Perlakuan 2 ( Formula vaksin hepatitis B tipe 2)**  
**Kode 4 = Perlakuan 3 ( Formula vaksin hepatitis B tipe 3)**

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### SGPT

Duncan<sup>a</sup>

PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05
		1
4	5	29,0000
2	5	33,3320
3	5	35,6680
1	5	40,4000
Sig.		,167

Means for groups in homogeneous subsets  
are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

**Lampiran 6. Tabel Hasil Pemeriksaan SGOT (IU/L)**

Tabel Perlakuan 1 (P1)

1	P1.1	113.00
2	P1.2	114.67
3	P1.3	114.67
4	P1.4	76.00
5	P1.5	155.00

Tabel Perlakuan 2 (P2)

1	P2.1	130.67
2	P2.2	189.00
3	P2.3	48.00
4	P2.4	130.67
5	P2.5	155.00

Tabel Perlakuan 3 (P3)

1	P3.1	109.00
2	P3.2	110.33
3	P3.3	90.00
4	P3.4	110.33
5	P3.5	132.00

Tabel Kontrol (K)

1	K.1	92.00
2	K.2	110.00
3	K.3	149.00
4	K.4	149.00
5	K.5	149.00



**Lampiran 7. Nilai Rataan dan Standar Deviasi (SD) kadar SGOT (IU/L)**

KelompokPerlakuan	Mean $\pm$ SD
Kontrol	129.80 <sup>a</sup> $\pm$ 27.04
P1 (Perlakuan 1)	114.66 <sup>a</sup> $\pm$ 27.94
P2 (Perlakuan 2)	130.66 <sup>a</sup> $\pm$ 52.03
P3 (Perlakuan 3)	110.33 <sup>a</sup> $\pm$ 14.87

Superskrip : Huruf yang sama pada tiap variabel menunjukkan persamaan yang bermakna antar kelompok ( $p > 0.05$ )

**Lampiran 8. Hasil analisis (*Analysis Of Variance*) Variabel SGOT (IU/L)**

**Descriptives**

SGOT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	129,8000	27,04995	12,09711	96,2130	163,3870	92,00	149,00
2	5	114,6680	27,94936	12,49933	79,9643	149,3717	76,00	155,00
3	5	130,6680	52,03044	23,26872	66,0637	195,2723	48,00	189,00
4	5	110,3320	14,87167	6,65081	91,8664	128,7976	90,00	132,00
Total	20	121,3670	31,94251	7,14256	106,4174	136,3166	48,00	189,00

**Test of Homogeneity of Variances**

SGOT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,082	3	16	,385

**ANOVA**

SGOT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1621,360	3	540,453	,487	,696
Within Groups	17764,800	16	1110,300		
Total	19386,160	19			

**Keterangan =**

- Kode 1 = Kontrol ( Phosphat Buffer Saline)**  
**Kode 2 = Perlakuan 1 ( Formula vaksin hepatitis B tipe 1)**  
**Kode 3 = Perlakuan 2 ( Formula vaksin hepatitis B tipe 2)**  
**Kode 4 = Perlakuan 3 ( Formula vaksin hepatitis B tipe 3)**