

## Efek Hepatoprotektif Teripang Emas (*Stichopus variegatus*) pada Tikus Jantan Dewasa Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik

Adriansyah, H., Kamaludin, M.T.2, Theodorus, Sulastri, H.

Farmakologi Kedokteran, Biomedik Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

E-mail: helmy\_sina@yahoo.com

### Abstrak

Teripang emas (*Stichopus variegatus*) sejak abad 18 secara empirik telah dimanfaatkan sebagai makanan dan obat oleh masyarakat Asia dan Timur Tengah termasuk Indonesia. Banyak penelitian *in vitro* yang menganalisa kandungan gizi dan zat aktif teripang emas, namun masih sedikit penelitian khasiat teripang emas secara *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi teripang emas (*Stichopus variegatus*) sebagai agen hepatoprotektor terhadap kerusakan hati akibat parasetamol. Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur wistar sebanyak 32 ekor secara acak dibagi 4 kelompok perlakuan untuk diinduksi parasetamol 250 mg/kg BB kemudian diberi aquades dan serbuk kering teripang emas pada dosis 10,8; 21,6 dan 32,4 mg/200g BB selama 12 hari dengan pemberian tiga kali sehari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar SGOT dan SGPT tidak berbeda signifikan antara kontrol dan perlakuan. Hasil pengamatan histopatologi menunjukkan bahwa kelompok perlakuan mengalami perbaikan sel hepar lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol dengan parameter persentase nekrosis (7,50%), perlemakan (1,25%) dan regenerasi sel (17,50%). Simpulan penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian teripang emas tidak efektif mencegah kerusakan hati akibat induksi parasetamol dengan parameter kadar SGOT dan SGPT, tetapi efektif memperbaiki struktur sel hepar dengan parameter persentase nekrosis, persentase perlemakan dan persentase regenerasi sel.

**Kata kunci:** *stichopus variegatus*, hepatoprotektif, histopatologi, SGOT, SGPT

### Abstract

Golden sea cucumbers (*Stichopus variegatus*) since the 18<sup>th</sup> century have been empirically used as food and medicine by the people of Asia and the Middle East, including Indonesia. Many *in vitro* studies that analyze the nutrients and active substances in golden sea cucumbers, but it just few *in vivo* study of the efficacy of golden sea cucumbers. This study aimed to test the efficacy of golden sea cucumbers (*Stichopus variegatus*) as a nephroprotective agent in rats (*Rattus norvegicus*) adult male Wistar strain induced by toxic dose of paracetamol. The study was conducted on 32 rats with paracetamol-induced test dose of 250 mg/kg BW then divided into 4 groups, the one group was given treatment as a negative control with distilled water, and three groups intervened with dry powder golden sea cucumbers (*Stichopus variegatus*) at doses of 10.8; 21.6 and 32.4 mg/200g BW for 12 days by giving three times a day. The results was not showed significant decrease or increase in the levels of AST and ALT. Histopathology appearance showed that the treatment group improved the liver cells more than the control group with parameters of necrosis percentage (7.50%), fatty liver (1.25%) and regeneration cells (17.50%). It could be concluded that administration of dry powder golden sea cucumbers (*Stichopus variegatus*) was not showed hepatoprotective effect against liver damage adult male Wistar rats induced by paracetamol with levels of AST and ALT, but showed hepatoprotective effect improvement of liver cell structure with histopathological parameters of necrosis percentage, fatty liver percentage and cell regeneration percentage.

**Keywords:** *stichopus variegatus*, hepatoprotective, histopathology, AST, ALT

## 1. Pendahuluan

Parasetamol [Asetaminofen, *N-acetyl-p-aminophenol* (APAP/AAP)] banyak digunakan di masyarakat sebagai obat analgesik/antipiretik, umumnya digunakan per oral dan absorpsinya melalui mukosa saluran pencernaan. Parasetamol obat yang efektif dan aman ketika digunakan pada dosis terapi<sup>1</sup>. Parasetamol adalah salah satu obat yang paling sering digunakan untuk percobaan bunuh diri atau kecelakaan dengan meminumnya secara over dosis. Dosis lebih dari 150-200 mg/kg BB (anak) atau 7 gram total (dewasa) dianggap potensial toksik.<sup>2</sup>

Keracunan hati akibat parasetamol menjadi penyebab utama kerusakan hati akibat obat. Dosis akut atau akumulatif yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan hati dan berpotensi menjadi kegagalan hati.<sup>1</sup> Over dosis parasetamol menjadi faktor penyebab kegagalan hati akibat obat yang paling banyak di Amerika Serikat dan Inggris.<sup>1</sup> Parasetamol secara luas digunakan sebagai salah satu model toksin untuk mengevaluasi zat-zat hepatoprotektif yang baru.<sup>1</sup> Kerusakan sel hati akibat parasetamol dapat diamati melalui pemeriksaan AST (*Aspartate aminotransferase*)/SGOT (*Serum glutamic oxaloacetic transaminase*), ALT (*Alanine aminotransferase*)/SGPT (*Serum glutamic pyruvic transaminase*) dan gambaran histopatologi.<sup>3</sup>

Mekanisme kerusakan sel hati akibat parasetamol belum sepenuhnya dapat dipahami. Pendapat terbaru menyatakan bahwa terbentuknya metabolit reaktif NAPQI (*N-Acetyl-P-Benzoquinone imine*), habisnya GSH (*Glutathione*) dan alkilasi protein-protein, terutama protein mitokondrial adalah kondisi kritis pemicu toksisitas. Bcl-2 bagian dari Bax dan Bid kemudian membentuk pori-pori di luar membran mitokondria dan melepaskan protein-protein intermembran, seperti AIF (*Apoptosis-inducing factor*) dan endonuklease G, yang kemudian berpindah ke inti dan memulai pemendekan kromatin dan pemecahan DNA (*Deoxyribonucleic acid*) secara berturut-turut. Mitokondria yang mengalami gangguan fungsi akibat ikatan kovalen kemudian membentuk oksigen reaktif dan peroksinitrit yang memicu perubahan permeabilitas membran dan hilangnya potensial membran mitokondrial. Akibat berkurangnya kapasitas sintesis ATP (*Adenosin triphosphat*), maka endonuklease G dan AIF kemudian terlepas. Endonuklease G, bersama dengan diaktifkannya inti  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  yang terikat endonuklease, menyebabkan penurunan DNA, sehingga mencegah regenerasi dan perbaikan sel. Gangguan homeostasis  $Ca^{2+}$  juga menyebabkan pengaktifan protease intraselular, seperti *calpain*, yang melalui protease dapat membelah struktur protein. Berbagai peristiwa meliputi gangguan mitokondrial yang masif dan habisnya ATP, pemecahan DNA secara luas dan perubahan protein-protein intraselular berperan dalam membentuk nekrotik onkotik kematian sel hati setelah kejadian overdosis parasetamol.<sup>1,4</sup>

Ikatan kovalen protein dan stres oksidatif adalah peristiwa utama (tahap I) dan efek terhadap nukleus sebagai peristiwa sekunder (tahap II) yang menyebar ke seluruh organ hati sehingga dapat dijadikan sebagai target pengobatan klinis.<sup>5</sup> Pengenalan terhadap urutan kejadian dan tidak saling bergantungnya mekanisme-mekanisme tersebut dapat dijadikan petunjuk bahwa target pengobatan yang paling baik adalah kepada pemicunya (pengaktifan metabolisme) atau pada pusat penyebarannya (gangguan mitokondrial dan pembentukan peroksinitrit) untuk mencegah kematian sel hati akibat parasetamol.<sup>1</sup> *Superoksida dismutase* (SOD) dapat mencegah pembentukan superoksida/ oksigen tunggal dan membatasi pembentukan peroksinitrit, sedangkan GSH merupakan antioksidan yang efektif penangkap peroksinitrit dan HOCl.<sup>1,4</sup>

Teripang telah lama dimanfaatkan sebagai makanan dan obat oleh masyarakat Asia dan Timur Tengah.<sup>6</sup> Di Asia Tenggara teripang dan produknya digunakan sebagai makanan suplemen dan obat berbagai macam penyakit. Teripang, apabila dikonsumsi secara teratur dapat mengurangi resiko hipertensi, asma, menyembuhkan luka dalam dan kanker.<sup>7</sup>

Teripang emas (*Stichopus variegatus*) mengandung beberapa kombinasi asam amino. Kandungan *Glycin* dan *glutamic acid* adalah komponen terbanyak yang berperan sebagai komponen utama sel untuk sintesis GSH.<sup>6</sup> *Stichopus variegatus* memiliki komposisi *Superoxide dismutase*  $8.20 \pm 0.91 \times 10^5$  IU/g protein dan *Total antioxidant activity*  $47.71 \pm 8.95\%$ <sup>7</sup> sehingga mempunyai potensi sebagai agen hepatoprotektor pada kerusakan sel hati akibat parasetamol.

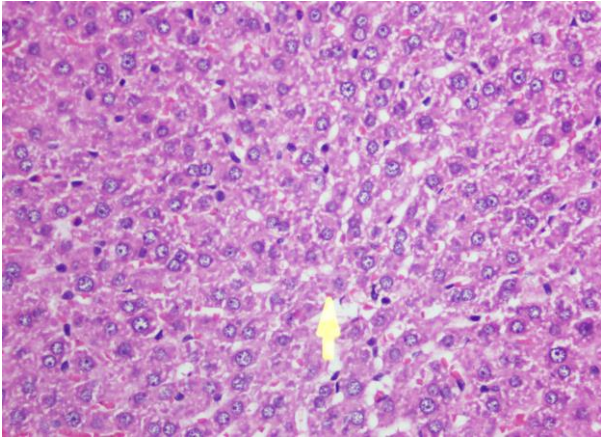
## 2. Metode Penelitian

Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 g sebanyak 32 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Institut Teknologi Bandung diaklimatisasi selama 1 minggu di laboratorium dengan lingkungan dan perlakuan yang sama, ditempatkan pada kandang terpisah pada suhu lingkungan normal dan diberikan pakan CP 515 serta minum secara *ad libitum*.

Tikus dibagi menjadi empat kelompok secara random: satu kelompok kontrol negatif dan tiga kelompok perlakuan. Tikus diinduksi parasetamol 250 mg/kg BB pada hari ke-1 sampai ke-12. 2 jam setelah induksi kelompok kontrol negatif diberikan aquades 2 ml dan kelompok perlakuan diberikan serbuk teripang emas dengan dosis 10,8; 21,6 dan 32,4 mg/200g BB per oral tiga kali sehari setiap 4 jam selama 12 hari. Hari ke-13 dilakukan pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT serta tikus dimatikan dengan cara dibius menggunakan eter kemudian dilakukan *neck dislocation* untuk diambil organ hatinya sebagai bahan preparat histopatologi sel

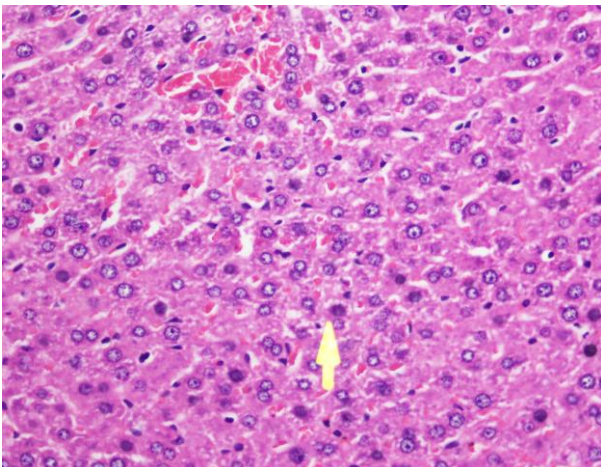
hati. Data dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS versi 17 dengan metode *independent samples t test*, *one way Anova* dan *Post hoc Tukey* ( $p < 0,05$ ).

### 3. Hasil



**Gambar 1. Histopatologi hati pada kelompok aquades (O<sub>5</sub>) (200x)**

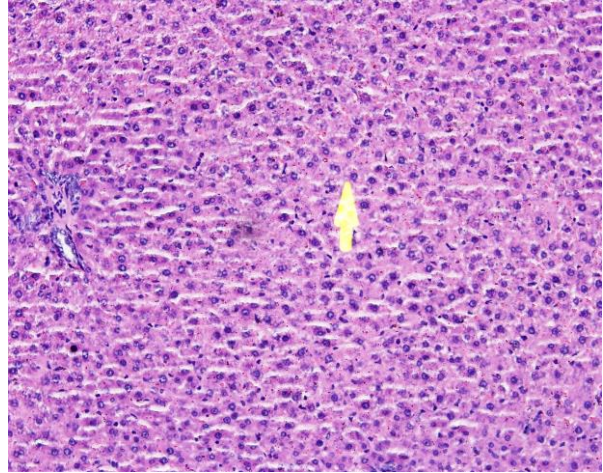
Pada Gambar 1 tampak arsitektur hepatosit yang tidak radier, tampak nekrosis fokal hepatosit yang ditandai dengan hilangnya inti sel atau batas membran inti sel yang tidak jelas, tampak perlemakan ringan yang ditandai adanya butiran-butiran lemak pada sitoplasma (*macrovesicular steatosis* berupa butiran lemak yang besar yang mendesak inti sel dan *microvesicular steatosis* berupa butiran lemak kecil yang tidak mendesak inti sel), tampak proliferasi aktif sel kuppfer.)



**Gambar 2. Histopatologi hati pada kelompok aquades (O<sub>5</sub>) (400x)**

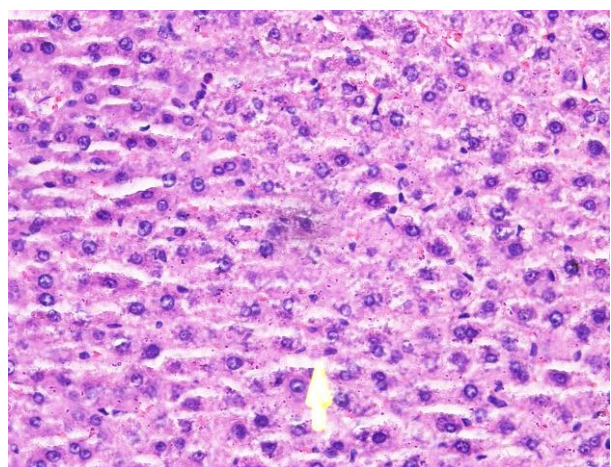
Tampak arsitektur hepatosit yang tidak radier pada Gambar 2, tampak nekrosis fokal hepatosit yang ditandai dengan hilangnya inti sel atau batas membran inti sel yang

tidak jelas, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.



**Gambar 3. Histopatologi hati pada kelompok dosis 10,8 (A<sub>5</sub>) (200x)**

Pada Gambar 3 terlihat arsitektur hepatosit yang tidak radier, tampak nekrosis fokal hepatosit yang ditandai dengan menghilangnya inti sel atau batas membran inti sel yang tidak jelas, tampak sel hepatosit yang masih normal membentuk pulau-pulau disekeliling sel kuppfer, tampak peningkatan aktifitas sel kuppfer, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.

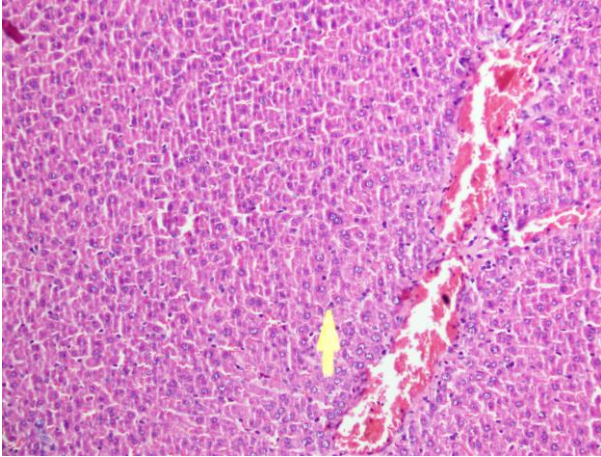


**Gambar 4. Histopatologi hati pada kelompok dosis 10,8 (A<sub>5</sub>) (400x)**

Pada Gambar 4 tampak arsitektur hepatosit yang tidak radier, tampak nekrosis fokal hepatosit yang ditandai dengan hilangnya inti sel atau batas membran inti sel

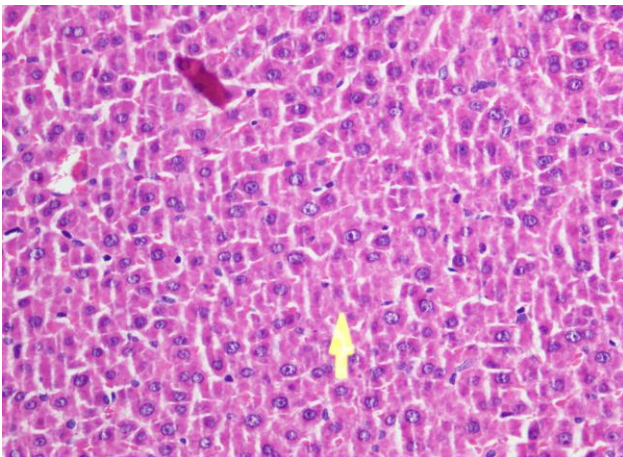


yang tidak jelas, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.



**Gambar 5. Histopatologi hati pada kelompok dosis 21,6 (B2) (200x)**

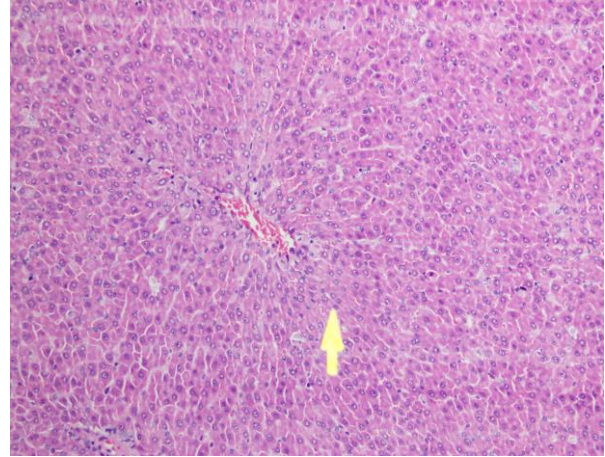
Tampak arsitektur hepatosit yang tidak radier pada zona 3, sedangkan arsitektur hepatosit pada zona 1 dan 2 tampak radier, tampak nekrosis hepatosit yang ditandai dengan hilangnya inti sel atau batas membran inti sel yang tidak jelas, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.



**Gambar 6. Histopatologi hati pada kelompok dosis 21,6 (B2) (400x)**

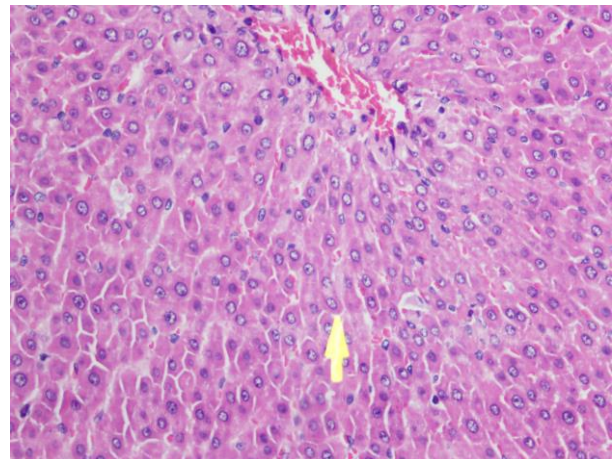
Tampak arsitektur hepatosit yang tidak radier, tampak nekrosis hepatosit yang ditandai dengan hilangnya inti sel atau batas membran inti sel yang tidak jelas, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel

yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.



**Gambar 7. Histologi hati pada kelompok dosis 32,4 (C8) (200x)**

Tampak arsitektur hepatosit yang radier pada zona 3, 2 dan 1, tak tampak perlemakan dan nekrosis hepatosit, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.



**Gambar 8. Histopatologi hati pada kelompok dosis 32,4 (C8) (400x)**

Tampak arsitektur hepatosit yang radier pada zona 1, 2 dan 3, tak tampak perlemakan dan nekrosis hepatosit, tampak regenerasi sel yang ditandai dengan inti vesikuler sel yang sedikit membesar serta kromatin dan nukleoli yang tampak jelas terlihat dan besarnya homogen.

**Tabel 1. Kadar SGOT, kadar SGPT, persentase nekrosis, perlemakan dan regenerasi sel hepar tikus jantan dewasa galur Wistar setelah 12 hari diinduksi parasetamol kemudian diberikan serbuk kering teripang emas (*Stichopus variegatus*) dan aquades**

No.	Dosis	Kadar SGOT (U/L)	Kadar SGPT (U/L)	Nekrosis (%)	Perlemakan (%)	Regenerasi Sel (%)
1.	Aquades	191,60 ± 22,10	111,48 ± 24,05	31,25 ± 6,40	21,25 ± 8,34	5,00 ± 5,34
2.	Dosis 10,8	245,59 ± 29,51**	150,64 ± 52,98	27,50 ± 7,07	8,75 ± 8,34**	12,50 ± 8,86
3.	Dosis 21,6	208,00 ± 27,25	97,48 ± 25,53	16,25 ± 7,44**	5,00 ± 7,55**	15,00 ± 9,25
4.	Dosis 32,4	218,11 ± 20,87	107,74 ± 7,11	7,50 ± 7,07**	1,25 ± 3,53**	17,50 ± 10,35*

Keterangan: \* =  $p < 0,05$ , \*\* =  $p < 0,01$

#### 4. Pembahasan

Desain penelitian ini menggunakan metode induksi parasetamol dosis 250 mg/kg BB yang diberikan secara oral untuk menimbulkan nekrosis sel hati. Absorpsi parasetamol per oral tergantung pada kecepatan pengosongan lambung dan kadar puncak dalam darah tercapai dalam waktu 30-60 menit, sedangkan waktu paruhnya 2-3 jam dan relatif tidak dipengaruhi oleh fungsi ginjal.<sup>8</sup> Dua jam setelah induksi tikus diberi perlakuan serbuk kering teripang emas sebanyak tiga kali sehari. Pemilihan waktu perlakuan 2 jam setelah induksi berdasarkan masa paruh parasetamol 2-3 jam dan waktu pengosongan lambung sekitar 4 jam, selain itu pada kasus intoksikasi parasetamol antidot *N-Acetylcysteine* efektif diberikan 2-4 jam setelah ingesti parasetamol.

Pemberian serbuk kering teripang emas 2 jam setelah induksi sebanyak tiga kali sehari bertujuan mengurangi efek toksisitas dengan menurunkan stres oksidan yang terbentuk dari metabolisme parasetamol, memperbaiki hilangnya potensial membran mitokondrial dan mencegah jejas sel serta meningkatkan aktifitas siklus regenerasi sel. Serbuk kering teripang emas mengandung glisin dan asam glutamat yang akan menyediakan asam amino untuk resintesis GSH melalui siklus  $\gamma$ -glutamyl sehingga dapat mencegah berkurangnya GSH di sitosol dan mitokondria akibat pembentukan NAPQI yang berlebih dan pembentukan nitrotirosin, sebagaimana mekanisme pemberian gugus sulfhidril N-asetil sistein sebagai antidot pada kasus toksisitas parasetamol.<sup>1,8,9</sup>

Penelitian ini lebih menitikberatkan pada konsep preventif untuk menggali potensi *Stichopus variegatus* sebagai agen hepatoprotektif. Lama pemberian serbuk kering teripang emas selama 12 hari berdasarkan siklus regenerasi sel hati yang memerlukan waktu 8-10 hari.<sup>10</sup>

##### Kadar SGOT

Kadar normal SGOT tikus putih adalah  $141 \pm 67,4$  U/L<sup>12</sup> dan batas normalnya 45,7-80,8 U/L<sup>13</sup>. Rerata kadar SGOT tertinggi pada kelompok dosis 10,8 yaitu  $245,59 \pm 29,51$  U/L, rerata terendah pada kelompok aquades yaitu  $191,60 \pm 22,10$  U/L.

Pada penelitian ini kenaikan kadar SGOT kelompok kontrol dan perlakuan tidak terlalu tinggi dibandingkan dengan kadar normalnya. Peningkatan kadar SGOT yang lebih tinggi dari SGPT terjadi pada kerusakan hati yang parah atau menahun. Peningkatan SGOT tidak spesifik menunjukkan adanya kerusakan sel hati karena selain di hati, SGOT juga terdapat pada sel otot jantung, rangka, otak dan ginjal.<sup>3</sup>

Efek pemberian serbuk kering teripang emas secara statistik tidak menyebabkan perbedaan kadar SGOT yang signifikan antara kontrol dan perlakuan. Hal ini berkorelasi dengan hasil pengamatan histopatologi bahwa tingkat kerusakan sel hati akibat induksi parasetamol hanya bersifat nekrosis fokal bukan nekrosis masif.

Ada tiga kemungkinan penyebab kadar SGOT antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tidak berbeda signifikan. Pertama, enzim SGOT sebagai enzim transaminase intraseluler terdapat pada sitoplasma dan mitokondria (bilobuler), artinya nekrosis yang bersifat fokal menandakan bahwa jumlah NAPQI yang terbentuk tidak cukup adekuat menyebabkan nekrosis masif sel hati dengan cara membentuk nitrotirosin yang menghabiskan GSH pada sitoplasma dan mitokondria sehingga nekrosis sel hati yang terjadi akibat MPT sedikit. Hal ini kemungkinan dipengaruhi antara lain oleh kualitas parasetamol yang digunakan untuk induksi, jumlah isoenzim CYP2E1 dan faktor proses pencernaan. Kemungkinan kedua, tingginya kandungan asam amino *Stichopus variegatus* terutama *glycine* ( $\pm 126-216$  mg/g protein)<sup>11</sup> melalui siklus  $\gamma$ -glutamyl mampu meresintesis glutation pada sitoplasma dan mitokondria sehingga nekrosis masif dapat dicegah. Kemungkinan ketiga, proses regenerasi sel hati yang sangat baik sehingga dapat mengimbangi kerusakan sel yang terjadi akibat pembentukan oksidan dan MPT. Waktu yang diperlukan sel hati untuk regenerasi mulai dari terjadinya jejas sampai dengan sempurnanya proses regenerasi sel adalah 8-10 hari<sup>10</sup>, sedangkan pemeriksaan SGOT dilakukan pada hari ke-13, hal ini didukung oleh hasil statistik dan hasil pengamatan histopatologi yang menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan perbaikan sel hati pada dosis 21,6 dan 32,4 mg/200g BB dibandingkan kontrol aquades, pada dosis 32,4 mg/200g BB menunjukkan

gambaran sel hepatosit yang mendekati normal dengan susunan yang radier dan tidak tampak perlemakan.

#### Kadar SGPT

Kadar normal SGPT tikus putih adalah  $12,6 \pm 4,40$  U/L<sup>12</sup> dan batas normalnya  $17,5-30,2$  U/L<sup>13</sup>. Rerata kadar SGPT tertinggi pada kelompok dosis 10,8 yaitu  $150,64 \pm 52,98$  U/L, rerata kadar SGPT terendah pada kelompok dosis 21,6 yaitu  $97,48 \pm 25,53$  U/L.

Pada penelitian ini kenaikan kadar SGPT kelompok kontrol dan perlakuan tidak terlalu tinggi dibandingkan dengan kadar normalnya. Peningkatan SGPT lebih tinggi daripada SGOT biasa terjadi pada kerusakan hati yang akut, karena SGPT merupakan enzim yang hanya terdapat pada sitoplasma sel hati (unilobuler). Peningkatan kadar SGOT dan SGPT secara bersamaan melebihi batas normal terjadi karena kerusakan yang hebat baik pada membran sel maupun mitokondria. Pada kerusakan ringan, mitokondria masih utuh, sehingga peningkatan kadar SGPT lebih tinggi daripada peningkatan SGOT.<sup>3</sup>

Efek pemberian serbuk kering teripang emas secara statistik tidak menyebabkan perbedaan kadar SGPT yang signifikan antara kontrol dan perlakuan. Hal ini berkorelasi dengan hasil pengamatan histopatologi bahwa tingkat kerusakan sel hati akibat induksi parasetamol hanya bersifat nekrosis fokal bukan nekrosis masif.

Ada tiga kemungkinan penyebab kadar SGPT antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tidak berbeda signifikan. Pertama, enzim SGPT sebagai enzim transaminase intraseluler hanya terdapat pada sitoplasma, artinya nekrosis yang bersifat fokal menandakan bahwa jumlah NAPQI yang terbentuk tidak cukup adekuat menyebabkan nekrosis masif sel hati dengan cara membentuk nitrotirosin yang menghabiskan GSH pada sitoplasma sehingga nekrosis sel hati yang terjadi akibat MPT sedikit. Hal ini kemungkinan dipengaruhi antara lain oleh kualitas parasetamol yang digunakan untuk induksi, jumlah isoenzim CYP2E1 dan faktor proses pencernaan. Kemungkinan kedua, tingginya kandungan asam amino *Stichopus variegatus* (37%)<sup>14</sup> terutama *glycine* ( $\pm 126-216$  mg/g protein)<sup>11</sup> dan *glutamic acid* melalui siklus  $\gamma$ -*glutamyl* mampu meresintesis glutation pada sitoplasma dan mitokondria sehingga nekrosis masif dapat dicegah. Kemungkinan ketiga, proses regenerasi sel hati yang sangat baik sehingga dapat mengimbangi kerusakan sel yang terjadi akibat pembentukan oksidan dan MPT. Waktu yang diperlukan sel hati untuk regenerasi mulai dari terjadinya jejas sampai dengan sepenuhnya proses regenerasi sel adalah 8-10 hari<sup>10</sup>, sedangkan pemeriksaan SGPT dilakukan pada hari ke-13, hal ini didukung oleh hasil statistik dan hasil pengamatan histopatologi yang menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan perbaikan sel hati pada dosis 21,6 dan 32,4 mg/200g BB dibandingkan kontrol aquades, pada dosis 32,4 mg/200g BB menunjukkan

gambaran sel hepatosit yang mendekati normal dengan susunan yang radier dan tidak tampak perlemakan.

#### Nekrosis

Rerata persentase nekrosis hepar tertinggi pada kelompok aquades yaitu  $31,25 \pm 6,40\%$ , terendah pada kelompok dosis 32,4 yaitu  $7,50 \pm 7,07\%$ .

Efek metabolisme parasetamol paling awal adalah habisnya GSH sehingga NAPQI membentuk ikatan kovalen pada protein seluler di kompartemen sitosol dan mitokondria yang menjadi penyebab kematian nekrotik sel. Pengaktifan metabolik parasetamol dan ikatan protein metabolit reaktif merupakan pemicu kritis pada proses toksisitas, yang memerlukan penguatan dan penyebaran agar dapat menyebabkan kematian sel, maka intervensi yang dapat mencegah ikatan kovalen juga dapat mencegah kematian sel.<sup>1,4</sup>

Tingginya kandungan asam amino *Stichopus variegatus* (37%)<sup>14</sup> terutama *glycine* ( $\pm 126-216$  mg/g protein)<sup>11</sup> dan *glutamic acid* sebagai komponen utama GSH melalui siklus  $\gamma$ -*glutamyl*<sup>15</sup> mampu meresintesis GSH yang habis akibat toksisitas parasetamol pada sitoplasma dan mitokondria. GSH adalah pengeliminir peroksinitrit yang kuat dan mencegah pembentukan nitrotirosin secara efektif, mengurangi jejas sel hati akibat parasetamol dengan kuat dan mengaktifasi siklus regenerasi sel.<sup>1,4</sup>

Perubahan morfologik awal nekrotik sel berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma dan disagregasi polisom serta akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel. Perubahan yang muncul terlebih dahulu adalah pembengkakan mitokondria progresif dengan kerusakan krista, pembengkakan sitoplasma, penghancuran organel dan inti serta pecahnya membran plasma. Lesi hati yang bersifat sentrilobuler telah dikaitkan dengan kadar sitokrom P-450 yang lebih tinggi dan kadar glutation yang lebih rendah dibandingkan dengan kadar glutation di bagian lain dari hati.<sup>16</sup>

Inti sel merupakan penanda penting kematian sel. Pada morfologi jejas ireversibel, dimulai dengan inti yang mengalami kariolisis yaitu kromatin basofil menjadi pucat, perubahan yang diduga mencerminkan aktivasi DNase pada penurunan pH sel, kemudian inti mengalami piknosis, ditandai dengan pengisutan inti dan bertambah basofil, terakhir inti akan mengalami karioreksis, dimana inti piknosis atau yang sebagian piknosis mengalami fragmentasi. Dengan perjalanan waktu, inti pada sel nekrosis sama sekali menghilang.<sup>17</sup>

Rerata persentase perlemakan tertinggi pada kelompok aquades yaitu  $21,25 \pm 8,34\%$ , terendah pada kelompok dosis 32,4 yaitu  $1,25 \pm 3,53\%$ . Perlemakan sel hati adalah hasil akumulasi abnormal trigliserid di dalam hepatosit. *Macrovesicular steatosis* ditandai dengan adanya vakuola sitoplasmik trigliserid yang besar di

dalam hepatosit sehingga mendesak inti sel ke arah tepi. *Macrovesicular steatosis* banyak faktor penyebabnya termasuk meningkatnya mobilisasi asam lemak, meningkatnya sintesis hepatic asam lemak, meningkatnya sintesis trigliserid dari asam lemak dan berkurangnya pemindahan trigliserid dari hepatosit akibat tidak efektifnya sintesis VLDL. *Microvesicular steatosis* jarang terjadi tetapi kerusakannya lebih berat, terutama diakibatkan kekurangan  $\beta$ -oksidasi asam lemak pada mitokondria yang ditandai dengan munculnya beberapa tetesan kecil trigliserid dalam hepatosit tetapi tidak mendesak inti sel ke arah tepi.  $\beta$ -oksidasi asam lemak adalah proses yang penting karena *acetyl coenzyme-A moieties* adalah sumber utama ATP di sebagian besar sel. Gangguan proses ini meningkatkan esterifikasi asam lemak di dalam sitoplasma menjadi trigliserid, mengurangi energi sel dan berlanjut menjadi hiperamonemia melalui hambatan pada ureagenesis. *Microvesicular steatosis* dapat muncul dalam bentuk pola menyebar atau zonal dan beberapa kasus yang parah disertai dengan peradangan dan nekrosis hepatoseluler<sup>18</sup>

Overdosis parasetamol dapat memicu disfungsi mitokondrial dengan cara menginduksi stres oksidan pada mitokondrial yang terjadi dengan cepat setelah habisnya GSH. NAPQI yang dihasilkan terikat secara kovalen pada protein-protein mitokondrial membentuk oksigen reaktif, peroksinitrit di dalam mitokondria dan akumulasi  $\text{Ca}^{2+}$  selular melalui hambatan  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase (CME) sehingga terjadi hambatan respirasi mitokondrial dan menurunnya jumlah ATP menuju nekrosis sel dalam beberapa jam. Hepatosit yang tidak nekrosis tetapi mengalami jejas sel akan terganggu fungsinya seperti meningkatnya mobilisasi asam lemak, meningkatnya sintesis hepatic asam lemak, meningkatnya sintesis trigliserid dari asam lemak dan berkurangnya pemindahan trigliserid dari hepatosit akibat tidak efektifnya sintesis VLDL sehingga dapat timbul *macrovesicular steatosis* dan *microvesicular steatosis*. Gambaran *macrovesicular steatosis* dan *microvesicular steatosis* sel hati akibat induksi parasetamol terlihat pada hasil pengamatan histopatologi hati kelompok aquades  $\text{O}_5$  (gambar 35).

Hasil uji statistik dengan hasil pengamatan gambaran histopatologi mempunyai kesamaan karakteristik simpulan bahwa dosis serbuk teripang emas yang efektif untuk mencegah perlemakan adalah pada dosis 32,4 mg/200gBB. Hal ini diduga karena tingginya kandungan asam amino *Stichopus variegatus* (37%)<sup>14</sup> terutama glisin ( $\pm 126$ -216 mg/g protein)<sup>11</sup> dan asam glutamat sebagai komponen utama GSH melalui siklus  $\gamma$ -glutamyl<sup>15</sup> mampu meresintesis GSH yang habis akibat toksisitas parasetamol pada sitoplasma dan mitokondria. GSH adalah pengeliminir peroksinitrit yang kuat dan mencegah pembentukan nitrotirosin secara efektif, mengurangi jejas sel hati akibat parasetamol dengan kuat dan mengaktifasi siklus regenerasi sel.<sup>14</sup>

Pemberian saponin dari teripang dalam diet dapat mencegah efek perlemakan hati pada tikus yang diinduksi asam orotik dan hidrolisat dari teripang *Paracaudina chilensis* sebagai penangkap radikal bebas superoksida anion dapat melindungi kerusakan mitokondrial hati pada kelinci model.<sup>6</sup>

Rerata persentase regenerasi sel tertinggi pada kelompok dosis 32,4 yaitu  $17,50 \pm 10,35\%$ , terendah pada kelompok aquades yaitu  $5,00 \pm 5,34\%$ . Hilangnya sel hati akibat toksisitas obat atau sebab lainnya dipulihkan melalui proses regenerasi. Penggantian sel nekrotik terjadi sebagian besar melalui proliferasi hepatosit yang mengeluarkannya dari *quiescent state* ( $\text{G}_0$ ) dan kemudian masuk ke siklus sel. Proliferasi sel setelah over dosis parasetamol melibatkan IL-6 dan TNF- $\alpha$ . Langkah pertama adalah pelapisan hepatosit oleh TNF- $\alpha$  dan interleukin-6 (IL-6) yang membuat sel menjadi lebih peka terhadap faktor pertumbuhan. Berbagai faktor pertumbuhan kemudian menginduksi ekspresi protein siklus sel termasuk *cyclin*, *cyclin-dependent kinase* dan *cell cycle inhibitor*. Ekspresi yang simultan dari aktifator dan inhibitor sel siklus memastikan pengaturan yang sensitif dari proses tersebut. Salah satu marker aktivasi siklus sel adalah *cyclin D1* sebagai isyarat kepada sel untuk melakukan sintesa DNA. Penangkapan peroksinitrit mitokondrial oleh GSH menurunkan jejas hati akibat parasetamol dan menyebabkan ekspresi *cyclin D1* dan *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA). Sebagian besar sel-sel yang berada di luar siklus sel (*extensively stained cells*) berlokasi dalam zona transisi antara sel sehat dan sel nekrotik.<sup>1,4,10,19</sup> Tingginya kandungan asam amino *Stichopus variegatus* (37%)<sup>14</sup> terutama *glycine* ( $\pm 126$ -216 mg/g protein)<sup>11</sup> dan *glutamic acid* sebagai komponen utama GSH melalui siklus  $\gamma$ -glutamyl<sup>15</sup> mampu meresintesis GSH yang habis akibat toksisitas parasetamol pada sitoplasma dan mitokondria. GSH adalah pengeliminir peroksinitrit yang kuat dan mencegah pembentukan nitrotirosin secara efektif, mengurangi jejas sel hati akibat parasetamol dengan kuat dan mengaktifasi siklus regenerasi sel.<sup>1,4</sup> Waktu yang diperlukan sel hati untuk regenerasi, mulai dari terjadinya jejas sampai dengan sempurnanya proses regenerasi sel adalah 8-10 hari.<sup>10</sup>, sedangkan pemeriksaan histologi hati dilakukan pada hari ke-13, hal ini didukung oleh hasil statistik dan hasil pengamatan histopatologi yang menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan perbaikan sel hati pada dosis 21,6 dan 32,4 mg/200g BB dibandingkan kontrol aquades, pada dosis 32,4 mg/200g BB menunjukkan gambaran sel hepatosit yang mendekati normal dengan susunan yang radier dan tidak tampak perlemakan.

Hasil pembahasan ini sangat mendukung hipotesis pertama  $\text{H}_0$  bahwa pemberian teripang emas (*Stichopus variegatus*) tiga variasi dosis per oral selama 12 hari tidak menyebabkan perbedaan kadar SGOT dan SGPT darah tikus jantan dewasa, dan hipotesis kedua  $\text{H}_1$  bahwa pemberian teripang emas (*Stichopus variegatus*)

tiga variasi dosis per oral selama 12 hari memberikan perubahan gambaran histopatologi pada sel hati tikus jantan dewasa.

## 5. Kesimpulan

Hasil penelitian efek hepatoprotektif serbuk kering teripang emas (*Stichopus variegatus*) dapat disimpulkan bahwa pemberian serbuk kering teripang emas (*Stichopus variegatus*) dosis 10,8 mg/200g BB; 21,6 mg/200g BB dan 32,4 mg/200g BB per oral tiga kali sehari selama 12 hari tidak menunjukkan efek hepatoprotektif terhadap kerusakan hati akibat induksi parasetamol dosis 250 mg/kg BB selama 12 hari dengan parameter kadar SGOT dan SGPT tikus jantan dewasa galur Wistar, tetapi menunjukkan efek hepatoprotektif berupa perbaikan struktur histopatologi sel hepar tikus jantan dewasa galur Wistar dengan parameter persentase nekrosis, persentase perlemakan dan persentase regenerasi sel.

## Daftar Acuan

1. Jaeschke, H. and B. M. Lynn. 2005. Intracellular Signaling Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Cell Death. Oxford Journals. Toxicological Sciences 89.
2. Priyanto. 2009. Toksikologi. Mekanisme, Terapi Antidotum dan Penilaian Resiko. Cetakan ke-1. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi. Jakarta.
3. Husadha, Y. 1996. Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimiawi Hati dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid I (Edisi ke-3). Sjaifoelah Noer (Editor). Penerbit Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
4. Jaeschke, H. 2007. Antioxidant Defence in Liver Injury: Oxidant Stress, Antioxidant Defence and Liver Injury. N. Kaplowitz and L.D. Deleve (editor). Drug-Induced Liver Disease (2<sup>nd</sup> Ed.) (page 33-48). Informa Healthcare, New York, USA.
5. Bessems, J.G. and Vermeulen, N.P. 2001. Paracetamol (Acetaminophen)-Induced Toxicity: Molecular and Biochemical Mechanisms, Analogues and Protective Approaches. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11215692> diakses 30 April 2012).
6. Sara, B., A. Farooq and S. Nazamid. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods-A Review. Journal of Marine Drugs 9:1761-1805.
7. Hawa I., M. Zulaikah, M. Jamaludin, A.A.Z. Abidin, M.A. Kaswandi and B.H. Ridzwan. 1999. The Potential of the Coelomic Fluid in Sea Cucumber as an Antioxidant. Malaysia Journal of Nutrition 5:55-59.
8. Katzung, B.G. 2007. Farmakologi Dasar dan Klinik. EGC, Jakarta.
9. Yodhian, L.F. 2008. Analgesik-Antipiretik, Obat-Obat AINS dan Obat-Obat Pirai (Gout). Dalam Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya (editor). Kumpulan Kuliah Farmakologi (Edisi ke-2) (halaman 504-505). EGC, Jakarta.
10. Tarla, M.R., F.S. Ramalho, L.N.Z. Ramalho, T.C.Silva, D.F. Brandao, J. Ferreira, O.C. Silva, S. Zucoloto. 2006. A Molecular View of Liver Regeneration. Acta Cirurgica Brasileira 21(1).
11. Wen, J., C. Hu and S. Fan. 2010. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. Journal of the Science of Food and Agriculture 90(14):2469-74.
12. Mitruka, B.M. and H.M. Rawnsly. 1981. Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans (2<sup>nd</sup> Ed.). Masson Publishing USA Inc., New York.
13. Johnson-Delaney, C.A. 2008. Exotic Companion Medicine Handbook for Veterinarians. Zoological Education Network, Florida, USA.
14. Patar, A., S.M.S.S. Jamalullail, H. Jaafar, J.M. Abdullah. 2012. Analysis of Sea Cucumber Body Wall Extracts from Perhentian *Stichopus variegatus* Species using Gas Chromatography Mass Spectrophotometry. European Journal of Scientific Research 68(1):54-59.
15. Abra, G. 2010. Acetaminophen and the Kidney. Renal Fellow Network. National Kidney Foundation. (<http://renalfellow.blogspot.com/2010/10/acetaminophen-kidney.html>, diakses 13 April 2012).
16. Lu, F.C. 1995. Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penelitian Resiko (Edisi ke-2). Terjemahan oleh: Nugroho, E. Bustami, S. Zunilda, Darmansyah, Iwan. UI Press, Jakarta, Indonesia.
17. Robbins, S.L. and V.K. Kumar. 2007. Basic Pathology Part I. Terjemahan oleh: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair (halaman 1-27). EGC, Jakarta.
18. Sturgill, M.G. and G.H. Lambert. 1997. Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury methods of monitoring hepatic function. Clinical Chemistry 43(8):1512-1526
19. Fausto, N. and J.S. Campbell. 2003. The Role of Hepatocytes and Oval Cells in Liver Regeneration and Repopulation. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925477302003386>, diakses 16 April 2012).