

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK TANAMAN TERONG CEPOKA
(*Solanum torvum* s) DAN BIJI KAPUK (*Ceiba pentandra* l)
TERHADAP KADAR MDA (*Malondialdehid*) DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
HEWAN COBA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*)**

SKRIPSI

OLEH:

KAMA MASSANTA KHOLQI SUSENO

NIM. 155130107111015



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2019

repository.ub.ac.id

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK TANAMAN TERONG CEPOKA
(*Solanum torvum* s) DAN BIJI KAPUK (*Ceiba pentandra* l)
TERHADAP KADAR MDA (*Malondialdehid*) DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
HEWAN COBA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

KAMA MASSANTA KHOLQI SUSENO

NIM. 155130107111015



PROGRAM STUDI KEDOKTERANHEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2019

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Terong Cepoka (*Solanum torvum swartz*) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra l*) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehid*) dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Oleh:

155130107111015

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji

pada tanggal 16 Juli 2019

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr.Ir.Chanif Mahdi, MS

NIP. 19520412 198002 1 001

drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet

NIP. 198805 18201504 1 003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Dr.Ir Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc

NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kama Massanta Kholqi Suseno
NIM : 155130107111015
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

"Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Terong Cepoka (*Solanum torvum s*) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra l*) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehid*) dan Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)"

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 16 Juli 2019
Yang menyatakan,

Kama Massanta K.S
NIM.155130107111015

repository.ub.ac.id

Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Terong Cepoka (*Solanum torvum s*) Dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra l*) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehid*) dan Gambaran Histopatologi Hepar pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

ABSTRAK

Kebutuhan masyarakat dalam negeri terhadap konsumsi daging dan telur asal ternak hewan sapi, ayam, kambing dan domba terus meningkat.. Tanaman terong cepoka dan biji kapuk merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai konsentrat pada hewan ternak monogastrik maupun poligastrik. Terong cepoka mengandung solasodin dan biji kapuk mengandung gosipol bersifat sitotoksik nantinya akan memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menunjukkan kerusakan secara luas menyeluruh dikarenakan mekanisme radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif dalam tubuh. Akibat peningkatan dari jumlah radikal bebas dan penurunan antioksidan ini akan menginisiasi adanya peroksidasi lipid dalam sel yang menghasilkan produk akhir MDA sehingga menyebabkan permeabilitas membran sampai kerusakan jaringan. Pada penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Wistar* berumur 10-12 minggu dan memiliki berat badan antara 150-300 g. Penelitian ini dilakukan pemberian *per-oral* dengan kelompok kontrol negatif (K-) tanpa diberi perlakuan apapun, kelompok (P1) ekstrak terong cepoka dosis 1 g/kg BB dan kelompok (P2) ekstrak biji kapuk dosis 0,1 g/kgBB. Analisa secara kuantitatif dilakukan pada pengukuran MDA serum menggunakan ELISA yang selanjutnya hasil tersebut ke pengolahan data dengan Microsoft Excel dan statistical Product of Service Solution (SPSS) 16.0 dan uji lanjutan dengan uji Tukey atau BNJ dengan $\alpha = 0,05$. Analisa kualitatif untuk histopatologi hepar dilakukan dengan membandingkan gambaran histopatologi hepar dari masing-masing kelompok perlakuan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diantara perlakuan pemberian ekstrak biji kapuk (P2) berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap peningkatan kadar MDA dan terdapat kerusakan gambaran histopatologi hepar pada kelompok P1 dan P2. Pemberian ekstrak terong cepoka dengan dosis 1 g/kg BB tidak meningkatkan kadar MDA tetapi mampu mengakibatkan kerusakan histopatologi hepar. Pemberian ekstrak biji kapuk dengan dosis 0,1 g/kgBB mampu meningkatkan kadar MDA dan menyebabkan kerusakan histopatologi hepar.

Kata Kunci: Ekstrak Terong Cepoka, Ekstrak Biji Kapuk, Serum, *Malondialdehyd* (MDA) dan Histopatologi Hepar.

Toxicity Test of Cepoka Eggplant Plant Extract (*Solanum torvum* Swartz) and Kapuk Seed (*Ceiba pentandra* L) Against MDA (Malondialdehyd) Levels and Liver Histopathology Overview in Animals Trying White Mice (*Rattus norvegicus*)

ABSTRACT

The needs of the domestic community for the consumption of meat and eggs from cattle, chickens, goats and sheep continue to increase. In general, animal feed ingredients are classified into three, namely forage feed, reinforcing feed (concentrate) and additional feed given to livestock such as sheep, cattle, and goats to produce energy, increase protein and form the body. Eggplant cepoka and kapok seeds are plants that are often used as concentrates in monogastric and polygastric farm animals. The eggplant cepoka containing solasodine and kapok seeds containing gopisol is cytotoxic and will trigger the formation of reactive oxygen species (ROS) so that it shows extensive overall damage due to the mechanism of free radicals that can cause oxidative stress in the body. As a result of the increase in the amount of free radicals and the decrease in antioxidants, this will initiate the presence of lipid peroxidation in cells that produce MDA end products, causing membrane permeability to tissue damage. In this study using experimental animals Wistar strain male rats (*Rattus norvegicus*) aged 10-12 weeks and weighing between 150-300 g. This study was administered orally by eggplant cepoka extract and kapok seed extract for 14 days, ie on day 8 to day 17. Negative control group (K-) without any treatment, group (P1) dose of therapy 1 mg / kg BB , group (P2) therapeutic dose 0.1 mg / kg. Quantitative analysis was performed on MDA serum measurements using ELISA reader, which then results in data processing with Microsoft Excel and statistical Product of Service Solution (SPSS) 16.0 for Windows for One Way Analysis of Variance (ANOVA) and follow-up tests with Tukey or BNJ tests. with $\alpha = 0.05$. Qualitative analysis for liver histopathology was carried out by comparing liver histopathology from each treatment group. The results of this study indicate that the administration of eggplant cepoka extract and kapok seeds has significant effect ($P > 0.01$) on the increase in MDA levels in groups P1 and P2 and damage to liver histopathology in groups P1 and P2. Damage to histopathology in groups P1 and P2. The administration of cepoka eggplant extract at a dose of 1 mg / kg BW did not increase MDA levels but was able to increase liver histopathology damage. Giving kapok seed extract at a dose of 0.1 mg / kgBB can increase MDA levels and cause liver histopathology damage.

Keywords: Cepoka Eggplant Extract, Cottonseed, Serum, *Malondialdehyd* (MDA) Seed Extract and Liver Histopathology

KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena atas limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul "**Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Terong Cepoka (*Solanum torvum s*) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra l*) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehid*) dan Gambaran Histopatologi Hepar pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)"**.

Selama proses penulisan dan penyusunan proposal ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr.Ir Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas kepemimpinan dan dukungan demi kemajuan FKH UB.
2. Prof. Dr.Ir.Chanif Mahdi, MS dan drh.Viski Fitri Hendrawan, M.Vet yang telah menyempatkan dan menyisihkan waktunya untuk membimbing penulis pada saat penulisan skripsi ini
3. drh. Desi Wulansari, M.Vet dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si selaku penguji atas tanggapan, kritik dan saran yang telah diberikan.
4. Seluruh dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu selama menjalankan studi di Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya..
5. Pihak dekanat FKH UB yang seringkali memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
6. drh. Desi Wulansari, drh. Viski, drh. Galuh, drh. Yudit atas bimbingannya selama penelitian dan semangat yang selalu diberikan.
7. Seluruh staf dan karyawan FKH UB, yang telah membantu jalannya proses administrasi dalam membuat tugas akhir.
8. Keluarga penulis, Bapak Joko suseno dan Ibu Ratna Panca Mardani yang selalu mendukung penulis dalam segala kondisi.

9. Keluarga IMPROVE yang selalu semangat dan saling menyemangati dalam berbagai kondisi.
10. Kawan-kawan Brachiall Class yang telah menjadi wadah untuk saling sharing dan mengembangkan diri.
11. Kelompok skripsi; Hevin, Kama, Taufiq, Satria, dan Liza atas segala dukungan dan kerjasamanya.
12. Keluarga Kontrakan Berencana yang telah memberikan kenyamanan untuk penulis menyelesaikan tugas akhir
13. Seluruh kolega FKH UB yang selalu memberi keceriaan dan inspirasi.
14. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 16 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN | iii |
| ABSTRAK | iv |
| ABSTRACT | v |
| KATA PENGANTAR..... | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG | xii |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Batasan Masalah..... | 4 |
| 1.4 Tujuan..... | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 Hepar | 6 |
| 2.2 Uji Toksisitas..... | 9 |
| 2.3 Terong Cepoka (<i>Solanum torvum swartz</i>)..... | 11 |
| 2.3.1 Solasodine | 13 |
| 2.3.2 Flavonoid | 14 |
| 2.3.3 Polifenol..... | 15 |
| 2.4 Biji Kapuk (<i>Ceiba pentandra L.</i>)..... | 15 |
| 2.4.1 Gossypol..... | 18 |
| 2.5 Radikal Bebas | 19 |
| 2.6 Peroksidasi Lipid | 20 |
| 2.7 Malondialdehyd..... | 22 |
| 2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 24 |
| BAB 3 KERANGKA TEORI, KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN | 26 |
| 3.1 Kerangka Teori..... | 26 |
| 3.2 Kerangka Konsep | 29 |
| 3.3 Hipotesis Penelitian | 30 |
| BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN | 31 |
| 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian | 31 |
| 4.2 Alat dan Bahan | 31 |
| 4.2.1 Alat | 31 |
| 4.2.2 Bahan..... | 32 |
| 4.3 Tahapan Penelitian | 33 |
| 4.3.1 Sampel Penelitian | 33 |
| 4.3.2 Rancangan Penelitian | 34 |

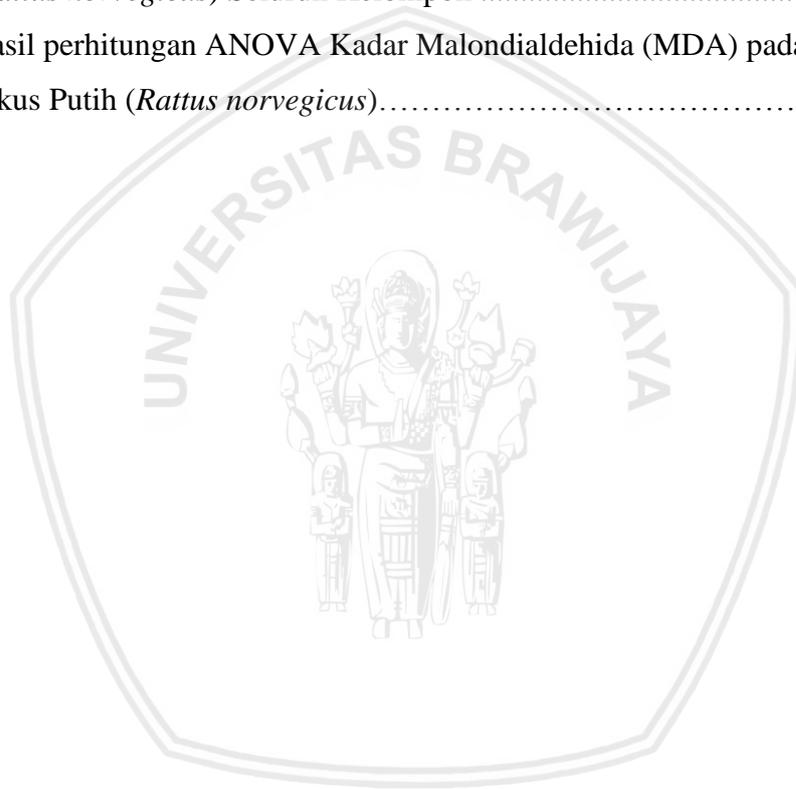


| | |
|---|-----------|
| 4.3.3 Variabel Penelitian | 36 |
| 4.4 Prosedur Kerja | 37 |
| 4.4.1 Persiapan dan Pembuatan Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk | 37 |
| 4.4.2 Persiapan Hewan Coba | 38 |
| 4.4.3 Pemberian Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk..... | 38 |
| 4.4.4. Euthanasi Hewan Coba..... | 39 |
| 4.4.5 Pengambilan Darah Hewan Coba..... | 39 |
| 4.4.6 Pengambilan Sampel Organ | 40 |
| 4.4.7 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA) | 40 |
| 4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar | 42 |
| 4.4.9 Analisis Data | 42 |
| BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN | 44 |
| 5.1 Efek Pemberian Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 44 |
| 5.2 Efek Pemberian Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk Histopatologi Hepar Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 49 |
| BAB 6 PENUTUP | 58 |
| 6.1 Kesimpulan..... | 58 |
| 6.2 Saran..... | 58 |
| DAFTAR PUSTAKA | 59 |
| LAMPIRAN..... | 66 |



DAFTAR TABEL

| Tabel | | Halaman |
|--------------|---|----------------|
| 4.1 | Rancangan Penelitian " <i>Two Ways</i> " | 35 |
| 4.2 | ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>) | 35 |
| 5.1 | Rata-rata Kadar Malondialdehida (MDA) pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Seluruh Kelompok | 44 |
| 5.2 | Hasil perhitungan ANOVA Kadar Malondialdehida (MDA) pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 44 |



DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|----------------|
| 2.3.1 Anatomi Normal Hepar | 6 |
| 2.3.2 Histologi Hepar Normal | 8 |
| 2.3.3 Tanaman Terong Cepoka (<i>Solanum torvum swartz</i>)..... | 12 |
| 2.3.4 Struktur Kimia Solasodin | 13 |
| 2.3.5 Struktur Kimia Flavonoid | 14 |
| 2.3.6 Struktur Kimia Polifenol | 15 |
| 2.4.1 Biji Kapuk (<i>Ceiba panentedra L.</i>) | 17 |
| 2.4.2 Struktur Kimia <i>Gossypol</i> | 18 |
| 2.6.1 Mekanisme Peroksidasi Lipid | 22 |
| 2.7.1 Mekanisme Pembentukan MDA | 23 |
| 2.8.1 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)..... | 24 |
| 3.1 Kerangka Teori Penelitian | 26 |
| 3.2 Kerangka Konsep Penelitian | 29 |
| 5.1 Histopatologi Hepar Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok perlakuan Kontrol (-) | 50 |
| 5.2 Histopatologi Hepar Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dengan dosis 1 mg/kg BB)..... | 50 |
| 5.3 Histopatologi Hepar Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok P2 (pemberian ekstrak biji kapuk dengan dosis 0,1 mg/kg BB) | 51 |



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

| | |
|------------------------------|--|
| % | : Persen |
| ° | : Derajat |
| µL | : Mikro litter |
| ANOVA | : <i>Analysis of variance</i> |
| ADME | : Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan Ekskresi |
| kg | : Kilogram |
| HE | : <i>Hematoxylin Eosin</i> |
| MDA | : <i>Malondialdehyde</i> |
| mL | : Mililiter |
| nm | : Nanometer |
| PUFA | : <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i> |
| RAK | : Rancangan Acak Kelompok |
| ROS | : <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| Rpm | : <i>Rotation per minute</i> |
| O ₂ ^{·-} | : <i>Superoksida</i> |



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kebutuhan masyarakat dalam negeri terhadap konsumsi daging dan telur asal ternak hewan sapi, ayam, kambing dan domba terus meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penduduk, peningkatan taraf ekonomi, kesadaran masyarakat akan gizi, dan keberadaan masyarakat luar negeri yang menyebabkan adanya peningkatan permintaan bahan pangan asal hewan (Khasrad, 2010). Menurut Sudarmono (2008), pada industri ternak secara umum bahan pakan ternak digolongkan menjadi tiga yaitu pakan hijauan, pakan penguat (konsentrat) dan pakan tambahan yang diberikan pada hewan ternak seperti domba, sapi, dan kambing untuk menghasilkan energi, meningkatkan protein dan membentuk tubuh. Pakan hijauan seperti rumput-rumput hijau, untuk pakan penguat atau konsentrat memanfaatkan biji-biji dan bungkil dari kedelai dan termasuk biji kapuk dari tanaman kapuk, pakan tambahan yaitu vitamin, mineral dan urea.

Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber pakan konsentrat pada hewan ternak adalah biji kapuk. Kovacic (2003) menyebutkan kandungan terdapat dalam biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) salah satunya mengandung senyawa *gossypol*. *Gossypol* adalah senyawa bersifat sitotoksik yang memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menunjukkan kerusakan secara luas menyeluruh dikarenakan mekanisme radikal bebas pada hewan ternak dapat menyebabkan terjadinya reaksi abnormalitas.

Manifestasi kerusakan hepar akibat senyawa bersifat toksik secara histopatologi berupa vakuolisasi mitokondria, retikulum endoplasma yang

membesar, ruang perinuklear yang meluas yang dapat berpengaruh besar pada reaksi tubuh yang dialami hewan ternak itu sendiri termasuk kadar stres oksidatif yang terjadi di dalam tubuh hewan ternak itu sendiri (Cristina *et al*, 2014). Pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) mengaktifkan sel-sel inflamasi sebagai respon terhadap adanya radikal bebas yang menghambat kerja antioksidan *Superoxide dismutase* (SOD) sehingga menyebabkan kadar stres oksidatif sel meningkat yaitu MDA (*malondialdehyd*) (Ozougwu, 2016)

Terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) adalah tanaman yang sering digunakan sebagai obat herbal pada manusia dan pakan ransum pada hewan ruminansia yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia memiliki antioksidan alami. Tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) ini memiliki senyawa yang berupa turunan dari glikoalkaloid yang bersifat toksik jika dalam jumlah besar dan memiliki senyawa sterol carpesterol yaitu pada bagian buah dan daunnya yang mengandung alkaloid steroid jenis *solasodine* yang dimana kandungan senyawa tersebut pada tanaman terong cepoka sebesar 0,84% dan kandungan *solasodine* yang berada di dalam biji dan lendir buah mencapai sebesar 5,5% (Sirait, 2009). Selain kandungan *Solasodine* terong cepoka memiliki senyawa flavanoid dan polifenol yang memiliki kandungan antioksidan tinggi di mana dapat menurunkan kadar radikal bebas walaupun kandungan dari *Solasodine* tersebut bersifat toksik. Menurut (Hidayanti dan nofianti, 2014) penelitian menggunakan senyawa *Solasodine* dari tanaman dapat mempengaruhi konsentrasi spermatozoa pada hewan coba tikus putih jantan. Radikal bebas dibentuk oleh metabolisme sel aerob secara normal yang dapat menghasilkan

peroksidase lipid, di mana peroksidase lipid mengakibatkan kerusakan sel hingga nekrosis pada organ hepar dan memiliki produk akhir disebut MDA (*Malondialdehyde*) yang dapat menggambarkan derajat stres oksidatif (Yustika *et al*, 2013).

Pada penelitian terdahulu, belum ada yang menjelaskan bagaimana toksisitas ekstrak tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) terhadap kadar MDA (*Malondialdehyd*) dan gambaran kerusakan yang terjadi pada organ hepar. Maka akan dilakukan penelitian "Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Terong Cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra L*) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehyd*) dan Gambaran Histopatologi Hepar pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan oleh penulis, berikut rumusan masalah yang akan dibahas pada penelitian kali ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan tanaman biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) dapat mempengaruhi kadar MDA (*Malondialdehyd*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Apakah pemberian ekstrak tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan ekstrak tanaman biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) dapat mempengaruhi gambaran histopatologi pada organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

1.3 Batasan Masalah

Batasan dari penelitian kali ini berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan adalah sebagai berikut :

1. Hewan coba yang digunakan pada penelitian kali ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, galur *Wistar* dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada yang berumur sekitar 8-12 minggu dan berat badan 150 - 300 gram. Penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba ini telah mendapatkan sertifikat Laik Etik Penelitian dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya (**Lampiran.2**)
2. Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dibagi menjadi 4 kelompok terdiri dari K (-) (kelompok kontrol negatif tanpa diberi perlakuan ekstrak terong cepoka dan biji kapuk, P1 (kelompok tikus yang diberikan ekstrak terong cepoka dengan dosis tunggal 1 mg/kg bb) (Susilo dan akbar, 2016), P2 (kelompok tikus yang diberikan ekstrak biji kapuk dengan dosis tunggal 0,1 mg/kg bb) (Fransisco, 2005). Pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk ini dilakukan *per-oral* selama 10 hari.
3. Ekstrak yang digunakan pada perlakuan adalah ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) dengan dosis disesuaikan berat badan hewan coba.
4. Pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk ini dilakukan *per-oral* menggunakan sonde lambung, dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-17 .
5. Pengukuran kadar MDA (*Malondialdehyd*) pada penelitian ini menggunakan serum darah dilakukan dengan metode ELISA.

6. Pengamatan kerusakan dengan gambaran histopatologi pada organ hati menggunakan pewarnaan HE (*haematoxylin-eosin*).

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan pada penelitian kali ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan tanaman biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) terhadap reaksi peningkatan kadar MDA (*Malondialdehid*) serum darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan tanaman biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) terhadap gambaran histopatologi pada organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*).

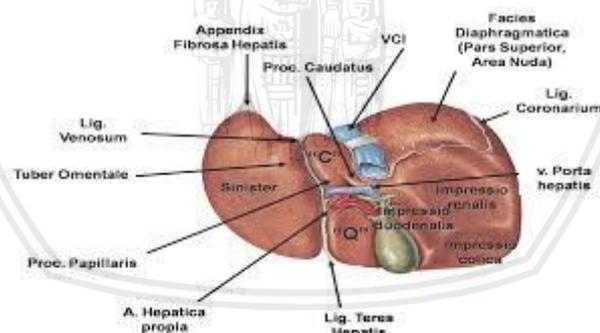
1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai kajian ilmiah untuk mengetahui pengaruh toksisitas pada tanaman terong cepoka dan tanaman kapuk pada tubuh dengan melihat reaksi peningkatan MDA (*Malondialdehid*) dan kerusakan histopatologi yang terjadi pada organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sehingga dapat digunakan dalam meningkatkan kesehatan hewan ternak dan pemberian keamanan pakan pada hewan ternak.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepar

Hepar adalah organ terbesar di dalam tubuh. Hepar terletak di bagian kanan atas dari cavum abdomen, dan menempati hampir seluruh daerah hipokandrium kanan, sampai hipokandrium kiri dan sejauh linea mamaria. Hepar tikus memiliki empat lobus saling berhubungan di sebelah belakang yang terdiri dari, lobus tengah dibagi menjadi kanan dan kiri oleh bifurcartio bagian dalam. Lobus sebelah sinistra terbagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamen falsiformis. lobus dexter terletak di hipokandrium kanan yang terbagi secara horizontal menjadi bagian arterior dan posterior (Snell, 2006).



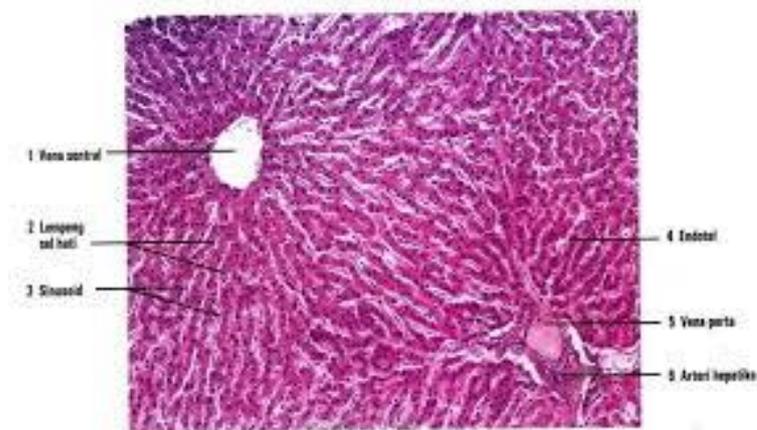
Gambar 2.3.1 Anatomi Normal Hepar (Dancygier, 2010)

Struktur dan komponen pada hepar tikus memiliki kesamaan dengan mamalia lainnya yang tersusun atas vena sentralis, sinusoid dan hepatosit (Syahrizal, 2008). Setiap lobus memiliki sekitar satu juta lobulus yang dibentuk di vena sentralis dan akan bermuara ke dalam vena hepatica kemudian kedalam vena cava. Lobulus ini terdiri dari sel hepar yang berbentuk heksagonal disebut hepatosit. Sel hepatosit adalah komponen

utama penyusun hepar yang di mana sel-sel epitelnya berkelompok membentuk lempengan-lempengan yang saling berhubungan, diantara sel hepatosit ini terdapat kapiler-kapiler yang bernama sinusoid (Junqueira, 2007).

Sinusoid dibatasi oleh dua jenis sel terdiri dari sel endotel dan sel kupfer yang memiliki kemampuan memfagositosis benda asing dan bakteri di dalam darah. Hepar akan menerima seluruh hasil absorpsi usus melalui pembuluh darah balik yang disebut vena, yang di mana akhirnya berkumpul dalam suatu vena besar yang disebut vena porta hepatica. Vena porta hepatica diisi oleh nutrien dan zat xenobiotik yang berasal dari usus (Soemirat, 2003). Hepar juga menerima aliran darah balik dari ginjal melalui arteri hepatica. Bila dilihat menggunakan mikroskop cahaya, struktural lobulus hepar. Lobulus hepar ini dipisahkan oleh jaringan ikat yang memiliki duktus biliaris, saraf, pembuluh darah dan pembuluh limfe. Daerah ini adalah celah portal antara sudut-sudut lobulus. Kandungan celah portal masing-masing lobulus ini terdapat sebuah venula, arteriol, duktus dan pembuluh limfe (Junqueira, 2007).

Secara struktural hepar tersusun atas hepatosit. Hepatosit ini memiliki peran yang sangat besar dalam proses metabolisme. Sel hepatosit ini terletak di antara sinusoid yang terisi oleh darah dan saluran empedu. Sel kupffer yang melapisi sinusoid hepar adalah bagian penting dari sistem retikuloendotelial tubuh.



Gambar 2.3.2 Histologi Hepar Normal (Junqueira, 2004)

Hepar memiliki fungsi penting dalam mempertahankan hidup dan berperan dalam fungsi metabolisme tubuh. Metabolisme protein, lemak dan karbohidrat dan tempat penyimpanan zat mineral dan vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E dan K). Hepar memiliki kemampuan sangat baik dalam hal regenerasi setelah kehilangan jaringan dalam hepar itu sendiri, yang diakibatkan jejas hepar akut. Selain itu hepar juga berperan dalam memproduksi protein plasma, pembekuan darah, eritropoiesis, dan detoksifikasi bakteri. (Prakash *et al*, 2008).

Hepar dapat mengalami kerusakan fungsi sel yang disebabkan berbagai agen seperti hepatotoksik berupa obat-obatan seperti antibiotik, acetaminophen, anti-tubular, parasit, jamur, virus, bakteri, alkohol, isotop, radioaktif dan lain lain. Kerusakan pada organ hepar akibat bahan kimia atau senyawa ditandai dengan adanya lesi biokimiawi yang mengubah fungsi dan struktur jaringan tersebut. Perubahan struktur dari hepar akibat dari kontaminasi dengan obat atau bahan kimia bisa dilihat dengan pemeriksaan mikroskopis yaitu nekrosis dan degenerasi (Amirudin, 2009).

Nekrosis adalah terjadinya kematian pada sel atau jaringan pada organisme hidup. Kerusakan sel yang terjadi setelah suplai darah hilang ditandai dengan

pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organ yang menyebabkan disfungsi berat jaringan. Inti sel yang mati akan terlihat lebih kecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi seperti berlipat-lipat. Inti menjadi piknotik disebut juga lebih padat yang dapat hancur bersegmen-segmen yaitu karioreksis dan sel kemudian menjadi eosinofilik. Adanya interaksi radikal bebas hasil metabolisme obat dan metabolisme tubuh dengan biomolekul penyusun membran sel hati menyebabkan terjadinya nekrosis hati. Interaksi radikal bebas ini menyebabkan perubahan dan dapat merusak membran sel hati. Kerusakan yang di alami pada sel hati akan meningkatkan lipid peroksida darah karena lipid peroksida tubuh ini tidak lagi didetoksifikasi dalam hati (Fajariyah, 2010).

2.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan suatu uji yang digunakan untuk mendeteksi efek toksik pada suatu zat di sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis dan efek yang khas dari sediaan uji tersebut. Uji toksisitas dengan menggunakan hewan coba sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada makhluk hidup terhadap suatu sediaan uji. Hasil dari uji toksisitas ini tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan, namun dapat memberikan petunjuk adanya kadar toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik apabila terjadi pemaparan (BPOM, 2014). Data toksisitas ideal bisa didapatkan dari uji toksisitas yang dilakukan pada manusia. Tetapi karena adanya batasan etik untuk melakukan uji toksisitas yang tidak dapat dilakukan pada manusia. Umumnya uji toksisitas ini dilakukan pada hewan coba atau sel kultur. Hasil dari uji toksisitas ini untuk mengetahui tingkat toksisitas pada suatu senyawa, efek samping dari suatu

senyawa dan batasan penggunaan pada suatu senyawa (Hodgson *et al*, 2000). Uji toksisitas secara umum terbagi atas uji toksisitas akut, subakut, dan kronis.

1. Uji Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut adalah uji yang dirancang untuk menentukan efek toksik yang timbul akibat paparan senyawa kimia yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji dalam jumlah tertentu pada hewan coba (Hodgson *et al*, 2000). Pengamatan yaitu dilakukan selama kurang dari 24 jam. Terdapat dua jenis data yang diperoleh yaitu, data kualitatif berupa gejala klinis dan morfologi yang timbul dari efek toksik senyawa yang diuji sedangkan untuk data kuantitatif yang diperoleh adalah nilai LD 50 (Casaarett, 2008).

2. Uji Toksisitas Sub-kronis

Uji toksisitas subkronis yaitu uji ketoksikan yang dilakukan pada suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama 1 sampai 3 bulan serta mengetahui efek toksik jangka pendek (Lu, 2009). Pada pengujian ini berfungsi untuk melihat efek toksik dari senyawa uji tersebut dan kaitan toksik dengan takaran dosis sediaan uji. Hasil dari uji tersebut memberikan tentang efek toksik utama yang ditimbulkan senyawa uji pada organ-organ yang dipengaruhi (Donatus, 2001).

3. Uji Toksisitas Kronis

Uji toksisitas kronis adalah uji toksisitas yang meliputi pengamatan terhadap stimulus-stimulus yang dapat menghambat atau mengganggu kehidupan biota uji secara terus menerus dalam jangka waktu yang relatif lama. Uji toksisitas kronis ini harus mempertimbangkan suatu hal-

hal yang berhubungan dengan aktivitas biota uji seperti pertumbuhan, reproduksi. Jumlah pada hewan coba pada uji ini biasanya memakai satu spesies hewan atau lebih. Terkecuali ada indikasi lain, dimana biasanya dipakai hewan coba berupa tikus, anjing, primata. Jumlah untuk tikus 40-100 ekor dalam setiap kelompok perlakuan dan kontrol (Donatus, 2001).

2.3 Terong Cepoka (*Solanum torvum Swartz*)

Tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) termasuk dalam famili Solanaceae, dan beberapa daerah mengenal dengan sebutan terong pipit, terong rimbang (Melayu), takokak (Jawa Barat) dan terong cepoka (Jawa Tengah). Asal tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) ini berasal dari kepulauan Antilles, dan penyebaran tumbuhnya sampai ke negara-negara tropis dan di Indonesia tumbuh di daerah pulau Sumatera, Jawa dan sampai di dataran rendah dengan ketinggian hingga 1 - 1.600 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ini, tumbuh di tempat-tempat yang cukup mendapatkan sinar matahari, tidak terlalu lembab, dan tumbuh secara tersebar. Tumbuhan ini memiliki tinggi 2 m - 5 m, berduri tajam, tegak, dengan bunga berwarna putih, majemuk, berbentuk bintang, bertaju 5, dan kelopak berbulu. Daun meruncing, pangkal daun memncing, panjang 27-30 cm, pertulangan menyirip. Tumbuhan ini berakar tunggang (Jamieson, 2003). Menurut farmakologi Cina Mangoting dkk (2008) menyatakan bahwa tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) ini memiliki rasa yang sedikit pedas, sejuk dan memiliki sifat agak beracun dalam dosis tertentu, tetapi tanaman ini mampu melancarkan sirkulasi, menghilangkan darah beku dan bersifat analgesik. Efek farmakologi ini dapat diperoleh dari penggunaan daun dan akar. Akar

dicuci dan dipotong-potong secukupnya lalu dijemur untuk penyimpanan. Daun digunakan untuk pemakaian segar (Rahmat 2009).

Klasifikasi tanaman terong cepoka menurut PLANTS, 2003 adalah sebagai berikut:

| | |
|--------------|--------------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Super Divisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Mangnoliophyta |
| Kelas | : Mangnoliopsida |
| Sub kelas | : Asteridae |
| <i>Ordo</i> | : Solanales |
| Familia | : Solanaceae |
| Genus | : <i>Solanum</i> |
| Spesies | : <i>Solanum torvum swartz</i> |



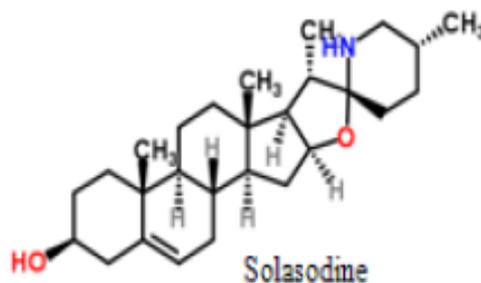
Gambar 2.3.2 Tanaman Terong Cepoka (*Solanum torvum Swartz*)
(Rahmat, 2009)

Tanaman terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) memiliki banyak senyawa kimia di dalamnya. Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada buah dan daun dari tanaman tersebut mengandung sedikit racun pada alkaloid steroid yang sejenis

solasodine 0.84%. Sedangkan flavonoid dan polifenol ini bersifat sebagai antioksidan (Yuanyuan *et al.* 2009). Senyawa yang dimiliki tersebut memiliki aktivitas fungsi sebagai pembersih superoksida yang tinggi yakni di atas 70%. Kandungan kimia yang terdapat pada terong cepoka mampu bertindak sebagai antioksidan dan dapat melindungi jaringan tubuh dari efek negatif radikal bebas.

2.3.1 Solasodine

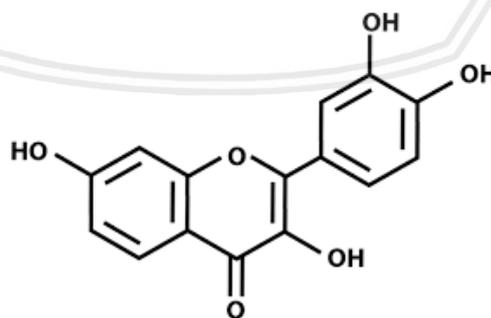
Menurut Friedman *et al.*, (2003) glikoalkaloid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan yang memiliki sifat toksik. Untuk pembuatan golongan obat steroid senyawa solasodine adalah salah satu komposisinya. Glikoalkaloid ini memiliki efek anti-cholinesterase yang terjadi pada sistem syaraf pusat dan mengakibatkan rusaknya membrane sel. Glikoalkaloid yang terlepas dari sisi rantai karbohidratnya akan membentuk steroidal aglycones. Salah satu contoh dari steroidal aglycones adalah *solasodine*. Solasodine merupakan turunan dari glycoalkaloid solamargine dan solasonine pada *Solanum* sp. (*Solanaceae*). Struktur *solasodine* mirip dengan diosgenin, dimana satu atom oksigen diganti dengan atom Nitrogen, memiliki 27 atom C. Rumus molekul *solasodine* adalah $C_{27}H_{43}O_2N$ bisa dilihat di (**Gambar 2.4.2**), bersifat larut dalam alkohol, aseton dan sedikit larut dalam air serta praktis tidak larut dalam eter, larutan bebas dalam benzene, piridina dan kloroform.



Gambar 2.3.3 Struktur Kimia *Solasodine* (Moore *et al.*, 2006).

2.3.2 Flavonoid

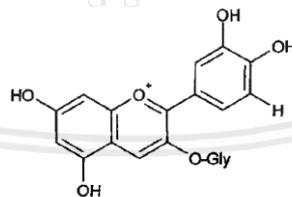
Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang banyak sekali dijumpai pada tumbuh-tumbuhan. Kelompok flavonoid ini sendiri terdiri atas flavon, flavonol dan sedikit tanin. Flavonoid terdapat dalam berbagai warna di dalam jaringan tanaman, dan juga memiliki beberapa sifat salah satunya yaitu sifat insektisidal (Zuhra *et al*, 2008). Menurut beberapa kajian ilmiah, mengonsumsi makanan yang banyak mengandung flavonoid dapat melindungi dari penyakit yang berhubungan dengan kerusakan oksidasi yang disebabkan oleh pengaruh radikal bebas (Chang dan Xu, 2007). Flavonoid sendiri memiliki aktivitas sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antialergi, antibakteri, dan antitumor bagi tubuh. Efek farmakologi dari obat-obatan tradisional diperoleh dari flavonoid, reaksi Flavonoid pada radikal bebas dimulai dari flavonoid ini mendonorkan atom hidrogen pada senyawa yang bersifat radikal sehingga menghasilkan radikal flavon. Pada saat radikal flavonoid terjadi peristiwa resonansi sehingga akan menghasilkan senyawa kuinon yang stabil (Majewska *et al*, 2011). Adapun struktur dari senyawa flavonoid ini yang dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2.3.4 Struktur dasar *Flavonoid* (Grotewold, 2006).

2.3.3 Polifenol

Senyawa polifenol ini merupakan senyawa antioksidan primer yang mudah larut dan terlepas dari jaringan seperti buah-buahan dan sayuran pada proses yang terjadi di dalam air. Senyawa ini memiliki ikatan rangkap yang terkonjugasi dan gugus hidroksil yang kaya akan elektron sehingga dapat menetralkan pembentukan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektronnya (Kalt, 2005). Kelompok-kelompok senyawa fenolik ini terdiri dari fenol sederhana fenolpropana, turunan asam benzoat, flavonoid, tanin, lignan dan lignin. Tanaman yang mempunyai potensi yang cukup baik sebagai penghasil senyawa fenolik (Chang dan Xu, 2007). Polifenol memiliki kadar aktivitas antioksidan yang tinggi dan dikenal sebagai antioksidan tanaman yang sangat superior. Kandungan antioksidan seperti polifenol memiliki ini kekuatan kira-kira 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E (Khomsan, 2004). Adapun struktur dari senyawa fenolik dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2.3.5 Struktur Polifenol (Moore *et al*, 2006)

2.4 Biji Kapuk (*Ceiba pentandra L*)

Tanaman kapuk yang memiliki nama latin yaitu *Ceiba pentandra L* ini memiliki ketinggian hingga mencapai sekitar 8-30 m dan memiliki ukuran batang pohon yang besar hingga mencapai diameter batang pohon sampai 3 m, pada batangnya juga terdapat duri-duri yang menempel dengan berbentuk kerucut.

Tumbuhan ini memiliki kelebihan yaitu tahan terhadap kondisi kekurangan air sehingga membuat tumbuhan ini dapat tumbuh di kawasan pinggir pantai serta lahan-lahan dengan ketinggian 100-800 m di atas permukaan laut, dengan curah hujan pada daerah tersebut tiap tahunnya hanya 1.000-2.500 mm dan suhu dari 20- 27°C (Widhianti, 2011). Hasil dari tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan isian untuk peralatan tidur, tempat duduk, pakaian untuk penyelamat kecelakaan laut dan sebagainya. Selain itu tanaman kapuk (*Ceiba pentandra L*) terutama pada bagian bijinya di dalam dunia ternak sering dimanfaatkan sebagai pakan penguat atau konsentrat, karena memiliki kandungan serat yang cukup tinggi yaitu protein (22%), penghasil energi tinggi (TDN 96%), kaya akan lemak (17,5%), kandungan karbohidrat dan vitaminnya yang cukup untuk memenuhi kebutuhan ternak pada hewan ternak (Jamieson dan baughman 2003).

Menurut PLANTS, 2003 klasifikasi tanaman kapuk terdiri:

| | |
|------------|------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Ordo | : Malvales |
| Famili | : Malvaceae |
| Genus | : Ceiba |
| Spesies | : Ceiba pentandra (L.) |

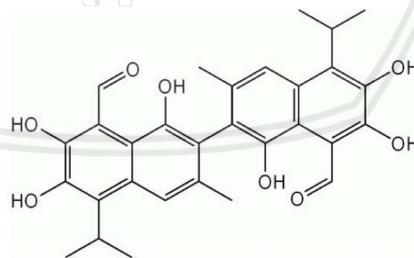


Gambar 2.4.1 Biji Kapuk (*Ceiba pentandra l*) (Tohari, 2015)

Biji kapuk terdapat di dalam kotak buah tanaman kapuk yang berisi serabut dan biji secara teratur. Tiap ruang dari buahnya terdapat dua baris biji dan rata-rata setiap ruang biji terdiri dari 9 biji. Bentuk biji bulat telur, berwarna coklat kehitam-hitaman, panjangnya antara 612 mm; berat 100 biji antara 617 g, hal ini tergantung besar kecilnya biji. Biji kapuk memiliki senyawa utama yang berbahaya yaitu *gossypol*. *Gossypol* yang terkandung di dalam biji mencapai 1,02 % - 1,39 %, untuk kadar keseluruhan dapat mencapai 6,64 %.. Kandungan *gossypol* pada biji kapas yang dicampurkan pada pakan tanpa pengolahan terlebih dahulu mengandung *gossypol*, yaitu senyawa toksik yang terkandung pada biji kapuk yang menimbulkan keracunan pada ternak (Câmara *et al*, 2015). Lebih lanjut Goenarso (2004) menyatakan bahwa ternak yang diberi campuran pakan biji kapuk sebagai sumber proteinnya, dijumpai gejala kelainan atau keadaan yang kurang sehat. Ternak memperlihatkan gejala berkurangnya nafsu makan, penampilan tubuh yang lemah, menderita diare, serta menampakkan pertumbuhan yang menurun sehingga produktivitas ternak menurun.

2.4.1 *Gossypol*

Gossypol ($C_{30}H_{30}O_8$) merupakan senyawa fenol berwarna kuning yang sangat reaktif ditemukan pada berbagai bagian tanaman kapuk, (*Ceiba pentandra L.*). *Gossypol* dapat menimbulkan peradangan pada hati, usus halus dan lambung pada berbagai spesies hewan. Namun bila biji kapuk diberikan dalam takaran yang benar pada pakan, keracunan tidak terjadi pada ternak sapi. Bungkil dan biji kapuk dapat digunakan sebagai pakan untuk ruminansia dengan takaran yang benar agar tidak terdapat efek toksik sebesar 10% pada sapi (Câmara *et al.*, 2015), atau bahkan sebesar 20% pada sapi jantan kastrasi *Australian Commercial Cross* (ACC) tidak berpengaruh negatif (Kiroh, 1992). Pemberian biji kapas dengan kadar tinggi pada hewan ternak tanpa takaran atau dosis yang benar akan mengakibatkan gejala berkurangnya nafsu makan, penampilan tubuh yang lemah, menderita diare, penurunan bobot badan dan kadar Hb dalam darah atau berkurangnya sel darah merah dalam tubuh (Singla dan Garg, 2013).



Gambar 2.4.2 Struktur Kimia *gossypol* (Trivedi, 2006)

Efek sitotoksik dari *gossypol* ini dapat merusak mitokondria sehingga akan berakibat pada disfungsi mitokondria yang mengakibatkan penurunan produksi adenosine triphosphate (ATP) untuk proses metabolisme sel (Neganova *et al.*, 2000) nantinya akan memicu pembentukan dari *Reactive oxygen species* (ROS) (Kovacic,

2003) sehingga akan menyebabkan stres oksidatif (Herve *et al.*, 1996 dan Cheng *et al.*, 2003).

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas (free radical) atau juga sering disebut *Reactive oxygen species* (ROS) berasal dari bahasa latin radicalis adalah bahan kimia yang dapat berupa atom, gugus atom atau molekul yang tidak memiliki elektron berpasangan pada lapisan luarnya yaitu pada orbital paling luar, hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Secara umum, radikal bebas ini dapat terbentuk melalui salah satu diantara tiga cara berikut : a. melalui reaksi redoks, yaitu mekanisme reaksi fisis ikatan homolitik; b. melalui absorpsi radiasi yaitu ionisasi, ultraviolet (UV), panas dan sinar tampak; c. melalui pemindahan elektron (Utami, 2010). Sifat dari radikal bebas sangat reaktif dan memiliki waktu paruh yang sangat cepat. Sehingga radikal bebas akan segera bereaksi dengan cepat dengan mengambil elektron molekul disekitarnya.

Radikal bebas juga dapat merusak jaringan normal terutama apabila jumlahnya yang terlalu banyak. Akibat yang akan timbul dari radikal bebas dalam jumlah besar seperti gangguan produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, pembuluh darah, produksi prostaglandin, kerusakan sel dan akan mengurangi kemampuan sel untuk beradaptasi terhadap lingkungannya. Banyaknya proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh akan dapat menghasilkan radikal bebas tetapi dalam jumlah yang kecil. Didalam sel hidup sendiri radikal bebas akan terbentuk di dalam membran plasma dan organel-organel seperti mitokondria, retikulum endoplasma, sitosol, dan peroksisom di dalam proses metabolisme melalui reaksi enzimatik fisiologik. Proses fagositosis yaitu neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil, juga menghasilkan radikal bebas yaitu

superoksida ($O_2^{\cdot-}$) (Halliwell and Gutteridge, 2007). Kereaktifan pada radikal bebas dapat membuat reaksi kimia dan merusak berbagai komponen sel. Radikal bebas sendiri dapat menyebabkan suatu reaksi yang disebut peroksidasi lipid, yang akan merespon proses otokatalitik, yang akan menjalar di tempat semula (Gitawati, 1995).

2.6 Peroksidasi Lipid

Peroksidasi lipid umumnya suatu proses terjadinya degradasi lipid secara oksidatif yang memiliki molekul sangat sensitif terhadap radikal bebas. Peroksidasi lipid adalah proses dimana radikal bebas akan mengikat elektron-elektron lipid pada membran sel yang berakibat pada kerusakan sel. Zat yang terlibat di dalam proses peroksidasi lipid antara lain yaitu *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA), fosfolipid, glikolipid, kolesterol ester dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh (PUFA) merupakan reaksi yang terjadi antara peroksidasi lipid dengan radikal bebas. Bahan yang paling sering terlibat dalam mekanisme oksidasi karena mengandung banyak ikatan ganda diantara molekulnya. Radikal bebas ini memiliki sifat yang sangat reaktif, sehingga membuat dengan cepat bereaksi dengan setiap zat disekitarnya (Utami, 2010). Peroksidasi lipid terbagi dengan cara enzimatis dan non-enzimatis. Peroksidasi lipid enzimatis ini dilakukan oleh 2 macam enzim yaitu *lipooxygenase* dan *cyclooxygenase*. Peroksidasi non enzimatis dapat dibagi menjadi 2 proses yaitu autooksidasi dan foto-oksidasi (Niki *et al*, 2005)

Menurut Winarsi (2007) untuk proses autooksidasi peroksidasi lipid ini terdiri atas 3 tahap yaitu inisiasi, propagasi, terminasi. Penjelasan dari mekanisme ketiga tahapannya :

1. Tahap inisiasi

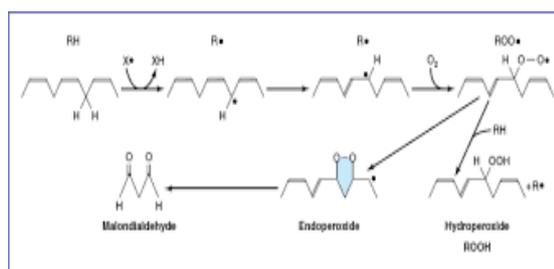
Pada tahap ini diawali dengan pemisahan atom hidrogen oleh radikal bebas dari grup metilena ($-\text{CH}_2-$) lalu dimulai produksi asam lemak radikal. Dimana akan terjadi serangan dari radikal bebas yang umumnya berjenis spesies oksigen reaktif (OH) terhadap partikel lipid dan akan menghasilkan air (H_2O) dan asam lemak radikal.

2. Tahap propagasi.

Asam lemak radikal yang dihasilkan dari proses inisiasi bersifat sangat tidak stabil dan mudah bereaksi dengan molekul oksigen dan akan menghasilkan suatu peroksi radikal asam lemak. Bahan ini juga ternyata bersifat tidak stabil dan kemudian bereaksi dengan asam lemak bebas lainnya untuk menghasilkan asam lemak radikal yang baru dan dapat menghasilkan peroksida lipid atau peroksida siklik bila bereaksi dengan dirinya sendiri. Siklus ini berlanjut sedemikian rupa hingga memasuki tahap terminasi.

3. Tahap terminasi.

Ketika suatu radikal bereaksi dengan non radikal maka akan menghasilkan suatu radikal baru. Proses ini dinamakan dengan mekanisme reaksi rantai. Reaksi radikal akan berhenti bila terdapat dua radikal yang saling bereaksi dan menghasilkan suatu spesies non radikal. Hal ini hanya dapat terjadi ketika konsentrasi spesies radikal sudah sedemikian tingginya sehingga memungkinkan dua spesies radikal untuk saling bereaksi. Reaksi rantai ini dapat berakhir dengan adanya suatu reaksi antara satu radikal dengan radikal lainnya atau dengan antioksidan.



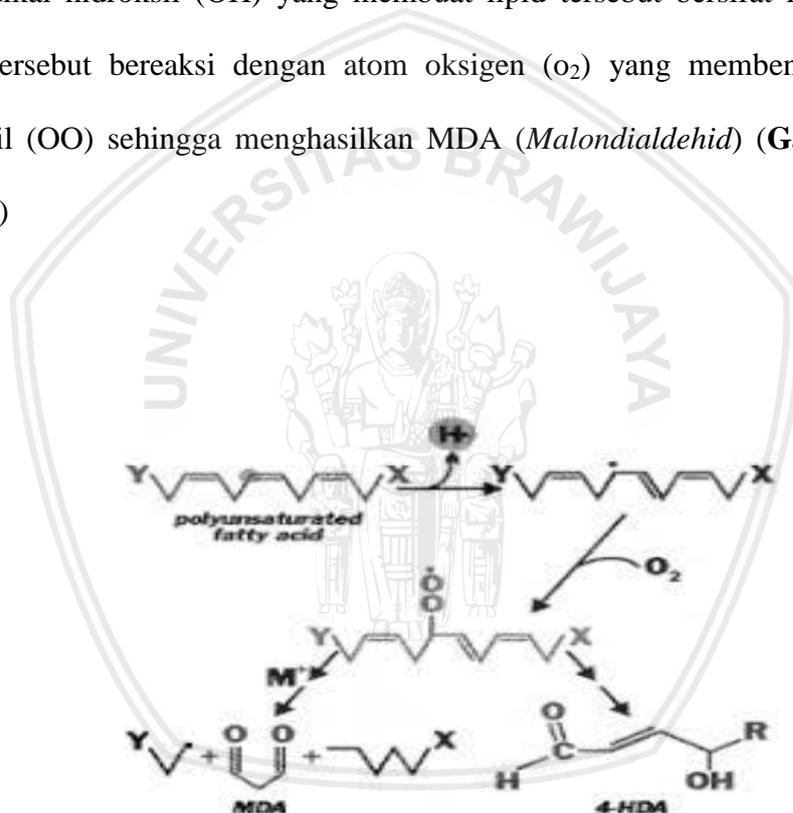
Gambar 2.6.1 Mekanisme Peroksidasi Lipid (Murray dkk, 2003)

Produk oksidasi lipid ini akan diinduksi oleh oksidan dan stres oksidatif yang akan menghasilkan produk bervariasi, beberapa diantaranya adalah dengan adanya katalisator logam dan membentuk radikal bebas oksigen dan MDA (*Malondialdehyde*). MDA adalah sebagai salah satu produk peroksidasi lipid yang bersifat toksik terhadap sel. Hasil peroksidasi lipid ini merupakan senyawa dialdehid yang memiliki tiga rantai karbon serta memiliki berat molekul (BM) rendah dan dapat diproduksi oleh mekanisme yang berbeda-beda (Grotto *et al.*, 2009).

2.7 Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) adalah produk akhir dari peroksidasi lipid akibat terputusnya rantai asam lemak sehingga bersifat toksik terhadap suatu sel. Peningkatan yang terjadi pada radikal bebas akan mengalami peningkatan stres oksidatif yang akan membentuk produk akhir disebut MDA (*Malondialdehyde*). MDA sendiri sering digunakan untuk biomarker biologis pada peroksidasi lipid dan mengukur derajat stres oksidatif yang berkarbon tiga atau dialdehid reaktif yang di dalam membran sel adalah produk akhir dari peroksidasi lipid. Secara hayati MDA (*Malondialdehyde*) sendiri memiliki bentuk bebas dan membentuk ikatan kompleks di dalam jaringan (Hendromartono, 2000).

Proses yang dihasilkan peroksidasi lipid salah satunya adalah senyawa MDA. Jumlah radikal bebas yang melebihi normal mengakibatkan terjadinya peningkatan proses peroksidasi lipid yang membuat produksi dari MDA juga ikut meningkat. Pembentukan MDA melalui mekanisme yang terjadi pada peroksidasi lipid diawali dengan hilangnya atom hidrogen (H) dari molekul yang tidak jenuh rantai panjang oleh gugus dari radikal hidroksil (OH) yang membuat lipid tersebut bersifat radikal, lalu radikal lipid tersebut bereaksi dengan atom oksigen (O_2) yang membentuk sebuah radikal peroksil (OO) sehingga menghasilkan MDA (*Malondialdehid*) (**Gambar 2.7**) (Yustika, 2013)



Gambar 2.7.1 Mekanisme pembentukan MDA (*Malondialdehid*)

(Yustika, 2013)

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba atau hewan laboratorium merupakan hewan yang dikembangkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba untuk keperluan penelitian biologik. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis seperti pengaruh obat, tanaman sampai bahan kimia pada manusia dan hewan selama bertahun-tahun. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak dalam jumlah besar dan cepat, murah serta mudah untuk mendapatkannya. Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (nocturnal). (Adiyati, 2011). Tikus putih sebagai hewan coba memiliki kelebihan untuk penggunaan pada prosedur penelitian antara lain tidak mudah muntah karena memiliki struktur anatomi yang berbeda pada bagian esophagus yang bermuara ke dalam empedu sedangkan tikus putih tidak memiliki kantung empedu seperti hewan pada umumnya (Mangkoewidjojo, 2006).



Gambar 2.8.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Kusumawati,2004)

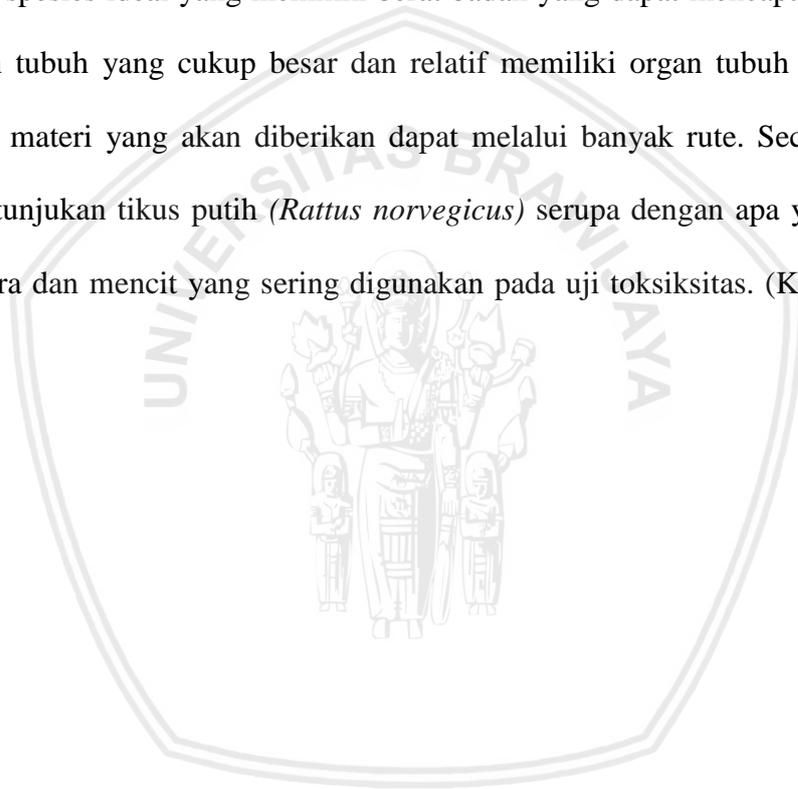
Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut

(Krinke,2000):

| | |
|----------|--------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Chordata |
| Subfilum | : Vertebrata |

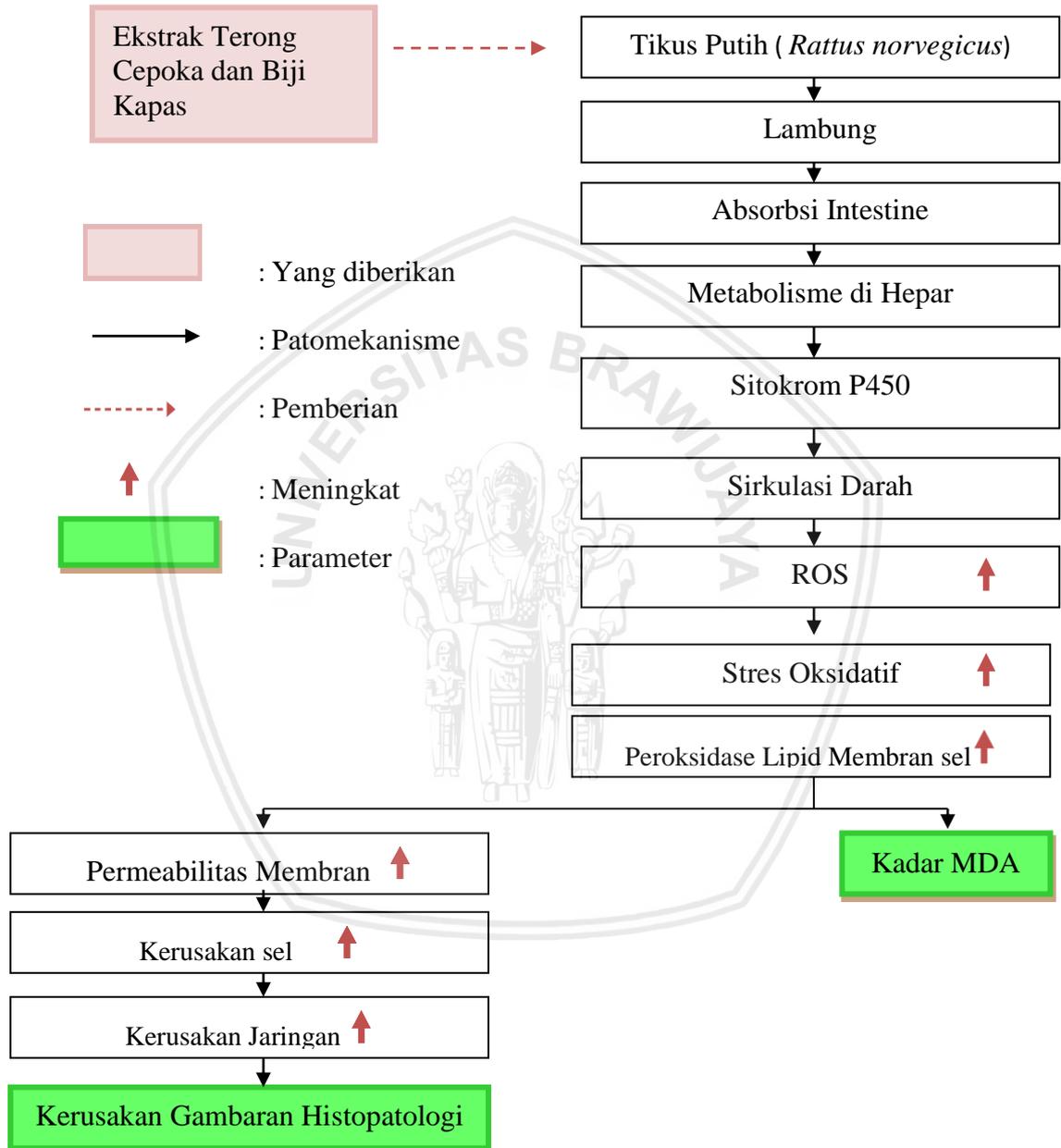
| | |
|---------|----------------------------|
| Kelas | : Mammalia |
| Ordo | : Rodentia |
| Familia | : Muridae |
| Genus | : Rattus |
| Species | : <i>Rattus norvegicus</i> |

Karena spesies ideal yang memiliki berat badan yang dapat mencapai 500 gram dengan ukuran tubuh yang cukup besar dan relatif memiliki organ tubuh yang besar juga, sehingga materi yang akan diberikan dapat melalui banyak rute. Secara umum, reaksi yang ditunjukkan tikus putih (*Rattus norvegicus*) serupa dengan apa yang terjadi pada anjing, kera dan mencit yang sering digunakan pada uji toksikitas. (Kusumawati, 2004).



BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian

Tikus putih diberi ekstrak tanaman terong cepoka dan ekstrak biji kapuk. Ekstrak terong cepoka mengandung senyawa solasodin, flavonoid dan polifenol. Senyawa flavonoid dan polifenol tersebut merupakan antioksidan alami yang bersifat non-toksik namun senyawa solasodin merupakan senyawa yang bersifat toksik. Senyawa dari ekstrak biji kapuk yaitu gosipol memiliki sifat toksik dan menimbulkan peningkatan aktifitas radikal bebas pada tubuh. Ekstrak terong cepoka dan biji kapuk diberikan melalui per-oral menggunakan sonde lambung perlakuan tersebut merupakan fase eksposisi masuknya senyawa. Ekstrak terong cepoka dan biji kapuk tersebut akan masuk ke lambung terlebih dahulu yaitu fase absorpsi. Pada organ lambung ekstrak terong cepoka dan biji kapuk akan bekerja dengan enzim yang terdapat pada organ lambung yaitu pepsin, lipase dan renin.

Ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk memiliki kandungan protein sehingga bereaksi dengan enzim pepsin yang akan menghasilkan pepsinogen dan bereaksi dengan enzim lipase yang membuat ekstrak terong cepoka dan biji kapuk akan terhidrolisis menjadi asam lemak mudah terlarut dalam air sehingga mudah diabsorpsi dalam duodenum yang merupakan fase toksikokinetik. Fase toksikokinetik memiliki tahap invasi yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi dari ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk. Kemudian ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk dalam fase toksikokinetik akan didistribusikan melalui vena mesenterika menuju vena porta hepatica lalu ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah. Hasil dari fase toksikokinetik setelah didistribusikan ke vena porta ini adalah metabolisme ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk pada organ hepar agar dapat di ekskresi ginjal dan mengetahui perubahan senyawa tersebut menjadi aktif, inaktif atau toksik.

Metabolisme pada hepar disebut biotransformasi yang terdiri dari fase 1 (oksidasi, reduksi, hidrolisis) dan fase 2 (konjugasi). Fase 1 diawali dengan oksidasi yaitu metabolisme yang melibatkan enzim sitokrom P-450 dilanjutkan dengan reduksi dan hidrolisis untuk mengubah metabolit senyawa tersebut agar lebih polar. Senyawa *gossypol* sendiri bersifat menghambat kerja dari enzim sitokrom P-450 yang membuat senyawa tersebut tidak menjadi inaktif dan akan menjadikan aktif hingga toksik. Fase 2 konjugasi bertujuan untuk meningkatkan senyawa xenobiotik agar lebih larut dalam air, tetapi tidak dapat termetabolisme sampai di tahap fase 2 karena di fase 1 metabolisme sudah berhenti. Xenobiotik berupa *gossypol* ini bersifat toksik dan fenol reaktif yang dapat menghambat kerja enzim *gluathione s transferase* dalam mendetoksifikasi sehingga proses metabolisme pada hepar terganggu. Seperti halnya pada senyawa *solasodine* pada terong cepoka. *Solasodine* dapat menurunkan kadar enzim *cholinesterase* yang di produksi pada hepar sehingga dapat mengganggu metabolisme senyawa tersebut pada organ hepar. ROS (*reactive oxygen species*) merupakan hasil dari metabolisme normal yang secara rutin dihasilkan oleh sel. Kondisi hepar yang tidak dapat memetabolisme xenobiotik ini akan meningkatkan aktifitas ROS (*reactive oxygen species*) sehingga kadar radikal bebas meningkat yang diikuti dengan adanya stres oksidatif.

Kondisi ketidakseimbangan antara antioksidan (sistem pertahanan) dan radikal bebas akan mereaksi adanya stres oksidatif. ROS dengan elektron tidak berpasangan dan sifat yang sangat reaktif ini akan berikatan dengan PUFA (*Polyunsaturated fatty acids*) merupakan unsur utama dari membran sel yang menginisiasi adanya peroksidasi lipid. Proses peroksida lipid umumnya dimulai dengan penarikan atom hidrogen

yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) membentuk radikal lipid. Penambahan oksigen akan menyebabkan terbentuknya radikal peroksil lipid yang selanjutnya akan menarik lagi atom hidrogen dari ikatan rangkap PUFA yang lain, sehingga terbentuk radikal lipid berikutnya. Radikal peroksil lipid tersebut akan mengalami dekomposisi menjadi peroksida lipid yang menghasilkan produk akhir yaitu MDA (*Malondialdehyde*). Peroksidasi lipid terdapat di membran sel ini akan menghasilkan MDA merupakan produk akhir oksidasi asam lemak tidak jenuh yang bersifat toksik pada sel, sehingga akan merusak membran sel dengan mengganggu permeabilitas sel. Akibatnya jaringan hepar akan mengalami kerusakan yang dapat dilihat dengan gambaran histopatologi hepar.

3.2 Kerangka Konsep

Ekstrak Terong Cepoka
Ekstrak Biji Kapuk

Tikus
Putih

Kadar MDA

Histopatologi
Hepar

Keterangan :

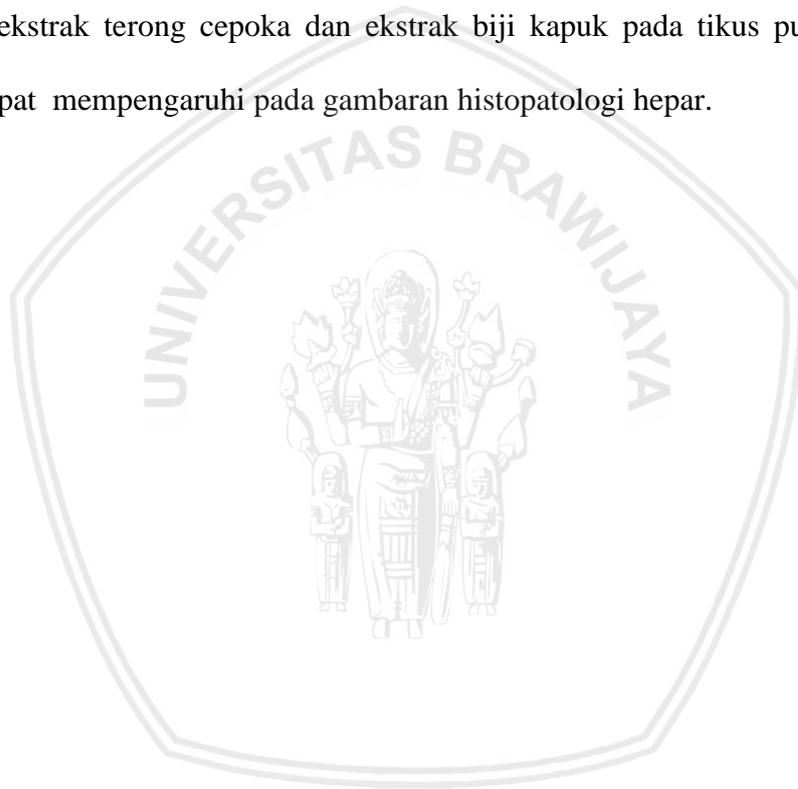
- : Yang diberikan
- : Hewan Coba Penelitian
- : Parameter Penelitian

Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian

3.3 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada, maka hipotesa penelitian yang diajukan yaitu sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat menaikkan kadar MDA pada serum.
2. Pemberian ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat mempengaruhi pada gambaran histopatologi hepar.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di UPT Materia Medica Batu untuk pembuatan ekstrak etanol terong cepoka (*Solanum torvum Swartz*) dan biji Kapuk (*Ceiba pentandra L*). Pemeliharaan hewan coba, pemberian perlakuan, dan pengambilan sampel uji dilakukan di Laboratorium Embriologi Universitas Airlangga. Pengukuran kadar MDA serum dilakukan di Laboratorium ADD FKH UB. Pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi hepar dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan untuk persiapan hewan coba, antara lain yaitu pakan, kandang, nipel minum kelereng dan air minum. Peralatan yang digunakan untuk perhitungan dosis ekstrak terong cepoka dan biji kapuk, antara lain adalah timbangan digital dan gelas ukur. Peralatan yang digunakan untuk perlakuan ekstrak terong cepoka dan biji kapuk, antara lain sonde lambung, glove, sarung tangan kain, gelas ukur dan *litter box*. Peralatan yang digunakan untuk koleksi serum darah dan preparasi organ hati, antara lain ketamin HCL 1% dan Xylazine 2%, gunting bedah, pinset anatomis, papan bedah, pot organ, spuit, cawan petri, aquades, tabung reaksi, dan tabung effendorf. Peralatan yang digunakan untuk pengukuran MDA, antara lain microplate, micropipet,

parafilm, tabung, sentrifuge, ELISA kit, ELISA reader, Inkubator, *plate selaer*. Peralatan yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi hepar, ialah antara lain mikrotom, kuas, *obyek glass*, *hot plate*, *cover glass*, mikroskop cahaya, penjepit (*block holder*).

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk persiapan hewan coba, yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*). Bahan yang digunakan untuk perhitungan dosis ekstrak tanaman terong cepoka dan biji kapuk, antara lain ekstrak tanaman terong cepoka dan biji kapuk dan aquades. Bahan yang digunakan untuk perlakuan pemberian ekstrak tanaman terong cepoka dan biji kapuk, antara lain ekstrak tanaman terong cepoka dan biji kapuk. Bahan yang digunakan untuk preparasi organ hati, antara lain alcohol 70% , aquades, ketamin HCL 1% dan Xylazine 2%, formalin buffer 70%. Bahan yang digunakan untuk pewarnaan histopatologi hepar terdiri vaselin album 95%, alcohol (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), pewarna Hematoksin Eosin (HE), parafin. Bahan yang digunakan untuk pengukuran kadar MDA (*Malondialdehyde*) adalah serum tikus putih, *wash buffer*, *substrat solution A*, *substrat solution B*, *standart diluent*, *streptavidin-HRP*, *stop solution*, *Biotinylated rat MDA antibody*.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, sehat, galur wistar berumur 10-12 minggu. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki berat antara 150-300 gram. Hewan coba ini diadaptasi dengan kondisi laboratorium selama tujuh hari agar menyesuaikan dengan kondisi lingkungannya. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Montgomery dan Kowalsky, 2011).

Rumus perhitungan

$$p(n-1) > 15$$

$$3(n-1) > 15$$

$$3(n-1)$$

$$3(n-3) > 15$$

$$3n > 18$$

$$n > 6$$

Kelompok perlakuan membutuhkan jumlah ulangan sebanyak 6 kali dengan hewan coba dibutuhkan minimal 18 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Keterangan:

p: Jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan yang dilakukan

4.3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba terlebih dahulu dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan dan dilakukan penomoran pada masing-masing hewan coba. Penomoran hewan coba pada kelompok K(-) terbagi atas P1-1 - P1-6, P1 terbagi atas P2-1 – P2-6, dan P2 terbagi atas P3-1 – P3-6 setelah dilakukan penomoran untuk nomor populasi, setelah itu mengacak nomor populasi hewan coba dibagi menjadi tiga kelompok pada K(-), P1 dan P2 dengan jumlah masing-masing kelompok sama rata. Pemberian pada kelompok K(-) adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi perlakuan, P1 adalah kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi solasodin sesuai dengan dosis berat badan masing-masing tikus dan P2 kelompok tikus putih yang diberi gossypol sesuai dengan dosis berat badan masing-masing tikus. Perlakuan yang akan dilakukan pada hewan coba adalah sebagai berikut :

K(-) Tikus putih diberikan pakan dan air minum pada hari ke-1 hingga hari ke-17, tanpa pemberian solasodin dan gossypol

P1 Tikus putih diberikan pakan dan air minum pada hari ke-1 hingga hari ke-17, dan diberikan ekstrak terong cepoka menggunakan sonde lambung dengan dosis terapi yaitu 1 g/KgBB Pada hari ke-8 hingga hari ke-17.

P2 Tikus putih diberikan pakan dan air minum pada hari ke-1 hingga hari ke-17, dan diberikan ekstrak biji kapuk menggunakan sonde dengan dosis terapi yaitu 0,1 g/KgBB Pada hari ke-8 hingga hari ke-17

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian "*Two Ways Table*"

| Perlakuan | Ulangan | | | | | | Rata-rata | Keterangan |
|-----------|---------|---|---|---|---|---|-----------|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| K- | | | | | | | | |
| P1 | | | | | | | | |
| P2 | | | | | | | | |

Tabel 4.3 ANOVA (*Analysis of Varian*)

| S.V. | df ^x | SS | MS ^{xx} | F ^{xxx} Cale | F5% | F1% |
|------------------|-----------------|----------|------------------|--------------------------|------|------|
| Treatment | 2 | SST | MST | $\frac{MST}{MSE}$ | 3,59 | 6,11 |
| Error | 15 | SSE | MSE | | | |
| Total | 17 | SS Total | | | | |

Keterangan :

$$x). \text{ d.f. varietas (treatment) } = t - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$\text{d.f. total} = nt - 1 = 18 - 1 = 17$$

$$\text{d.f. error} = \text{df total} - \text{df varietas} = 17 - 2 = 15$$

$$xx). \text{ MS Varietas} = \frac{SS \text{ Varietas}}{df \text{ Varietas}}$$

$$\text{MS error} = \frac{SS \text{ error}}{df \text{ error}}$$

$$xxx). \text{ F.Calculated} = \frac{MS \text{ Varietas}}{MS \text{ error}}$$

4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas : Dosis ekstrak terong cepoka dan ekstrak biji kapuk
- b. Variabel terikat : Kadar MDA serum darah, Histopatologi hepar
- c. Variabel kontrol : Tikus putih (*Rattus norvegicus*), galur, jenis kelamin, berat badan, umur, suhu kandang 18-27, pakan, air minum, dan kandang.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan dan Pembuatan Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk

Persiapan yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan terlebih dahulu dengan mencari tanaman terong cepoka dan biji kapuk. Tanaman terong cepoka sendiri di dapat dengan membeli tanaman tersebut di Pasar Blimbing Kota Malang dan untuk biji kapuk di dapat dengan membeli di biji kapuk tersebut di Kota Surabaya yang berasal dari Goa Ngerong Tuban. Pembuatan ekstrak tanaman terong cepoka dan biji kapuk ini dilakukan di UPT Materia Medica Kota Batu (**Lampiran 6**). Ekstraksi adalah suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut. Pembuatan ekstrak ini dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah proses pengekstraksian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (Ditjen POM, 2000).

Proses pengekstraksian pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% dan berat terong cepoka yang akan diekstraksi ini sebesar 5 Kg. Jumlah pelarut yang dibutuhkan yaitu sebanyak 10.000 mL dengan waktu evaporasi yaitu selama 3 jam. Volume ekstraksi yang didapatkan dari proses pengekstraksian tersebut sebanyak 2000 mL. Biji kapuk yang akan diekstraksi yaitu sebesar 3 Kg dengan menggunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi dan pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%. Jumlah pelarut yang

digunakan pada proses ekstraksi dengan waktu evaporasi 2 jam adalah sebanyak 8.000 mL menghasilkan volume ekstraksi sebanyak 700 mL.

4.4.2 Persiapan Hewan Coba

Pada penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), galur *Wistar*, dengan jenis kelamin jantan, berumur sekitar 8-12 minggu dengan berat badan rata-rata 150-300 gram. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjumlah 6 ekor/ kandang ditempatkan pada kandang berupa bak plastik dengan tutup yang terbuat dari kawat ram, dialasi dengan sekam kayu untuk menjaga kelembapan dari kandang dan ditempatkan pada daerah yang memiliki ventilasi udara cukup lalu tempat jauh dari kebisingan. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan aklimatisasi selama tujuh hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan baru, dengan pemberian pakan BR-1 Comfeed dan air minum *Ad-libitum*.

4.4.3 Pemberian Ekstrak Tanaman Terong Cepoka dan Biji Kapuk

Pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok P1 dan kelompok P2 dilakukan melalui rute per-oral menggunakan sonde lambung selama 10 hari. Tikus putih pada perlakuan P1 diberikan ekstrak dari tanaman terong cepoka dengan dosis terapi 1 g/KgBB sedangkan tikus putih dengan label perlakuan P2 diberikan ekstrak tanaman biji kapuk sesuai dengan perhitungan dosis terapi dan masing-masing berat badan hewan coba. Dosis pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk yaitu 0,1 g/KgBB. Pemberian ekstrak tersebut

sebelumnya harus diencerkan terlebih dahulu dengan aquades (Perhitungan **Lampiran 7**). Volume dari masing-masing ekstrak yang akan diberikan yaitu tergantung dari berat tikus putih. Pemberian ekstrak tanaman terong cepoka dan biji kapuk ini dilakukan sebanyak satu kali pemberian sebelum makan. Perlakuan dilakukan dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-17.

4.4.4 Euthanasi Hewan Coba

Pada penelitian ini hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) sampai hari ke-17, dilakukan euthanasi pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) di hari ke-18. Langkah awal yang dilakukan pada proses euthanasia hewan coba dengan cara memberikan kloroform pada kapas yang selanjutnya diletakkan pada wadah tertutup. Hewan coba diletakkan pada wadah tertutup dan ditunggu sampai hewan coba tidak sadarkan diri.

4.4.5 Pengambilan Sampel Darah Hewan coba

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel darah pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) melalui intracardial. Hewan coba dieutanasi dengan dislokasi servikal terlebih dahulu lalu kemudian direbahkan dengan posisi dorsal pada papan pembedahan. Palpasi pada bagian processus. xyphoideus dan daerah tulang rusuk terakhir, dan arahkan jarum dengan posisi sudut 40-45 derajat ke arah depan dengan perlahan sampai terlihat darah yang masuk ke dalam spuit. Posisi spuit distabilkan dan sedot darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) maksimal 3 ml. Darah dimasukan

ke dalam tabung reaksi dan posisi tabung reaksi dimiringkan agar darah tidak menggumpal.

4.4.6 Pengambilan Sampel Organ

Penelitian kali ini dilakukan pengambilan jaringan pada organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dilakukan pada hari ke-17. Proses pengambilan sampel jaringan diawali dengan didislokasi tikus pada bagian leher lalu dilakukan pembedahan. Pembedahan dimulai dengan merebahkan tikus dengan posisi rebah dorsal pada papan pembedahan, setelah itu dilakukan insisi pada bagian peritoneum selebar mungkin agar memudahkan saat pengambilan organ. Organ hepar terletak di bagian dextra abdomen dengan ciri-ciri berwarna merah bata dan memiliki banyak lobus, setelah itu organ hepar disimpan pada pot sampel berisi buffer formalin 10% agar tidak terjadi pembusukan pada organ tersebut dan disimpan dengan suhu ruang 25 C - 28 C.

4.4.7 Pengukuran Kadar Malondialdehyde (MDA)

Pengukuran kadar MDA (Malondialdehid) serum pada hewan coba tikus putih ini (*Rattus norvegicus*) menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Metode ini dilakukan dengan menggunakan ELISA kit untuk pengukuran kadar MDA pada serum hewan coba. Menurut Bioassay Technology (2017). Pengukuran kadar MDA ini dimulai dengan persiapan persiapan alat dan bahan yang meliputi microplate, micropipet, parafilm, tabung, sentrifuge, ELISA kit, ELISA reader,

Inkubator, serum tikus putih, *wash buffer*, *substrat solution A*, *substrat solution B*, *standart diluent*, *streptavidin-HRP*, *stop solution*, *Biotinylated rat MDA antibody*, *plate selaer*,. Persiapan dilanjutkan dengan serum yang disimpan dari lemari pendingin(Cooler) dibiarkan terlebih dahulu pada suhu ruang (37°C) selama 10 -20 menit, setelah itu sampel serum dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000-3000 rpm dengan suhu 25°C. Hasil dari sentrifuge sampel serum diambil pada bagian supernatan dan dipindahkan ke tabung baru lalu dilakukan penempatan sampel serum.

Setelah menyiapkan sampel serum dilanjutkan dengan membuat standart 5 sampai dengan standart 1 dengan konsentrasi awal standart yaitu 12,8 nmol/ml Setelah pembuatan standart selesai, selanjutnya memasukkan masing-masing 50 µl standart 5- standart 1 pada microplate untuk tempat standart tersebut dan lanjutkan dengan masukkan sampel serum sebanyak 40µl,antibodi 10µl, dan streptavidin HRP 50µl dimasukkan pada masing-masing microplate yang sudah disesuaikan. lalu digoyangkan secara perlahan. Langkah selanjutnya microplate dibungkus dengan parafilm dan dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37°C selama 60 menit. Langkah selanjutnya adalah dilakukan preparasi *wash buffer* dengan konsentrasi 30x dan dosis 3cc + 87cc aquabides, setelah diinkubasi 60 menit parafilm dibuka dan dibilas menggunakan wash buffer dengan pengulangan sebanyak 5x dengan cara pembilasan yaitu memasukkan washing buffer sampai microplate terisi penuh dan cairan dibuang menggunakan tissue. Prosedur pengukuran kadar MDA selanjutnya memasukkan substrat A sebanyak 50µl

dan selanjutnya substrat B. Untuk langkah terakhir, *stop solution* ditambahkan sebanyak 50 μ l pada setiap microplate yaitu warna biru dan warna kuning dan untuk prosedur pemeriksaan kadar MDA dengan sampel serum selanjutnya di dilakukan pembacaan menggunakan ELISA reader untuk mengetahui hasil pemeriksaan kadar MDA.

4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan preparat histopatologi organ hepar (**Lampiran 8**) yang berfungsi untuk melihat secara mikroskopis gambaran histopatologi perubahan organ hepar setelah perlakuan. Menurut Jusuf (2009) proses pembuatan preparat histopatologi terdiri atas fiksasi, dehidrasi, clearing, embedding, sectioning, penempelan pada obyek glass dan pewarnaan.

4.4.9 Analisis Data

Data hasil pengukuran MDA dianalisis secara kuantitatif menggunakan Microsoft Excel dan statistical Product of Service Solution (SPSS) 16.0 for Windows untuk Two Ways Analysis of Variance (ANOVA) dan uji lanjutan dengan uji Tukey atau BNJ dengan $\alpha = 0,05$ Data pengamatan hasil histopatologi hepar dianalisa secara deskriptif kualitatif. Analisa kualitatif untuk histopatologi hepar dilakukan dengan membandingkan gambaran histopatologi hepar dari masing-masing kelompok perlakuan penelitian dengan melihat kerusakan sel hepatositnya. Gambaran histopatologi sel hepatosit hepar akibat paparan senyawa gosipol dapat terlihat abnormalitas pada sel hepatosit seperti

batas antara sinusoid tidak terlihat, inti sel tidak berada di tengah, kongesti dan degenerasi.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Efek Pemberian Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Pemberian ekstrak biji kapuk (P2) yaitu menghasilkan dampak peningkatan kadar MDA karena senyawa toksik gossypol yang mengakibatkan terjadinya mekanisme peroksidasi lipid sehingga terjadinya keadaan stres oksidatif. Hasil dari pengukuran kadar Malondialdehid (MDA) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi perlakuan yaitu pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk menunjukkan.

Tabel 5.1 Rata-rata Kadar Malondialdehida (MDA) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Seluruh Kelompok

| Kelompok | Rata-rata kadar MDA ng/dL ± SD | Peningkatan (%) |
|---|-----------------------------------|--------------------|
| Kontrol (-) | 319,74 ± 39,22 ^a | – |
| P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dengan dosis 1 g/kg BB) | 303,59 ± 35,17 ^a | – |
| P2 (pemberian ekstrak biji kapuk dengan dosis 0,1 g/kg BB) | 469,42 ± 143,456 ^b | 31,88 |

Keterangan: Notasi a, b, c dan d menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan

Tabel 5.2 Hasil perhitungan ANOVA Kadar Malondialdehida (MDA) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

| S.V. | df ^x | SS | MS ^{xx} | F ^{xxx} Calc | F5% | F1% |
|-----------|-----------------|------------|------------------|--------------------------|------|------|
| Treatment | 2 | 100331,307 | 50165,654 | 6,444 | 3,06 | 4,89 |
| Error | 15 | 116778,334 | 7785,223 | | | |
| Total | 17 | 217109,651 | | | | |

Keterangan : Fhitung > Ftabel, maka pada perlakuan menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,01$) dengan $\alpha = 5\%$.

Kelompok kontrol (-) memiliki rata-rata kadar MDA yaitu sebesar 319,74 ng/dL. Hal ini mengartikan bahwa tubuh dalam kondisi normal dapat memproduksi MDA yang dipengaruhi beberapa faktor seperti lingkungan (Kahnamoei, 2014). Kelompok P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dosis 1 mg/kg BB) memiliki rata-rata kadar MDA sebesar 303,59 ng/dL menunjukkan Hasil kadar MDA tidak terjadi peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (-). Keadaan ini dapat dipengaruhi oleh senyawa antioksidan tinggi yang terdapat pada tanaman terong cepoka yaitu flavonoid sehingga tidak terjadinya keadaan stress oksidatif. Flavonoid dapat menurunkan aktivitas radikal bebas yang dihasilkan oleh solasodine dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus hidroksil (OH^-) pada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal flavon. Radikal flavonoid ini akan terjadi resonansi sehingga akan menghasilkan senyawa kuinon yang lebih stabil (Majewska *et al*, 2011). Kelompok P2 (pemberian ekstrak biji kapuk dosis 0,1 mg/kg BB) memiliki nilai rata-rata kadar MDA sebesar 469,42 ng/dL mengalami peningkatan dengan persentase sebesar 31,88% dibandingkan dengan hasil dari kelompok P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dosis 1 mg/kg BB) dan kelompok (K-). Hasil kadar MDA tersebut menunjukkan tidak berbeda signifikan ($P < 0,05$) dengan kelompok perlakuan P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dosis 1 mg/kg BB) (**Tabel 5.1**).

Hasil kadar MDA pada kelompok P2 (pemberian ekstrak biji kapuk dosis 0,1 mg/kg BB) menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA dibandingkan dengan P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dosis 1 mg/kg BB) dan K(-), hal ini disebabkan oleh senyawa toksik yang terdapat pada tanaman biji kapuk yaitu

gossypol yang memicu terjadinya stress oksidatif, sedangkan pada ekstrak terong cepoka memiliki senyawa toksik berupa solasodine dan terdapat senyawa antioksidan di dalamnya seperti flavonoid sehingga tidak berdampak pada kenaikan kadar MDA. Gossypol merupakan senyawa bersifat sitotoksik yang memiliki target utama yaitu mitokondria dan komunikasi interseluler (Reyes *et al.*, 1984). Gossypol dapat memblokir komunikasi antar sel yang di mediasi oleh *gap junction* (Hutchinson *et al.*, 1995). *Gap junction* terdiri atas protein connexin 43 yang secara fisiologis berikatan dengan konektor pada membran sel lain sehingga heme channel transport membran sel saling terbuka dan terdapat pertukaran ion antar sel. Heme channel ini akan berikatan dengan gossypol selanjutnya mengakibatkan koneksi akan terus terbuka. Kondisi tersebut membuat ion-ion dan ATP pada sel akan keluar dari interseluler sehingga keseimbangan sel terganggu dan terjadinya permeabilitas membran sel sehingga banyak ion-ion dan ATP keluar yang mengakibatkan mitokondria harus bekerja lebih keras dalam menghasilkan ATP (Hutchinson, *et al.*, 1998).

Mitokondria merupakan sumber utama hidrogen peroksida (H_2O_2) sel. Metabolisme pada mitokondria membutuhkan O_2 yang akan berperan dalam pembentukan ATP, akan tetapi sebagian O_2 akan tereduksi selanjutnya membentuk superoksida (O_2^-) yang bersifat reaktif. Terjadinya reduksi O_2 akibat kehilangan satu elektron dalam rantai transpor elektron mitokondria. Proses selanjutnya akan mereduksi O_2^- lagi menjadi H_2O_2 , yang diperantarai oleh enzim *superoxid dismutase* (SOD) dan H_2O_2 akan tereduksi menjadi radikal hidroksil (OH^-). Terbentuknya radikal hidroksil dapat terjadi dengan cepat karena

hidrogen peroksida ini mampu berikatan dengan ion Fe^{2+} dan Cu^{2+} sehingga menghasilkan radikal hidroksil (Handoko dan Sumilat, 2011). Radikal hidroksil ($OH\cdot$) yang dihasilkan memiliki sifat sangat reaktif dengan komponen lipid yaitu PUFA atau asam lemak tak jenuh. Proses ini dimulai radikal hidroksil ($OH\cdot$) berikatan dengan atom hidrogen pada rantai PUFA yang mengakibatkan akan menghasilkan air dan asam lemak tak jenuh bersifat radikal. Asam lemak tak jenuh bersifat radikal ini akan berikatan dengan oksigen (O_2) menjadi radikal peroksil lipid, selanjutnya akan menyerang rantai samping PUFA yang lainnya dan siklus tersebut akan terus terulang dan menghasilkan yaitu MDA (malondialdehyd) (Winarsi, 2007). Peroksidasi lipid akan secara terus menerus terjadi sampai reaksi tersebut bertemu antioksidan yang dapat menetralkan sehingga dapat mencegah stres oksidatif dengan cara mengikat gugus hidroksil radikal bebas agar tidak berikatan dengan lipid untuk berperoksidasi sehingga MDA (*malondialdehyd*) tidak terbentuk atau radikal bebas baru.

Ekstrak terong cepoka dan biji kapuk pada pemberian secara *per-oral* akan terjadi mekanisme ADME (absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) terabsorpsi terlebih dahulu di lambung. Ekstrak terong cepoka dan biji kapuk memiliki kandungan protein dan karbohidrat dan lemak sehingga di dalam lambung akan bereaksi dengan beberapa enzim yaitu pepsin, renin dan lipase agar kemudian melalui pembuluh darah hasil dari absorpsi akan di distribusikan langsung ke organ hepar melalui vena mesenterika dan vena porta hepatica (Shargel *et al.*, 2005). Pada organ hepar ini selanjutnya dilakukan metabolisme pada ekstrak terong cepoka dan biji kapuk. Terong cepoka memiliki senyawa

toksik yaitu solasodine dan biji kapuk adalah gossypol. Menurut Efsa (2009) gossypol dapat menurunkan kadar enzim sitokrom P450 dan enzim glutathione s transferase yang berfungsi sebagai detoksifikasi melalui mekanisme Biotransformasi. Biotransformasi memiliki 2 fase yaitu Fase 1 terdiri atas proses oksidasi, reduksi, dan hidrolisis yang bertujuan untuk menghasilkan senyawa yang lebih hidrofilik (Gibson, 1991). Metabolisme fase 1, terdapat enzim yang berperan pada fase ini yaitu sitokrom P450 terdapat pada retikulum endoplasma di hepatosit, akan tetapi senyawa gossypol mampu menurunkan kadar enzim sitokrom P450 sehingga metabolisme terhadap gossypol tidak berjalan dengan baik yang mengakibatkan gossypol terakumulasi dalam organ hepar.

Fase 2 yaitu konjugasi. Konjugasi merupakan fase merubah senyawa dari metabolisme fase 1 menjadi dalam bentuk konjugat. Konjugat adalah molekul yang sangat polar dan dapat larut dalam air agar dapat dieksresikan oleh organ ginjal. Terdapat Enzim yang berperan penting dalam konjugasi yaitu enzim glutathione s transferase, akan tetapi senyawa gossypol dapat menurunkan aktifitas dari enzim tersebut sehingga pada fase 2 tersebut tidak berjalan baik yang mengakibatkan gossypol tidak dapat di ekskresi (Efsa, 2009). Hasil metabolisme tersebut di alirkan oleh pembuluh darah dari hepar vena hepatica lalu vena cava inferior dan menuju jantung senyawa toksik dalam darah ini di pompa jantung beredar dalam tubuh. Radikal bebas yang terdapat pada senyawa toksik tersebut dapat menyebabkan keadaan stress oksidatif. Kondisi ini dapat menyebabkan keadaan patologis yaitu peroksidasi lipid sehingga dapat menyebabkan terputusnya rantai PUFA menjadi beberapa senyawa, salah satunya adalah hasil

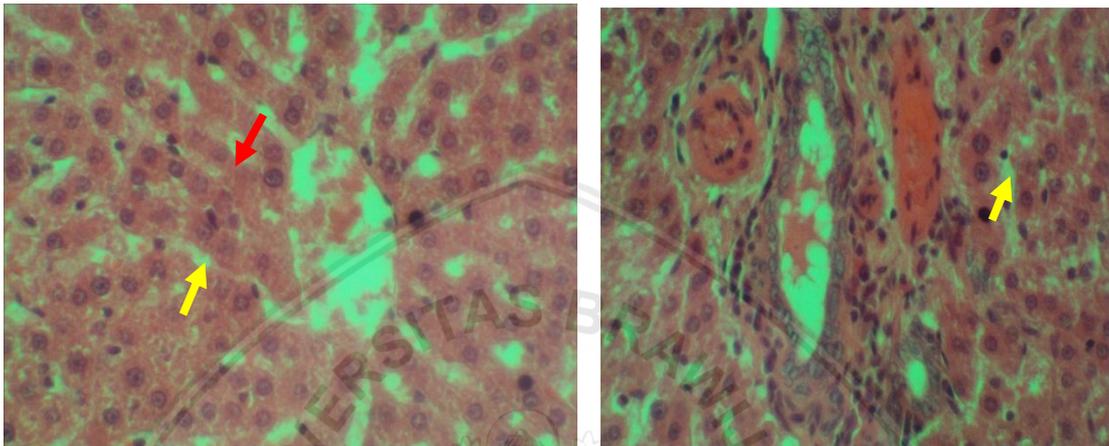
sekunder dari peroksidasi lipid yaitu MDA (malondialdehid) (Rahimah *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut kenaikan nilai rata-rata kadar MDA pada kelompok kontrol (-) dan P1 yaitu kelompok tanpa perlakuan dan pemberian ekstrak terong cepoka dosis 1 g/kg BB tidak meningkatkan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*), sedangkan kelompok (P2) pemberian ekstrak biji kapuk dosis 0,1 g/kg BB meningkatkan kadar MDA. Perbandingan hasil dari kelompok kontrol (-) dan P1 terhadap P2 bahwa kelompok P2 memiliki persentase kenaikan nilai kadar MDA yang tinggi.

5.2 Efek Pemberian Ekstrak Terong Cepoka dan Biji Kapuk Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

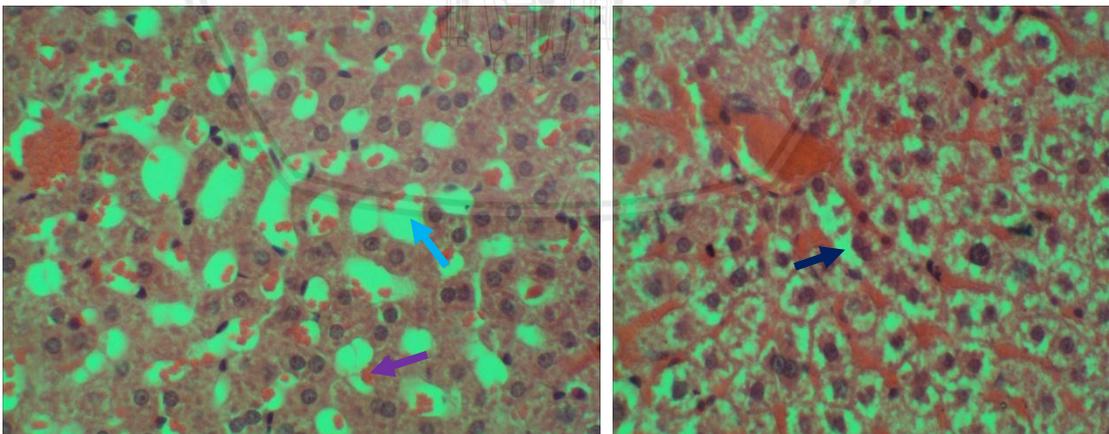
Pengaruh pemberian ekstrak terong cepoka dan biji kapuk terhadap organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) menunjukkan gambaran histologi yang berbeda diantara 3 kelompok berbeda perlakuan. Gambaran yang terlihat pada kelompok perlakuan kontrol (-) merupakan gambaran histologi pada organ hepar yang meliputi sel hepatosit, sinusoid dan vena sentralis dalam keadaan normal. Sel hepatosit terlihat jelas dengan inti bulat, berwarna keunguan, inti berbentuk bulat serta dinding sel berbatas. Pada vena sentralis tidak terlihat limfosit dan sinusoid terlihat normal dengan celah yang beraturan, tidak melebar dan menyempit (**Gambar 5.1**). Gambaran histopatologi hepar normal terdiri atas bagian yang disebut lobulus, yang dimana akan dipisahkan oleh jaringan ikat dan pembuluh darah. Pembuluh darah pada organ hepar ini berada di sudut-sudut lobulus dan berakhir dengan membentuk area portal atau yang biasa disebut

trigonum kiernan (Lumongga, 2008). Pada bagian area portal ini dapat dilihat cabang arteri hepatica, cabang vena porta dan duktus biliaris terlihat normal (Gambar 5.1).



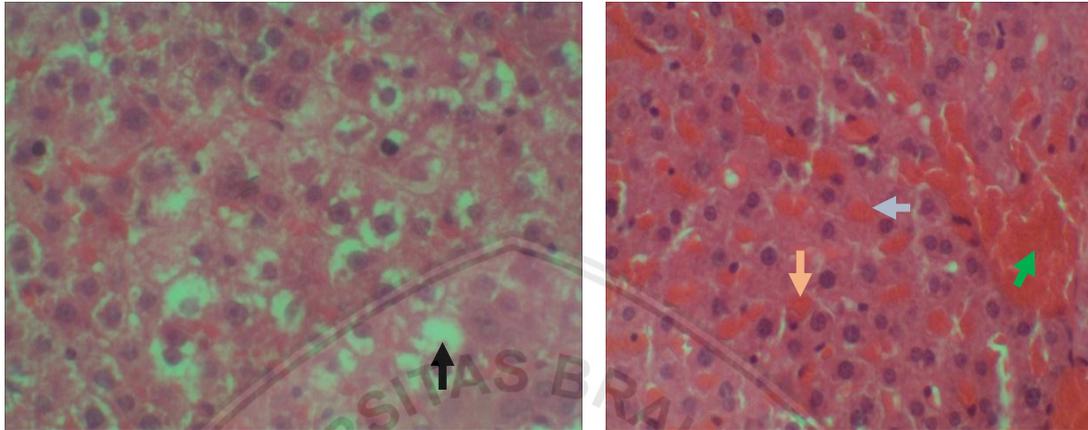
Gambar 5.1 Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Kelompok perlakuan Kontrol (-) dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE), Perbesaran 40x

Keterangan : ↑: Hepatosit normal, ↑: Sinusoid



Gambar 5.2 Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Kelompok P1 (pemberian ekstrak terong cepoka dengan dosis 1 mg/kg BB) dengan Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE), Perbesaran 40x

Keterangan : ↑: Dilatasi sinusoid, ↑: Degenerasi hidropik, ↑: Hemoragi



Gambar 5.3 Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Kelompok P2 (pemberian ekstrak biji kapuk dengan dosis 0,1 mg/kg BB) dengan Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE), Perbesaran 40x

Keterangan : ↑ : Degenerasi hidropik, ⇑ : Kongesti sinusoid, ⇑ : Kongesti Vena sentralis, ⇑ : Hemoragi hepatosit

Hasil pengamatan histopatologi pada tikus kelompok P1 (**Gambar 5.2**) yaitu, kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak terong cepoka dengan dosis tunggal 1 g/kg BB ditemukan berupa adanya hemoragi, dilatasi sinusoid dan beberapa hepatosit mengalami degenerasi sel, yaitu degenerasi hidropik. Pada tikus kelompok P2 pemberian ekstrak biji kapuk dengan dosis tunggal 0,1 g/kg BB (**Gambar 5.3**), mengalami perubahan gambaran histopatologi yaitu kongesti pada bagian vena sentralis sampai sinusoid dan degenerasi sel yaitu degenerasi hidropik. Keseluruhan dari pengamatan hasil histopatologi tersebut, diketahui bahwa pada kelompok P1 dan P2 kerusakan pada hepar yang terjadi didominasi oleh degenerasi hidropik dan kongesti. Kerusakan sel hepatosit yaitu degenerasi hidropik dapat terjadi karena adanya gangguan pada membran sel yang

merupakan respon terhadap bahan-bahan kimia yang berasal dari luar tubuh bersifat toksik.

Solasodine dan gossypol merupakan senyawa toksik berasal dari luar tubuh yang dapat memberikan respon pada suatu organ jika terakumulasi berlebih dan akan mengakibatkan salah satunya yaitu terjadinya gangguan metabolisme pada organ hepar. Salah satu akibat dari adanya gangguan metabolisme ini yaitu degenerasi hidropik. Degenerasi hidropik adalah adanya vakuola berisi air yang tidak mengandung lemak sehingga mengakibatkan sitoplasma akan menjadi pucat dan membengkak karena adanya timbunan cairan yang diakibatkan oleh gangguan metabolisme bahan kimia dari luar tubuh (Rippey, 2004). Senyawa solasodin dan gossypol yang bersifat toksik ini dapat akan mengganggu organel mitokondria. Solasodine merupakan senyawa alkaloid yang dapat mengganggu fosforilasi oksidatif dengan mendegradasi krista mitokondria, sehingga terhambatnya metabolisme ATP pada mitokondria (Li, 2016). Gossypol terdapat gugus aldehyde yang dapat berikatan kovalen dengan gugus amine dalam mitokondria sehingga terbentuknya degradasi krista mitokondria. Degradasi mitokondria menyebabkan terhambatnya fosforilasi oksidatif yang merupakan lintasan metabolisme untuk menghasilkan energi yaitu ATP (Deng, 2013) Dalam kondisi organel mitokondria terganggu akan mengakibatkan menurunnya produksi ATP sehingga fungsi untuk berjalannya pompa natrium (Na^+) ini tidak berfungsi.

Apabila jumlah ATP menurun bahkan tidak ada, Na^+ yang berada di dalam sel tidak akan keluar. Na^+ memiliki sifat yaitu dapat menarik air sehingga menyebabkan adanya gangguan terhadap permeabilitas sel sehingga cairan yang

berada di ekstrasel akan masuk ke dalam intrasel dengan jumlah banyak yang selanjutnya akan mengakibatkan terbentuknya vakuola jernih, kecil dan banyak. Vakuola-vakuola ini nantinya akan bersatu dan membuat vakuola yang lebih besar yang dapat menempati sitoplasma serta terjadi pembengkakan sel, yang selanjutnya akan terjadi degenerasi hidropik (Chang, 2006). Selain terjadinya perubahan patologis yaitu degenerasi hidropik. Selanjutnya juga terjadi perubahan berupa kongesti pada beberapa lokasi yaitu trigonum kiernan, vena sentralis dan sinusoid. Menurut Khaserao (2017) solasodine dapat menimbulkan efek toksik pada organ hepar yaitu kongesti, inflamasi, degenerasi lemak dan nekrosis. Pada kelompok (P1) ditemukan salah satu penyebab yang ditimbulkan dari akumulasi eritrosit pada vena-vena hepar dan sinusoid yaitu dilatasi sinusoid. Pelebaran (dilatasi) sinusoid dapat terjadi karena adanya desakan pada dinding sinusoid akibat adanya zat toksik sehingga aliran darah menuju sinusoid menjadi terhambat dan terisi oleh vakuola lemak (Rarangsari, 2015). Dilatasi yang terjadi pada sinusoid ini terisi oleh banyaknya penimbunan lemak, salah satu penyebab terjadinya penimbunan lemak adalah rusaknya oksidasi lipid oleh mitokondria (Frank, 1995). Solasodine memiliki dampak kerusakan pada mitokondria dengan mendegradasi krista. Menurut Frank (1995) senyawa bersifat toksik akan disimpan dalam bentuk lemak sehingga terjadinya penimbunan lemak pada organ hepar.

Penimbunan lemak jika terjadi terus menerus dan berlebih akan membuat terdesaknya sinusoid oleh komponen lemak, sehingga mengakibatkan perenggangan pada sel endotel dinding kapiler yang berdampak pada perdarahan

atau hemoragi. Hemoragi adalah kondisi ditandai dengan keluarnya darah dari dalam kapiler akibat terjadinya kerusakan pada dinding kapiler (Gavin *et al* , 2007). Kondisi penimbunan lemak dan hemoragi ini jika terjadi terus menerus akan menyebabkan terhambatnya distribusi nutrisi dan oksigen dalam darah yang digunakan sebagai aktivitas jaringan hepar yang mengakibatkan nekrosis (kematian sel). Nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi diakibatkan oleh tidak adanya suplai darah dan terpapar senyawa toksik yang ditandai oleh kerusakan sel. Hal tersebut dapat menyebabkan disfungsi jaringan. Tahapan nekrosis terdiri atas piknosis, karioreksis dan kariolisis (Pringgutomo, 2002)

Pada kelompok P2 didapati kerusakan yaitu hemoragi hepatosit, kongesti sinusoid dan degenerasi hidropik. Kongesti dapat dikarenakan kelompok P2 pada ekstrak biji kapuk mengandung gossypol yang memiliki efek toksisitas akut yaitu menyebabkan gagal jantung, kongesti pada beberapa organ yaitu ginjal, pulmo dan hepar (Cristina, 2014). Menurut Barhoumi and Burghardt (1996) gossypol secara selektif dapat memblokir komunikasi antar sel yang dimediasi oleh gap junctions (GJIC), hal tersebut dapat meningkatkan sensitivitas pada beberapa jaringan termasuk sel pada jantung sehingga terjadinya gangguan berupa gagal jantung. Efek toksisitas akut tersebut dapat terjadi karena pada penelitian ini menggunakan dosis 0,1 mg/kg BB dimana pada penelitian sebelumnya dosis tersebut dapat menimbulkan efek toksik (Uzal, 2005). Kongesti adalah kondisi abnormal dimana terjadinya kelebihan volume darah pada suatu bagian pembuluh darah. Hal ini dapat terjadi karena terlalu banyak darah yang masuk ke arteri atau terlalu kecilnya darah yang menuju vena. Faktor lain yang dapat menyebabkan

kongesti adalah kerusakan sel diakibatkan senyawa bersifat toksik, yang dimana sel yang rusak akan mengeluarkan mediator inflamasi yaitu histamin sehingga terjadinya dilatasi kapiler-kapiler darah dan peningkatan darah arus lokal (Hamdani dkk., 2013).

Kongesti pada organ hepar disebabkan oleh kegagalan jantung kanan (Vegad dan Swamy, 2010). Menurut Acton (2013) Gagal jantung kanan (Right-Sided Heart Failure) adalah keadaan disfungsi ventrikel kanan dapat saling berkaitan dengan disfungsi ventrikel kiri pada gagal jantung apabila dilihat dari kerusakan yang diderita oleh kedua sisi jantung yang akan membuat sirkulasi darah dari jantung ke hati mengalami gangguan. Hal tersebut dapat menyebabkan adanya akumulasi eritrosit pada vena-vena di hati termasuk sinusoid. Akumulasi eritrosit ini juga terjadi pada bagian hepar salah satunya sinusoid, yang selanjutnya akan menyebabkan pelebaran sel endotel sehingga terjadinya hemoragi. Hemoragi ini terjadi karena adanya akumulasi eritrosit pada kapiler darah sehingga akan mengakibatkan pelebaran sel endotel. Akumulasi eritrosit tersebut jika berlangsung terus menerus akan membuka celah dinding sel endotel yang mengakibatkan darah akan keluar dari kapiler (Sudiono *et al*, 2013). Kongesti dan dilatasi pada vena-vena hepar ini akan menyebabkan terganggunya distribusi oksigen dan nutrisi pada hepatosit. Daerah yang akan mengalami kerusakan seperti kongesti pertama kali adalah zona sentrilobular (Suriawinata dan Thung 2011).

Zona sentrilobular merupakan bagian sekitar vena sentralis yang merupakan daerah paling jauh dari sumber oksigen dan nutrisi. Terjadinya

kerusakan pada sel hepar dilatasi sinusoid, degenerasi hidropik dan kongesti ini dapat menimbulkan dampak pada kehidupan sel. Menurut Kumar *et al* (2007) nekrosis terjadi setelah suplai darah hilang, setelah terpapar senyawa toksik yang ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Hal berdampak yaitu terjadinya disfungsi berat jaringan.

Kerusakan sel organ hepar pada masing-masing perlakuan yaitu P1 mengalami dilatasi sinusoid dan degenerasi hidropik. Kelompok P2 terdapat kerusakan yaitu kongesti dan degenerasi hidropik. Senyawa toksik pada terong cepoka yaitu solasodine dan biji kapuk adanya gossypol memiliki mekanisme target sel yang sama yaitu mitokondria sehingga menyebabkan kerusakan seperti dilatasi sinusoid dan degenerasi hidropik. Kongesti pada kelompok P2 terjadi karena gossypol memiliki target kerusakan sel selain dari mitokondria yaitu jantung, sehingga menyebabkan terganggunya aliran darah pada organ hepar.

Dalam penelitian ini pada nilai kadar MDA terlihat peningkatan yang nyata antara kelompok K(-) dan P1 dengan P2 dengan perlakuan pemberian ekstrak yang berbeda. Perlakuan pemberian ekstrak terong cepoka (P1) terlihat perubahan-perubahan pada sel hepar yaitu dilatasi sinusoid dan degenerasi hidropik dengan kadar rata-rata kadar MDA yang normal, hal tersebut dapat diakibatkan ekstrak terong cepoka memiliki senyawa antioksidan yaitu flavonoid dan secara spesifik solasodin memiliki mekanisme kerusakan pada organel mitokondria dengan mendegradasi mitokondria (Li, 2016), sehingga dapat mengganggu metabolisme mitokondria yang berperan dalam aktivitas sel yang dapat mengakibatkan kerusakan sel. Secara spesifik solasodin tidak langsung

merusak membran sel yang terdapat PUFA sehingga tidak terjadi mekanisme peroksidasi lipid yang dapat menghasilkan produk yaitu MDA dan kerusakan sel yang terjadi pada P1 tidak diakibatkan oleh mekanisme peroksidasi lipid menghasilkan produk yaitu MDA yang memiliki sifat toksik pada sel.

Pemberian ekstrak biji kapuk (P2) menunjukkan perubahan yang lebih signifikan dengan terjadinya kerusakan berupa kongesti dan degenerasi hidropik dikarenakan senyawa gossypol yang bersifat toksik dan tidak terdapat senyawa antioksidan pada ekstrak biji kapuk. Peningkatan kadar MDA pada kelompok (P2) yang nyata dan adanya kerusakan pada hepar menjadi tanda bahwa senyawa yang berada di ekstrak terong cepoka dan biji kapuk memiliki dampak toksisitas pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang di dapat berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa:

1. Pemberian ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum swartz*) dengan dosis 1 g/kg BB tidak dapat meningkatkan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*), akan tetapi mampu mengakibatkan kerusakan pada sel hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Pemberian ekstrak biji kapuk (*Ceiba pentandra L*) dengan dosis tunggal 0,1 g/kg BB dapat meningkatkan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan mengakibatkan kerusakan pada sel hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*).

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan saran yang dapat dilakukan untuk pengembangan pada penelitian tersebut yaitu : perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak tersebut terhadap beberapa organ yang berperan terhadap ADME seperti lambung, usus dan ginjal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati PN. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Amirudin, R., 2009. Fisiologi dan Biokimia hati : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V. Jakarta. Interna Publishing. Hal : 627.
- Amalina, N., 2009, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) terhadap Hepar Mencit Balb/c., *Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah*, Universitas Diponegoro, Semarang
- Budiman H, Akmal M dan Siregar T N, 2013. Perubahan Histopatologis Ovarium Mencit Akibat Keracunan Etilen Glikol. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh
- Barhoumi, R., Burghardt, R. C. 1996. Kinetic analysis of the chronology of patulin- and gossypol-induced cytotoxicity in vitro. *Fundam. Appl. Toxicol.* 30, 290–297
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM RI). 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara *In Vivo*, BPOM RI, Jakarta.
- Cai X., Wardlaw T and Brown W. D. 2012. Global trends in exclusive breastfeeding. Cai et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
- Câmara, A.C.L., Gadelha, I.C.N., Borges, P.A.C., de Paiva, S.A., Melo, M.M. and Soto-Blanco, B. 2015. Toxicity of gossypol from cottonseed cake to sheep ovarian follicles. *PloS ONE*.10 (11): 1-11
- Chang K.C, Yuan S.H, Xu B.J. 2007. *Comparative Analyses of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes*. *J. FoodSci* 72 (2).
- Cheng, J. S., Lo, K. Y., Yeh, J. H., Cheng, H. H., Liu, C. P., Chen, W. C. and Jan, C. R. 2003. Effect of gossypol on intracellular Ca²⁺ regulation in human hepatoma cells. *Chin. J. Physiol.* 46: 117-122.

- Choubey A. 2011. In Vitro Growth and Inhibition Studies of Ceiba Pentandra on Monosodium Urate Monohydrate Crystals. *Pharmacology Online* 2
- Cheeke, P. R. 2004. Animal Agriculture. 3th Ed. Upper Saddle Rive. Prentice Hall. New Jersey.
- Cunha, M. D. G., G. C. M. Gonzalez., F. F. R. Carvalho and A.T. Soares. 2012. Effect of Diets Containing Whole Cottonseed on The Quality of Sheepsemen. *Acta Scientiarum. Animal Sciences Maring* 34 (3): 305-311.
- Dancygier, H. 2010. Clinical Hepatology: Principles and Practice of Hepatobiliary Diseases. Berlin: Springer-Verlag, p. 289-290, 1028.
- Deng Sijun, Yuan Huan, Yi Jine1, Lu Yin, Wei Qiang, Chengzhi Guo, Jing Wu, Liyun Yuan, Zuping He. 2013. Gossypol acetic acid induces apoptosis in RAW264.7 cells via a caspase-dependent mitochondrial signaling pathway. *Journal of Veterinary Science. College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China* 2Clinical Stem Cell Research Center, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China 3State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes, Shanghai Cancer Institute, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200032, China
- Mangoting,C., Irawan I., Abdullah S. 2008. Tanaman Lalap Berkhasiat Obat. Jakarta : Penebar Swadaya. Halaman 63, 73, 79.
- Donatus, I. A. 2001. Toksikologi Dasar, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Friedman, M., P.R. Henika, B.E. Mackey. 2003. Effect of feeding solanidine, solasodine andtomatidine to non-pregnant and pregnant mice. *Food and Chemical Toxicology*: 41. 61.71.
- Francisco J.S, Waldo L, Garcia J, Isadora L, Karin S. Histopathological and immunohistochemical characterisation of hepatic granulomas in Leishmania donovaniinfected BALB/c mice:a time-course study. *Parasites Vector J.* 2018;11(73):1–9.19.
- Fransisco A.U., Birgit P., John M.T., Robert W.N. 2005. Gossypol Toxicosis in a Dog to Ingestion of Cottonsed Bedding. *J Vet Diagn Invest* 17:626-629.
- Fajariyah, S., Utami, T. E., dan Arisandi, Y. 2010, Efek Pemberian Estrogen Sintetis (Diethylstilbestrol) terhadap Struktur Hepar dan Kadar SGOT dan SGPT pada Mencit (Mus musculus) Betina Strain Balb "C. *Jurnal Ilmu Dasar vol 11 (1)*, 78-8

- Gadelha, I.C.N., Fonsesa, N.B.S., Oloris, S.C.S., Melo, M.M., and Blanco, S.B. 2014. Gossypol toxicity from cottonseed products. *Sci. World. J.* 14 (4): 1-9.
- Garsetiasih, R., N.M. Heriyanto dan J. Atmaja. 2003. Pemanfaatan dedak padi sebagai pakan tambahan rusa. *Buletin Plasma Nutfah* 9(2): 23-27. Bogor.
- Gibson, G.Gordon Dan Paul Skett, 1991. *Pengantar Metabolisme Obat*. UI Presss, Jakarta.
- Goenarso, D., Suropto, dan Zulfani. 2004. Efek Gosipol terhadap Kontraksi Usus Halus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster Jantan secara in vitro. *JMS.* 9 (1): 183 – 188.
- Gitawati, R., 1995, *Radikal Bebas: Sifat dan Peranan Dalam Menimbulkan Kerusakan atau Kematian Sel*. Cermin Dunia Kedokteran, 102, Hal: 33-36.
- Grotto Denise., Lucas Santa., Juliana Valentini. 2009. Importance Of The Lipid Peroxidation Biomarkers and Methodological Aspect For Malondialdehyde Quantification, *Quim Nova*, Vol. 32, No. 1, 169-17
- Hartadi H., S. Reksohadiprojo, AD. Tilman. 1997. *Tabel Komposisi Pakan Untuk Indonesia*. Cetakan Keempat, Gadjah Mada Uivesity Press, Yogyakarta.
- Hutchinson, R. W., Barhoumi, R., Burghardt, R. C. 1995. Laser cytometric analysis of gossypol-induced cytotoxicity. *Toxic Substance Mech.* 14, 169–184.
- Hutchinson, W Richard., Barhoumi, Rola., Jared M. Miles., Robert C. Burghardt. 1998. Attenuation of Gossypol Cytotoxicity by Cyclic AMP in a Rat Liver Cell Line. Department of Veterinary Anatomy and Public Health, and †Image Analysis Laboratory, TexasA&MUniversity, College Station, Texas, 77843–4458
- Hodgson E, Levi P E, (2000). *A Textbook of Modern Toxicology*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 207-10.
- Herve, J. C., Bastide, F. P. B., Cronier, L., Verrecchia, F., Malassine, A. and Joffre, M. .1996. Contraceptive gossypol blocks cell to cell communication in human and rat cells. *Eur. J Pharm.* 313: 242-255.
- Halliwell, B and Gutteridge J.M.C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine* Fourth Edition. New York: Oxford University Press.
- Ivana Cristina N. Gadelha,1 Nayanna Brunna S. Fonseca., Silvia Catarina S. Oloris., Marília M. Melo, and Benito Soto-Blanco. 2014. *Gossypol Toxicity from Cottonseed Products*. Hindawi Publishing Corporation e Scientific World

Journal Volume 2014, Article ID 231635, 11 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/231635>

- Irwan, S.A. 2010. Tanaman Kapas dan Kaitannya dengan Gosipol. Balai Penelitian Ternak: Bogor.
- Jamieson, J.S., dan Baughman, W.F. 2003. Ceiba pentandra (Linn) Gaertn. J. Am Chem. Soc. 42 (page: 1197).
- Junqueira, L. S., Jose, C., 2004, Histologi Dasar: Teks & Atlas, EGC Medical Publisher. Jakarta, hal. 404
- Junqueira L.C., J.Carneiro, R.O. Kelley. 2007. Histologi Dasar. Edisi ke-5. Tambayang J., penerjemah. Terjemahan dari Basic Histology. EGC. Jakarta.
- Jusuf, A.A. 2009. Histoteknik Dasar. Bagian Histologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Khasrad, Ningrat RWS. 2010. Improving carcass quality of indigenous cattle of West Sumatera fed local feed resources. *Pakistan Journal of Nutrition*.9(8): 822826.
- Kahnamoei R, Maleki, Nasirzadeh. The Effects of Cigarette Smoking on Plasma MDA and Tac in University Students. *Indian J Fundam Appl Life Sci*. 2014;4(3):329–33.
- Kusumawati D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Kovacic, P, 2003. Mechanism of drug and toxic actions of gossypol: focus on reactive oxygen species and electron transfer. *J. Curr. Medic. Chem.* 10: 2711-2718.
- Kiroh, H.J., 1992. Efisiensi Penggunaan Bungkil Biji Kapuk sebagai Pengganti sebagian Pollard dalam Pakan Penggemukan terhadap Penampilan dan Kualitas Fisik Daging Sapi Jantan Kastrasi Australian Commercial Cross. [Thesis]. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kalt W. 2005. Effect of production and processing factors on major fruit and vegetable antioksidants. *Journal of food Science*. 70(1) : R11 - R19
- Khomsan A. 2004. Pengantar Pangan dan Gizi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Krinke, G. J. 2000. The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat. Academy Press, New York. Pp. 45-50, 295-296.

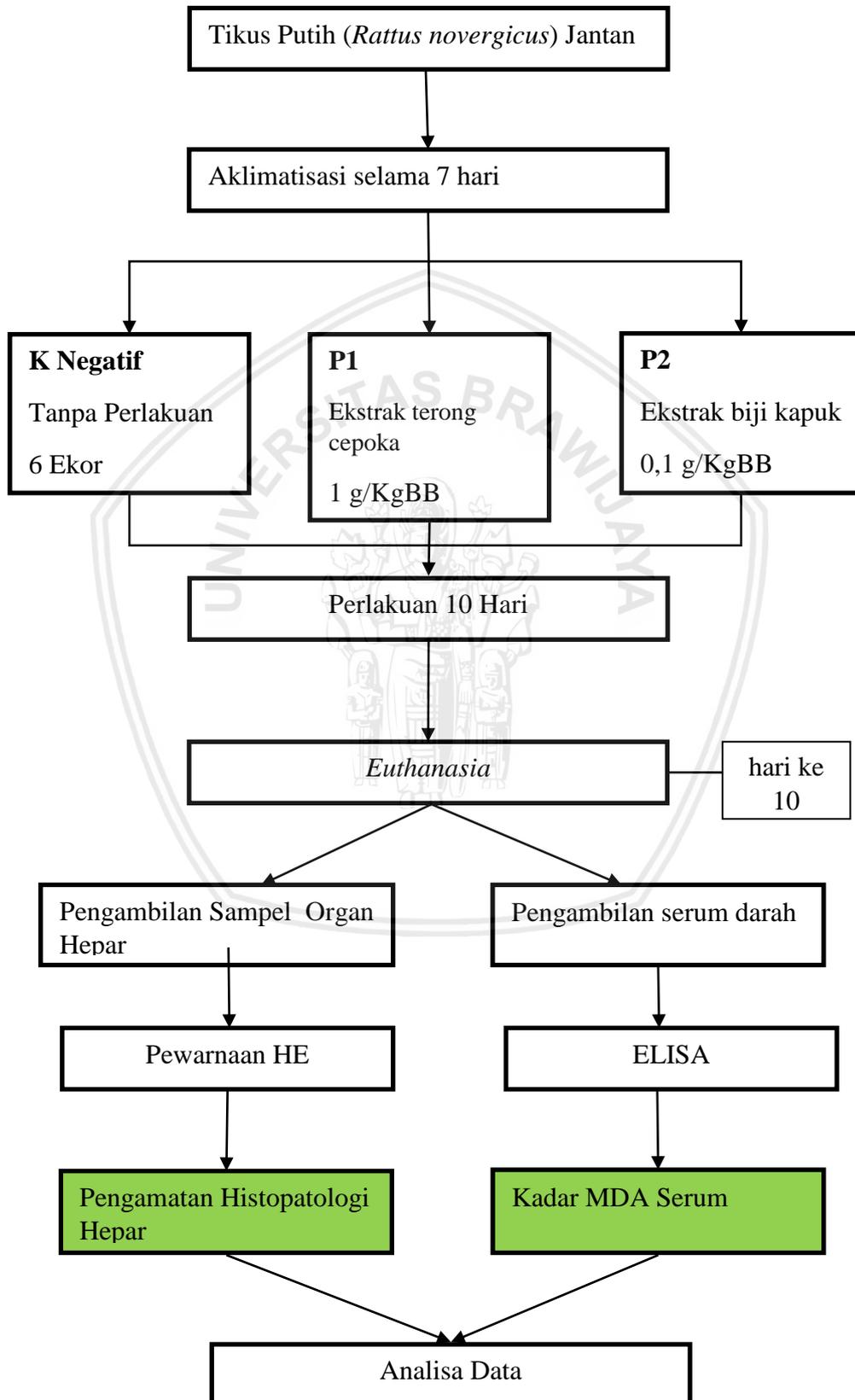
- Lawrence, G. H. M. 1964. Taxonomi of Vascular Plants. New York: The Macmillan Company
- Lu, F. C., dan Kacew, S. K. 2009. Lu's Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment, 5th ed., Informa Healthcare USA, Inc., New York
- Majewska, M., Michal S., Malgorzta P., dan Hanna C., 2011, Evaluation of Antioxidant Potential of Flavonoids an In Vitro Study, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 68, 4, 611-615
- Mangkoewidjojo S. 2006. Hewan Laboratorium Dalam Penelitian Biomedik. Yogyakarta : FKH UGM
- Moore, J. W., Stanitski, C., dan Jurs, P.C. 2006. Chemistry: The Molecular Science, 4th ed., Brooks Cole Cengage Learning, Belmont, h. 571.
- McGavin MD, Zachary JF. 2007, Pathologic Basis of Veterinary Disease., Edisi ke-4. USA: Mosby Elsevier.
- Neganova, I. E. G. G., Sekirina and Ritter, U. E. 2000. Surface-expressed E-cadherin, and mitochondrial and microtubule distribution in rescue of mouse embryos from 2-cell block by aggregation. *Mol. Hum. Reprod.* 6: 454-46.
- Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. 2005. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communication*; 338: 668–676.
- Ozougwu., J. 2016 . The Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Oxidative Stress. *Int. J. Res. Pharm. Biosci.* 3, 1–8 (
- Prakash R, Mullen KD, 2010. Mechanisms, diagnosis, and management of hepatic encephalopathy. *Nature Review Gastroenterology and Hepatology.*; 7 : 515-25.
- PLANTS (National Plants Database). 2003. Online database. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Services, National Plant Data Center, Baton Rouge, LA. Available: <http://plants.usda.gov> (Accessed: April 22, 2003).
- Pratiwi, R.H. 2014. Potensi Kapuk Randu (*Ceiba Pentandra*) Dalam Penyediaan Obat Herbal. *E-Journal WIDYA Kesehatan Dan Lingkungan* 1 (1) : 53-60

- Reyes, J., Allen, J., Tanphaichitr, N., Bellve, A. R., and Benos, D. J. 1984. Molecular mechanisms of gossypol action on lipid membranes. *J. Biol. Chem.* 259, 9607–9615
- Syahrizal, D. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologis Hati Mencit yang Dipapar Plumbum. [Thesis]. Medan: Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara.
- Soemirat, Juli. 2003. Toksikologi Lingkungan. Yogyakarta: UGM Press.
- Sudiono, J.B., Kurniadhi, A. Hendrawan dan B. Djinantoro. 2003. Ilmu Patologi. EGC. Jakarta
- Shargel, L., Yu, A., and Wu, S., 2005, Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan, Edisi kedua, Airlangga University Press, Surabaya. 167 – 187.
- Snell RS. 2006. Anatomi klinik untuk mahasiswa kedokteran, edisi ke-6. Jakarta: EGC. hlm. 240-5.
- Singla, N., and Garg, M, 2013. Effect of crude cottonseed oil containing gossypol on fertility of male and estrous cycle of female. *Bandicota bengalensis* Gray and Hardwicke. *Appl. Anim. Res.* 41 (2): 156-165
- Sudarmono A.S. dan Sugeng Y.B. 2008. Edisi Revisi Sapi Potong. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sirait, N, 2009. Terong cepoka (*Solanum torvum*) herba yang berkhasiat sebagai obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 15 (1): 10-12.
- Tohari, 2015. Sintesis Biodisel dari Minyak Biji Kapuk Randu (*Ceiba pentandra* L.) Dengan Variasi Waktu Lama Pengadukan Pada Reaksi Transesterifikasi. [Skripsi]. Program Studi Kimia Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
- Tjitrosoepomo, gembong. 2013. Taksonomi Tumbuhan . Yogyakarta : UGM
- Trivedi, P. and K. Pundarikakshudu, 2007. Novel TLC densitometric Method for quantification of solasodine in various solanum species, Market samples, & formulations, *chromatographia*, 65(3/4): 239-243.
- Utami DFR. 2010. Peroksidasi lipid pada tikus hiperkolesterolemia selama pemberian ekstrak kulit batang mahoni (*Swietenia macrophylla*) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

- Vegad, J. L. dan Swamy, M. 2010. A Textbook of Veterinary Systemic Pathology 2nd Edition. India : IBDC Publishers
- Widodo, W. 2005. Tanaman Beracun Dalam Kehidupan Ternak. Umm Press. Malang.
- Widhianti, WD. 2011. Pembuatan Arang Aktif dari Biji Kapuk (*Ceiba pentandra L.*) sebagai Absorben Zat Warna Rhodomin B. [Skripsi]. Universitas Airlangga. Surabaya
- Winarsi H, 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Yogyakarta. Kanisius.
- Yustika AR, Aulanni'am, Prasetyawan S. 2013. Kadar malondialdehid (MDA) dan gambaran histologi pada ginjal tikus putih (*rattus norvegicus*) pasca induksi cyclosporine-a. *Kimia Student Journal*, 1 (2): 223 – 227.
- Yuanyuan LU, Jianguang L, Xuefeng H, Lingyi K. 2009. Four streoidal glycosides from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities. *Steroids* 74:95-101.
- Zahid, I. A., L. A. Lodhi., Z. I. Qureshi., N. U. Rehman., M. S. Akhtars. 2003. Effects of Gossypol on Semen Characteristics of Teddy Male Goats. *Pakistan Veterinary Journal*, 23(4): 173-176.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B. and Sihotang, H. 200). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*sauropus androgonus*(l) merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.

LAMPIRAN



Lampiran 1. Rancangan Operasional

Lampiran 2. Surat Laik Etik

**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 967-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : POTENSI SENYAWA SOLASODINE DAN GASIPOL
SEBAGAI KANDIDAT KONTRASEPSI PADA HEWAN
MODEL DALAM MENGHAMBAT REPRODUKSI TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA MELALUI
EKSPRESI GROWTH DIFFERENTIATION FACTOR 9,
SIKLUS BIRAH DAN FOLIKULOGENESIS

PENELITI : DESI WULANSARI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 22 Mei 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 3. Surat Keterangan Ekstraksi Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

SURAT KETERANGAN EKSTRAK
No. 074 / 123C / 102.7 / 2018

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama : LIZA SADDA CAKRAWATI
Nim : 155130100111008
Instansi : FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Biji kapuk
Nama latin : *Ceiba pentandra*
Bagian sampel : Biji
Bentuk sampel : Serbuk
Asal sampel : Malang
Jumlah sampel : 3 kilogram
Tanggal penerimaan :-

3. Hasil

| No. | Parameter | Hasil |
|-----|--------------------------|------------|
| 1 | Proses | |
| | a. Metode | Maserasi |
| | b. Jumlah perlakuan | 1 Kali |
| | c. Pelarut | Etanol 70% |
| | d. Jumlah pelarut | 8000 mL |
| | e. Waktu evaporasi | 2 jam |
| 2 | Hasil | |
| | a. Bentuk sediaan | Cair |
| | b. Bahan tambahan | - |
| | c. Jumlah bahan tambahan | - |
| | d. Berat / volume | 700 ml |





PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

4. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Terong cepoka
 Nama latin : Solanum torvum
 Bagian sampel : Buah
 Bentuk sampel : Segar
 Asal sampel : Malang
 Jumlah sampel : 5 kilogram
 Tanggal penerimaan : -

5. Hasil

| No. | Parameter | Hasil |
|-----|--------------------------|------------|
| 1 | Proses | |
| | a. Metode | Maserasi |
| | b. Jumlah perlakuan | 1 Kali |
| | c. Pelarut | Etanol 70% |
| | d. Jumlah pelarut | 10.000 mL |
| | e. Waktu evaporasi | 3 jam |
| 2 | Hasil | |
| | a. Bentuk sediaan | Cair |
| | b. Bahan tambahan | - |
| | c. Jumlah bahan tambahan | - |
| | d. Berat / volume | 2000 ml |

6. Pustaka

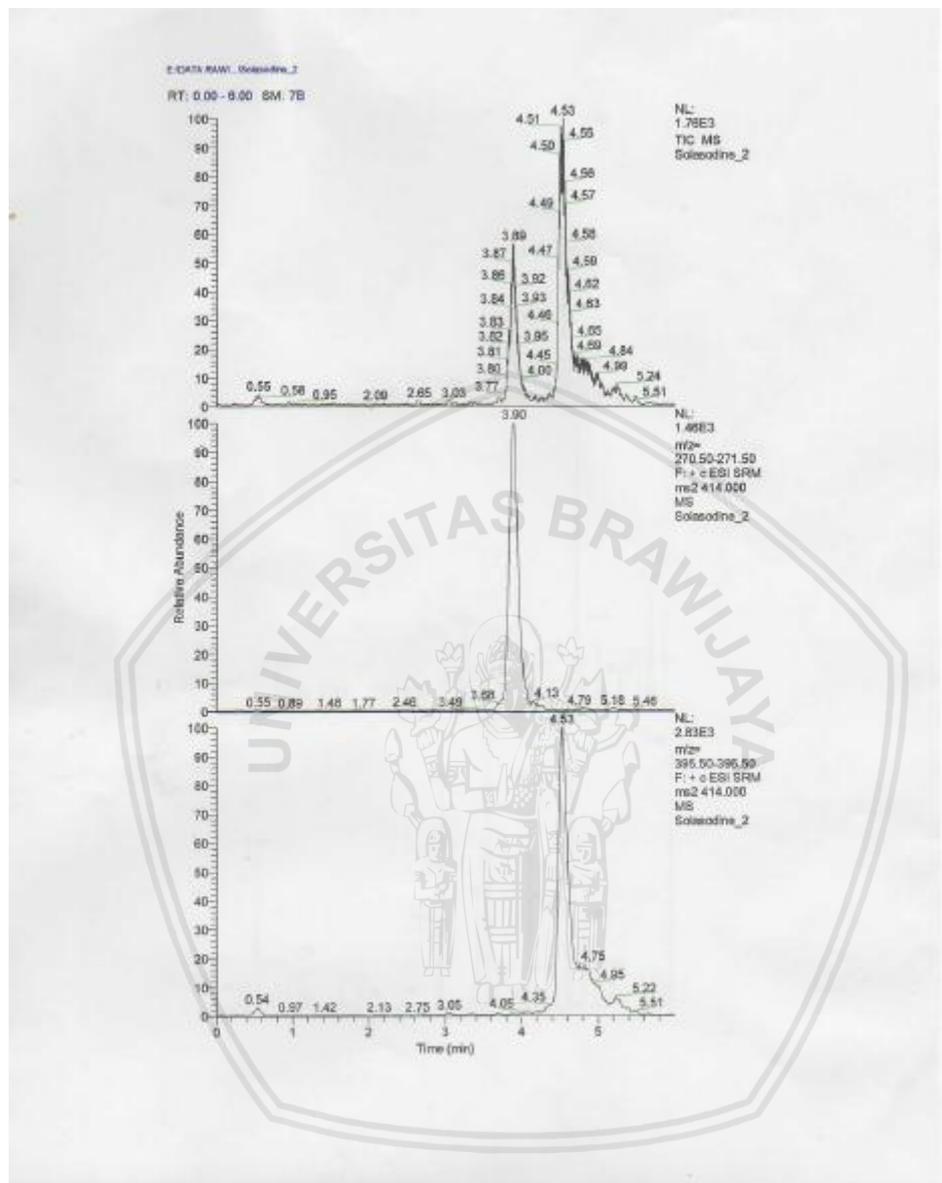
- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

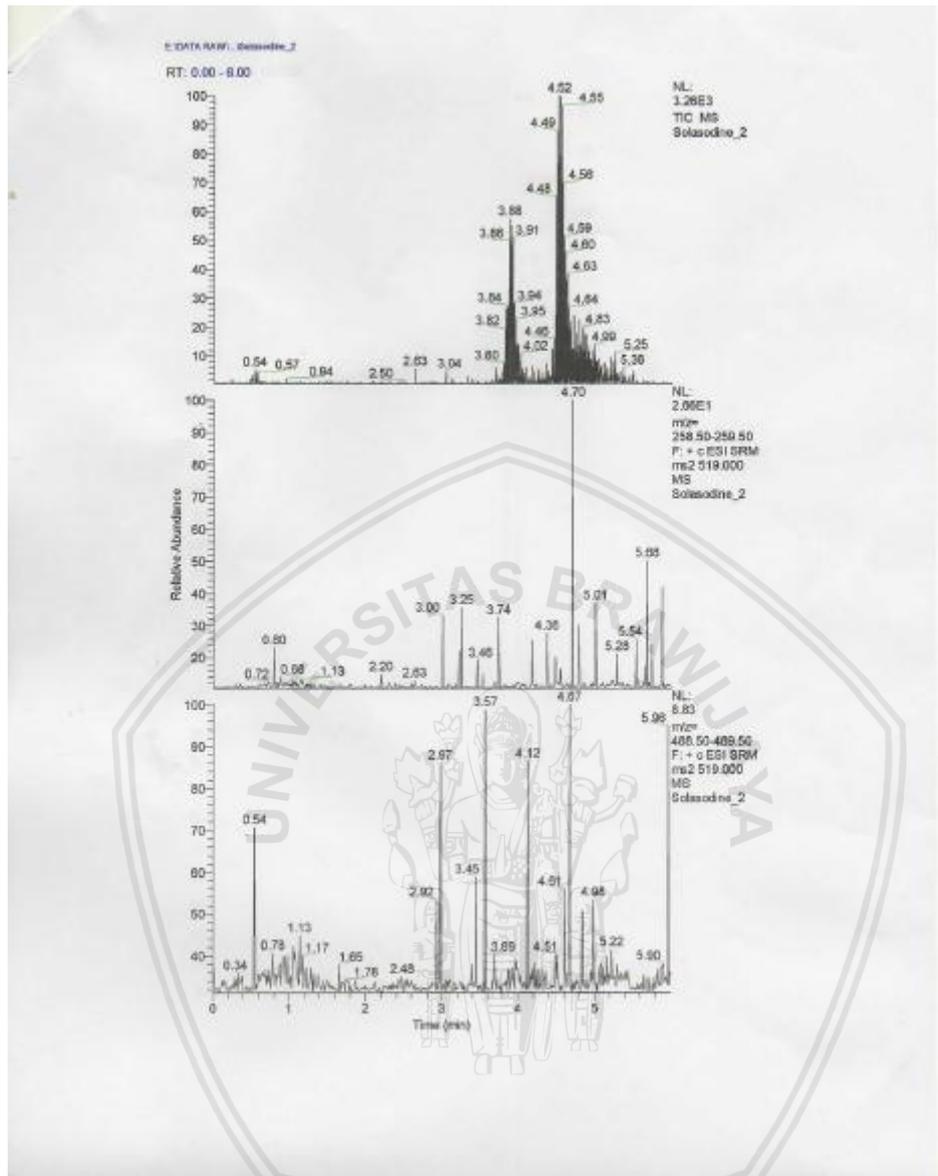
Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 2 Agustus 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu

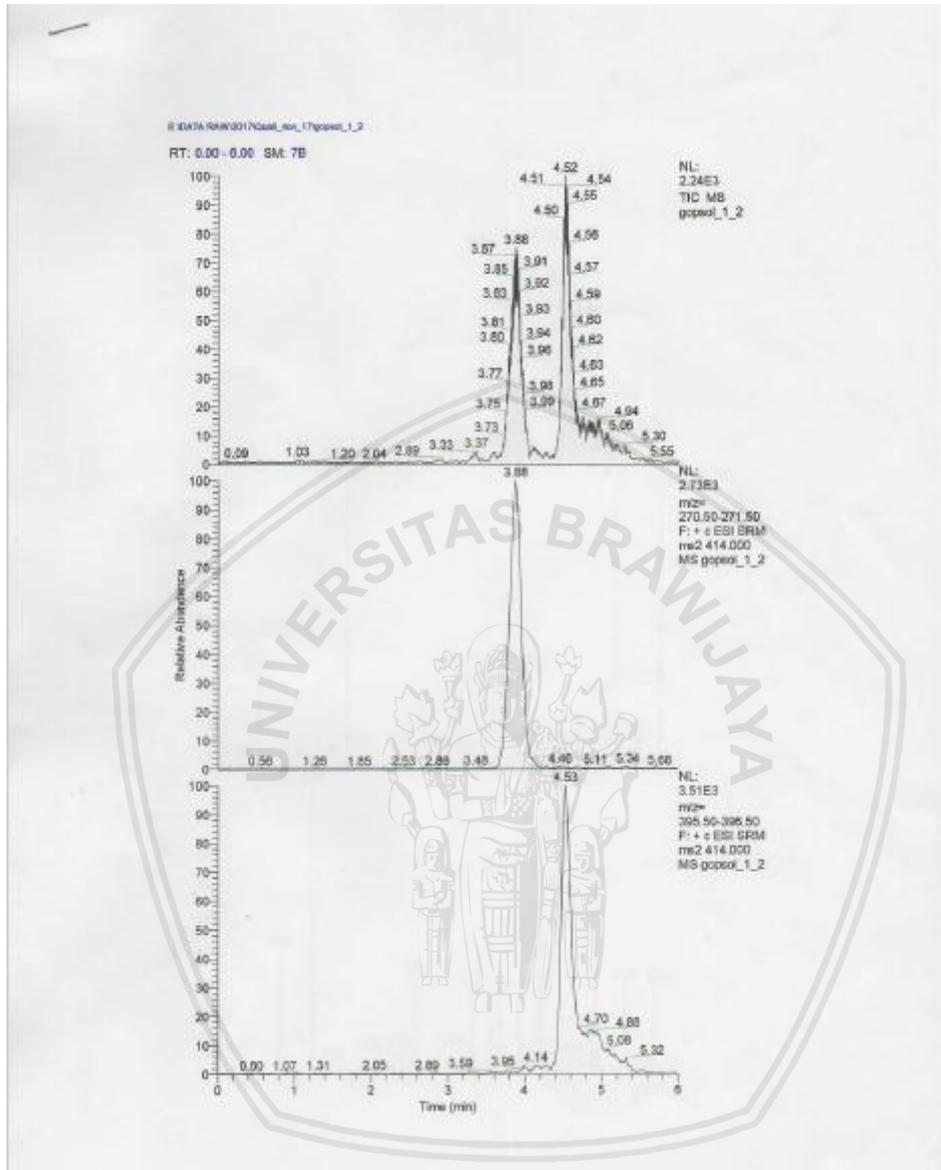
 Dr. Husein RM. Drs. Apt. MKes.
 NIP.19611102 199103 1 003

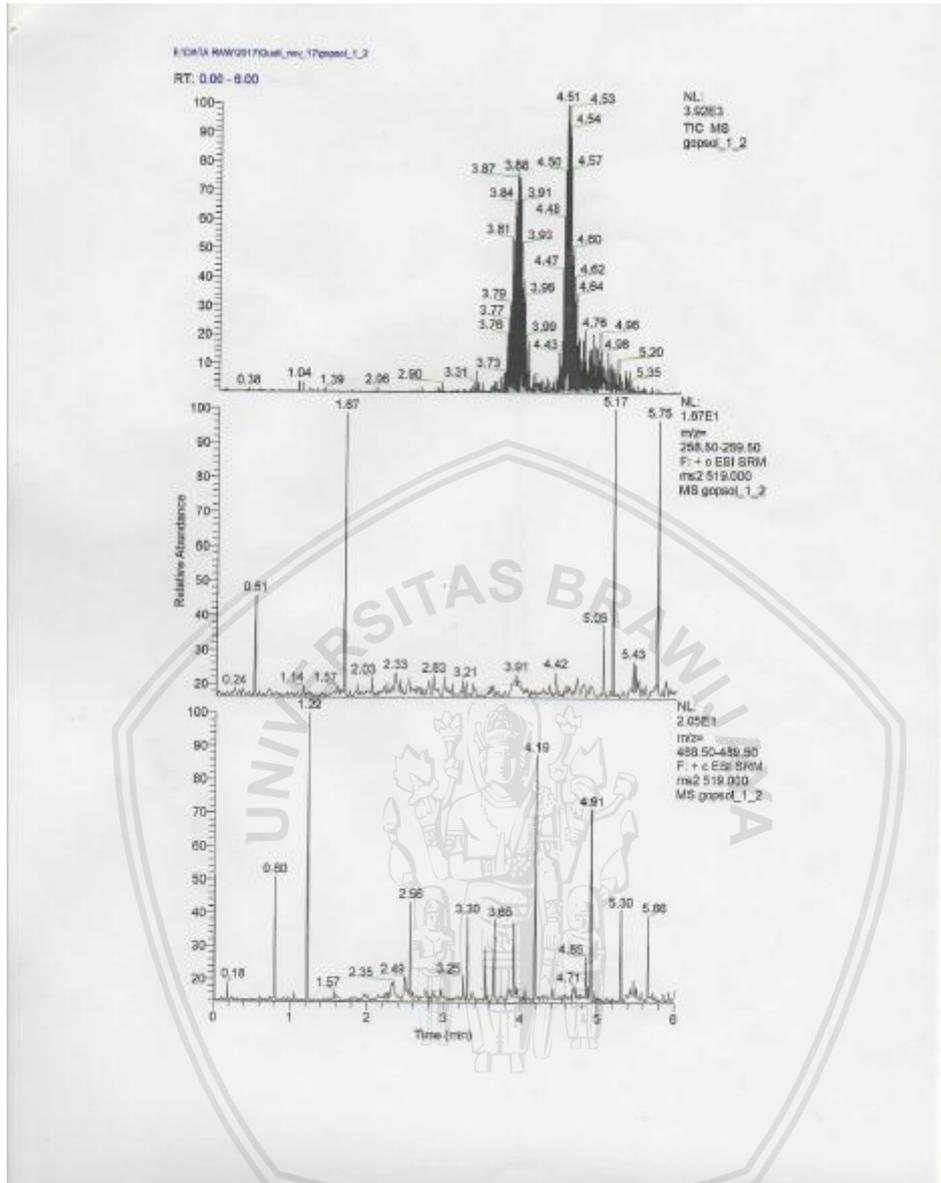


Lampiran 4. Hasil Uji LCMS Solasodin dari Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.)



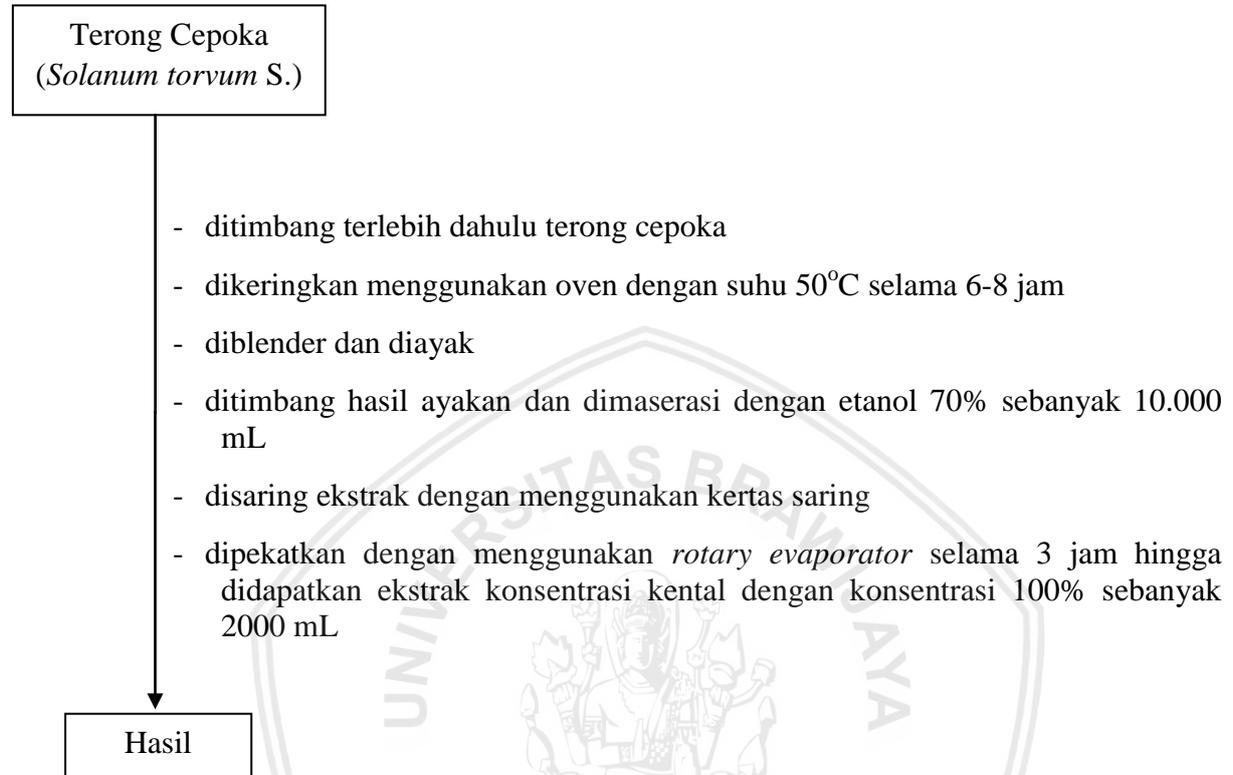
Lampiran 5. Hasil Uji LCMS Gosipol dari Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.)



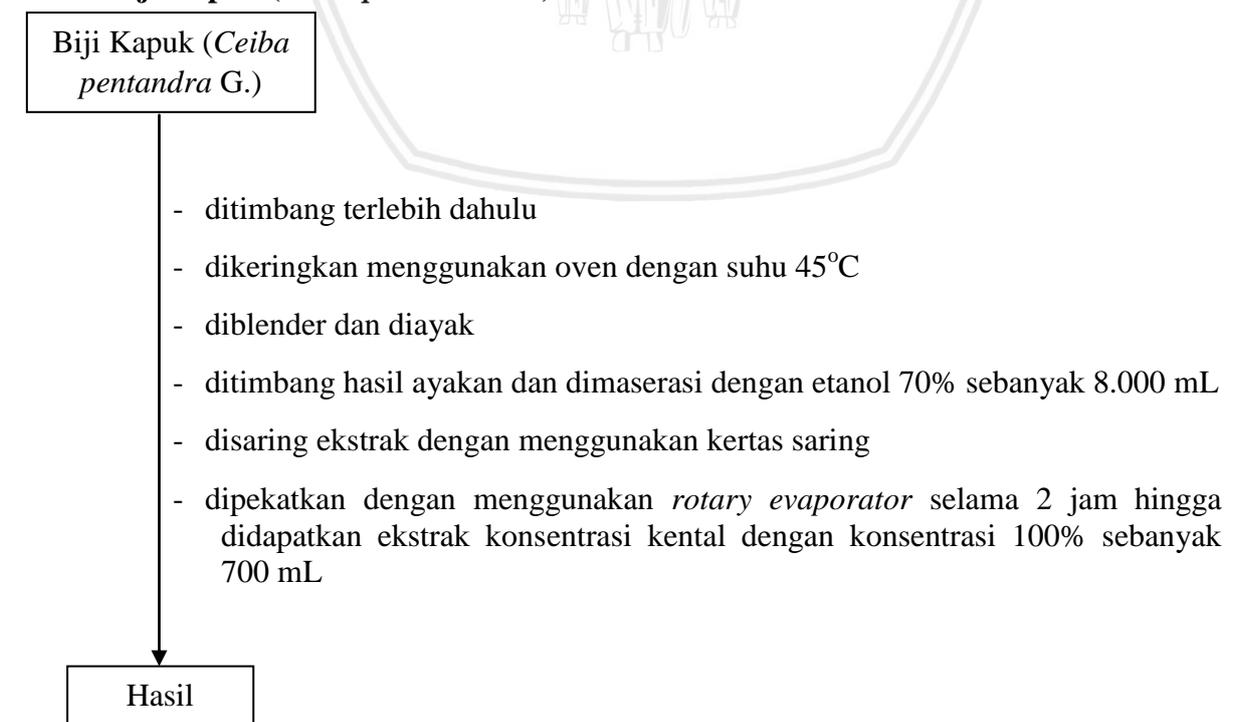


Lampiran 6. Pembuatan Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.)

A. Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.)



B. Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.)



Lampiran 7. Perhitungan Dosis Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.) dan Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.)

Perhitungan dosis adalah diasumsikan bahwa berat seluruh tikus putih (*Rattus novergicus*) yaitu 200 gram. Setiap kelompok perlakuan terdapat 6 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*) dan setiap tikus putih (*Rattus novergicus*) disonde dengan ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum* S.) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra* G.) sebanyak 1 mL. Pembuatan dosis ekstrak terong cepoka (*Solanum torvum* S.) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra* G.) dilebihkan 1 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*), sehingga menjadi 7 ekor tikus. Hal ini bertujuan untuk mengantisipasi ekstrak yang tertinggal di dalam *disposable syringe*, sehingga diharapkan dosis yang masuk tetap sesuai dengan perhitungan. Rincian perhitungan dosis ekstrak etanol terong cepoka (*Solanum torvum* S.) dan biji kapuk (*Ceiba pentandra* G.) yang digunakan adalah sebagai berikut :

Perhitungan Ekstrak Terong Cepoka

Dosis Ekstrak Terong Cepoka (*Solanum torvum* S.) 1 g/kg BB

$$\begin{aligned} D1 &= \text{Berat badan} \times \text{dosis} \times \text{jumlah tikus putih (Rattus novergicus)} \\ &= 0,2 \text{ kg} \times 1 \text{ g/kg BB} \times 7 \text{ ekor} \\ &= 1,4 \text{ g} \end{aligned}$$

Ekstrak Terong Cepoka
(*Solanum torvum* S.)

- ditimbang sebanyak 1,4 g
- dimasukkan ke dalam erlemeyer
- ditambah pengencer hingga volume menjadi 7 mL
- diaduk hingga homogen

Hasil

A. Dosis yang akan diberikan per Ekor tikus putih

$$\text{Dosis terapi} = 1 \text{ g/KgBB}$$

$$\text{Berat Tikus} = 200 \text{ g (perkiraan)}$$

$$= 0,2 \text{ Kg}$$

$$\text{Dosis yang diberikan} = \text{Dosis Terapi} \times \text{Berat Badan}$$

$$= 1 \text{ g/KgBB} \times 0,2 \text{ Kg}$$

$$= 0,2 \text{ g/ekor/har}$$

B. Konsentrasi Ekstrak Terong Cepoka

Konsentrasi dari ekstrak tanaman terong cepoka ini adalah absolut (tidak ada bahan tambahan lainnya)

$$\text{Konsentrasi ekstak} = 100 \text{ g/100 mL} = 1 \text{ g/cc}$$

C. Volume Total Ekstrak yang Disiapkan

Volume ekstrak = Dosis yang diberikan x konsentrasi x jumlah tikus x lama perlakuan

$$= 0,2 \text{ g/ekor/hari} \times 1 \text{ g/cc} \times 7 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}$$

$$= 14 \text{ cc}$$

V.total = V.pemberian x jumlah tikus x lama perlakuan

$$= 1 \text{ cc/ekor/hari} \times 7 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}$$

$$= 70 \text{ cc}$$

D. Volume Aquades yang Ditambahkan

Aquades yang ditambahkan = V.total - V.ekstrak

$$= 70 \text{ cc} - 12 \text{ cc}$$

$$= 58 \text{ cc}$$

E. Rumus Volume yang diberikan per ekor tikus putih

V.diberikan = BB tikus x Dosis terapi konsentrasi

$$= \text{BB tikus} \times 1 \text{ g/KgBB}$$

$$= 1 \text{ g/cc}$$

$$= \text{BB tikus} \times 1 \text{ cc/KgBB}$$

Perhitungan Ekstrak Biji Kapuk

Dosis Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra* G.) 0,1 g/kg BB

D2 = Berat badan × dosis × jumlah tikus putih (*Rattus novergicus*)

$$= 0,2 \text{ kg} \times 0,1 \text{ g/kg BB} \times 7 \text{ ekor}$$

$$= 0,14 \text{ g}$$

Ekstrak Biji Kapuk
(*Ceiba pentandra* G.)

-
- ditimbang sebanyak 1,4 g
- dimasukkan ke dalam erlemeyer
- ditambah pengencer hingga volume menjadi 7 mL
- diaduk hingga homogen

Hasil

A. Dosis yang Diberikan per Ekor

Dosis terapi - 0,1 g/KgBB

$$\begin{aligned} \text{Berat tikus} &= 200 \text{ g (perkiraan)} \\ &= 0,2 \text{ Kg} \end{aligned}$$

Dosis yang diberikan = Dosis terapi x Berat Badan

$$= 0,02 \text{ g/ekor/hari}$$

B. Konsentrasi Ekstrak Biji Kapuk

Konsentrasi ekstrak biji kapuk adalah absolut (tidak ada bahan tambahan lainnya)

$$\text{Konsentrasi ekstrak} = 100\text{g}/100 \text{ mL} = 1\text{g/cc}$$

C. Volume Ekstrak yang disiapkan

V.ekstrak= Dosis yang diberikan x konsentrasi x jumlah tikus x lama perlakuan

$$= 0,02 \text{ g/ekor/hari} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}$$

$$= 60 \text{ cc}$$

D. Volume Aquades yang Ditambahkan

Aquades yang ditambahkan = V.total - V.ekstrak

$$= 60 \text{ cc} - 1,2 \text{ cc}$$

$$= 58,8 \text{ cc}$$

E. Rumus Volume yang Diberikan per Ekor

V.diberikan = BB tikus x DOsis terapi konsentrasi

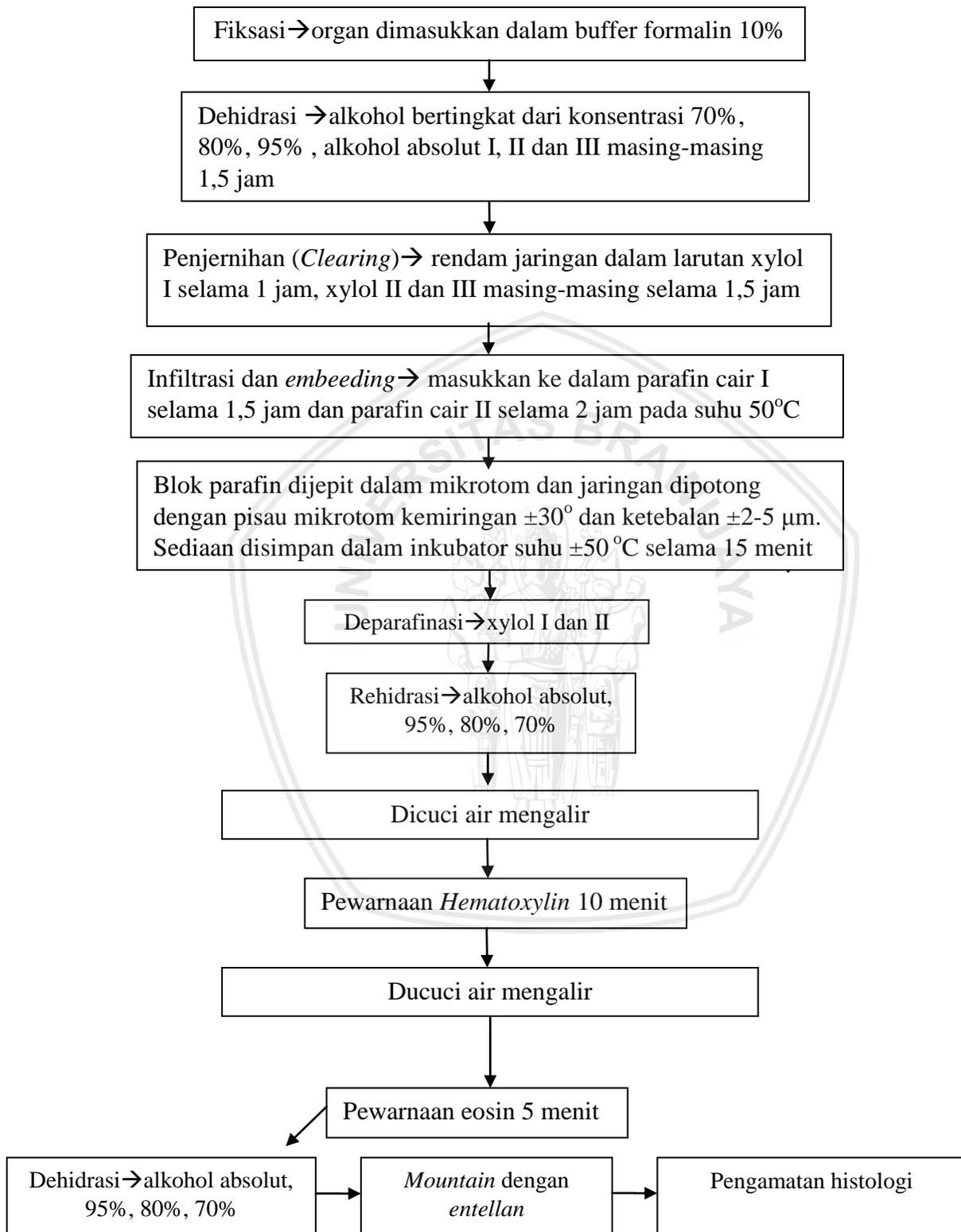
= BB tikus x 0,1 g/KgBB

1 g/cc

= BB tikus x 0,1 cc/KgBB

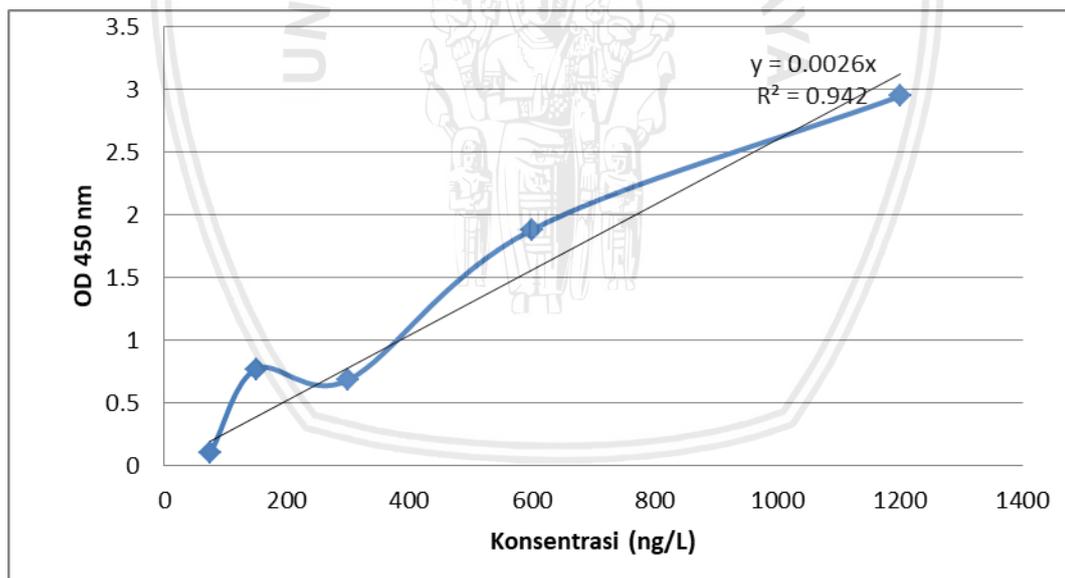


Lampiran 8. Pembuatan Preparat Histologis Hepar dengan Pewarnaan HE



Lampiran 9. Hasil Uji Elisa Kadar MDA

| | | | | | | | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--|
| A | 0.113 | 0.096 | 0.058 | 0.091 | 0.576 | 0.055 | 0.037 | 0.051 | 0.059 | 0.119 | 0 | |
| B | 0.8 | 0.745 | 0.865 | 0.746 | 0.814 | 0.814 | 1.018 | 1.214 | 1.007 | 0 | 0 | |
| C | 0.658 | 0.712 | 0.883 | 0.786 | 0.788 | 0.886 | 0.811 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| D | 1.905 | 1.861 | 0.999 | 0.82 | 0.251 | 1.102 | 1.28 | 1.217 | 0 | 0 | 0 | |
| E | 2.931 | 2.963 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| F | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -0.001 | |
| G | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| H | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |



| kadar MDA | | | | | | | | | | |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Konsentrasi ug/dL | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| A | 43.46154 | 36.92308 | 22.30769 | 35 | 480 | 21.15385 | 14.23077 | 42.5 | 22.69231 | 45.76923 |
| B | 307.6923 | 286.5385 | 332.6923 | 286.9231 | 678.3333 | 313.0769 | 391.5385 | 1011.667 | 387.3077 | 0 |
| C | 253.0769 | 273.8462 | 339.6154 | 302.3077 | 656.6667 | 340.7692 | 311.9231 | 0 | 0 | 0 |
| D | 732.6923 | 715.7692 | 384.2308 | 315.3846 | 96.53846 | 423.8462 | 492.3077 | 468.0769 | -0.002 | -0.002 |
| E | 1127.308 | 1139.615 | -0.001 | -0.001 | -0.001 | -0.001 | -0.001 | -0.001 | -0.001 | -0.001 |
| F | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -0.001 | -0.002 | -0.002 |
| G | | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -0.001 | -0.001 |
| H | | | 0 | 0 | 0.001 | 0 | 0 | -0.001 | -0.001 | -0.001 |
| | | | | | | | | | | |



Lampiran 10. Hasil Uji Statistika Kadar MDA Serum Tikus Putih

A. Uji Normalitas Data

| PERLA KUAN | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| data 1 | .234 | 6 | .200* | .850 | 6 | .156 |
| 2 | .180 | 6 | .200* | .926 | 6 | .550 |
| 3 | .270 | 6 | .196 | .890 | 6 | .316 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

B. Statistika Deskriptif

Descriptives

data

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 1 | 6 | 3.1974E2 | 39.22142 | 16.01208 | 278.5828 | 360.9035 | 286.54 | 391.54 |
| 2 | 6 | 3.0359E2 | 35.17822 | 14.36145 | 266.6721 | 340.5066 | 253.08 | 340.77 |
| 3 | 6 | 4.6942E2 | 143.45676 | 58.56598 | 318.8741 | 619.9714 | 315.38 | 732.69 |
| Total | 18 | 3.6425E2 | 113.00954 | 26.63660 | 308.0534 | 420.4501 | 253.08 | 732.69 |

C. Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances

data

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.594 | 2 | 15 | .108 |

D. Uji *One Way ANOVA*

ANOVA

| data | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 100331.307 | 2 | 50165.654 | 6.444 | .010 |
| Within Groups | 116778.344 | 15 | 7785.223 | | |
| Total | 217109.651 | 17 | | | |

E. Uji Lanjutan (*Posthoc Test*) menggunakan Uji *Tukey*

Multiple Comparisons

data

Tukey HSD

| (I) | (J) | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|--------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 PERLA KUAN | 2 PERLA KUAN | 16.15382 | 50.94187 | .946 | -116.1662 | 148.4738 |
| | 3 PERLA KUAN | -149.67960* | 50.94187 | .026 | -281.9996 | -17.3596 |
| 2 PERLA KUAN | 1 PERLA KUAN | -16.15382 | 50.94187 | .946 | -148.4738 | 116.1662 |
| | 3 PERLA KUAN | -165.83342* | 50.94187 | .014 | -298.1534 | -33.5134 |
| 3 PERLA KUAN | 1 PERLA KUAN | 149.67960* | 50.94187 | .026 | 17.3596 | 281.9996 |
| | 2 PERLA KUAN | 165.83342* | 50.94187 | .014 | 33.5134 | 298.1534 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

data

Tukey HSD

| PERLA KUAN | N | Subset for alpha = 0.05 | |
|---------------|---|-------------------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| 2 | 6 | 303.5893 | |
| 1 | 6 | 319.7432 | |
| 3 | 6 | | 469.4228 |
| Sig. | | .946 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 11. Perhitungan Presentase Kadar MDA

Presentase kadar MDA sebagai berikut :

- **Kelompok P2 (Pemberian ekstrak biji kapuk dengan dosis tunggal 0,1 mg/kg BB)**

Peningkatan kadar MDA = $\frac{\text{Rataan perlakuan 2} - \text{rataan kontrol (-)}}{\text{Rataan perlakuan 2}} \times 100\%$

$$\begin{aligned} &= \frac{469,42 - 319,74}{5,895} \times 100\% \\ &= 31,88 \% \end{aligned}$$



Lampiran 12. Dokumentasi Kegiatan



