

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C
TERHADAP TOKSISITAS SIKLOFOSFAMID PADA
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF VITAMIN C
AGAINST CYCLOPHOSPHAMID INDUCED TOXICITY
IN RATS (*Rattus norvegicus*)**

Disusun dan diajukan oleh

SRI MURTI D

N011 18 1046



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C TERHADAP TOKSISITAS
SIKLOFOSFAMID PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF VITAMIN C AGAINST
CYCLOPHOSPHAMID INDUCED TOXICITY IN RATS (*Rattus
norvegicus*)**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

SRI MURTI D

N011 18 1046

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C TERHADAP TOKSISITAS
SIKLOFOSFAMID PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)**


SRI MURTI D

N011 18 1046

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Yulia Yusrini Djibir, MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt.

NIP. 19780728 200212 2 003


Muh. Akbar Bahar, Ph.D., Apt.

NIP. 19860516 200912 1 005

Pada Tanggal, 2 Februari 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C TERHADAP TOKSISITAS
SIKLOFOSFAMID PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF VITAMIN C AGAINST
CYCLOPHOSPHAMID INDUCED TOXICITY IN RATS (*Rattus
norvegicus*)**

Disusun dan diajukan oleh:


**SRI MURTI D
N011 18 1046**


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 31 Januari 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Yulia Yusrini Djabir, MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19780728 200212 2 003


Muh Akbar Bahar, Ph.D., Apt.
NIP. 19860516 200912 1 005

Pt. Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : Sri Murti D
Nim : N011 18 1046
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul "Uji Efek Hepatoprotektif Vitamin C Terhadap Toksisitas Siklofosamid Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 2 Februari 2022

Yang menyatakan,




Sri Murti D

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil 'alamiin segala puji bagi Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, berupa nikmat kesempatan dan kesempatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kesulitan yang dihadapi dan tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Penulis banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak baik bersifat moral maupun material. Untuk itu menulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Yulia Yusrini Djabir, MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muh. Akbar Bahar, Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan banyak waktu dan tenaganya untuk memberikan bimbingan, arahan, saran, serta bantuan bagi penulis dalam melaksanakan penelitian dan banyak melatih penulis untuk berpikir kritis dan logis dalam menyelesaikan suatu permasalahan.
2. Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. dan Bapak Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan

waktunya dan memberikan masukan dan saran terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini.

3. Sumarheni, S.Si., M.Sc., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Seluruh Bapak/ Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan membimbing penulis selama masa studi S1 juga seluruh staf akademik dan segala fasilitas dan pelayanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi sehingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Sahabat-sahabat penulis, Aqilah, Jessica, Ila, Khuznul, Ani, Hilda, Tata, Cichu, Rezmul, Farah, Jihan, Tiwi dan Ade, untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
6. Rekan-rekan Korps. Asisten Biofarmakologi dan Toksikologi yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.
7. Teman Teman KKN-PK Angkatan 60 Desa Pao, Ikki, Ema, Cici, Sarah, Aul, Fika, Misna, Dewan dan Igo untuk setiap dukungan, doa serta bantuan yang diberikan kepada penulis.
8. Teman-teman angkatan "GEMF18ROZIL" atas kebersamaan yang diberikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan selama penyelesaian skripsi.

9. Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua dan saudara penulis yaitu Bapak Darma dan kak Uli serta seluruh keluarga penulis yang tanpa henti memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis.
10. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam sumbangsih ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan penelitian penelitian selanjutnya

Makassar, 2 Februari 2022



Sri Murti D

ABSTRAK

SRI MURTI D. Uji Efek Hepatoprotektif Vitamin C Terhadap Toksisitas Siklofosfamid Pada Tikus (*Rattus norvegicus*).

Siklofosfamid merupakan agen alkilasi yang digunakan dalam pengelolaan berbagai jenis kanker serta beberapa gangguan seperti *systemic lupus erythematosus*, *rheumatoid arthritis* dan *multiple sclerosis*. Hepatotoksisitas siklofosfamid dihasilkan oleh gangguan respirasi seluler akibat kerusakan mekanisme konversi energi mitokondria sehingga mengganggu keseimbangan oksidan/antioksidan intraseluler hati dan mengakibatkan akumulasi stres oksidatif. Vitamin C digunakan sebagai agen hepatoprotektif dengan kemampuannya mencegah akumulasi senyawa toksik yang dihasilkan dari proses oksidasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektifitas penggunaan vitamin C dalam mengurangi hepatotoksisitas siklofosfamid berdasarkan parameter kadar Alanin aminotransferase (ALT) dan Aspartat aminotransferase (AST). Hewan uji terdiri atas 25 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) yang dibagi kedalam 5 kelompok perlakuan uji, kelompok 1 (kelompok sehat), kelompok 2 (*water for injection* + siklofosfamid), kelompok 3 (vitamin C 125 mg/kgBB + siklofosfamid), kelompok 4 (vitamin C 250 mg/kgBB + siklofosfamid) dan kelompok 5 (vitamin C 500 mg/kgBB + siklofosfamid). Hasil evaluasi kadar ALT dan AST dengan membandingkan nilai sebelum dan setelah pemberian siklofosfamid, menunjukkan bahwa siklofosfamid memiliki efek hepatotoksik yang dicirikan dengan peningkatan kadar ALT dan AST yang signifikan pada kelompok 2. Hasil pengukuran kadar ALT dan AST pada kelompok perlakuan 3, 4 dan 5 menunjukkan bahwa vitamin C memiliki efek hepatoprotektif dengan mencegah kenaikan nilai ALT dan AST yang melebihi nilai normal setelah pemberian siklofosfamid. Hasil pengamatan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada potensi hepatoprotektif vitamin C di setiap konsentrasi uji yaitu 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

Kata kunci: Siklofosfamid, vitamin C, hepatotoksisitas, hepatoprotektif, Alanin aminotransferase, aspartat aminotransferase

ABSTRACT

SRI MURTI D. *Hepatoprotective Effect of Vitamin C Test on Cyclophosphamid Induced Toxicity in Rats (Rattus norvegicus).*

Cyclophosphamide is an alkylating agent used in the management of various types of cancer as well as several disorders such as systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. Hepatotoxicity of cyclophosphamide is caused by impaired cellular respiration due to a damage in the mitochondrial energy conversion mechanism, thereby disrupting the intracellular oxidant/antioxidant balance of the liver and resulting in the accumulation of oxidative stress. Vitamin C is used as a hepatoprotective agent with its ability to prevent the accumulation of toxic compounds resulted by the oxidation process. This study aimed to evaluate the effectiveness of vitamin C in reducing cyclophosphamide induced hepatotoxicity using alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels as a indicators of its effectiveness. Twenty five rats (*Rattus norvegicus*) were divided into five treatment groups as follows: group 1 (healthy group), group 2 (*water for injection* + cyclophosphamide), group 3 (vitamin C 125 mg/kgBW + cyclophosphamide), group 4 (vitamin C 250 mg/kgBW + cyclophosphamide) and group 5 (vitamin C 500 mg/kgBW + cyclophosphamide). Based on the evaluation of ALT and AST levels before and after administration of cyclophosphamide seemed to have a hepatotoxic effect which was characterized by a significant increase in ALT and AST levels in group 2. The result of measurements of ALT and AST levels in treatment groups 3, 4 and 5 seemed that vitamin C has a hepatoprotective effect by preventing the increase in ALT and AST values that exceed normal values after cyclophosphamide administration. The observations did not show a significant difference in the hepatoprotective potential of vitamin C at each test concentration, that is 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW and 500 mg/kgBW.

Keywords: Cyclophosphamide, vitamin C, hepatotoxicity, hepatoprotective, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Hati	5
II.1.1 Anatomi dan Fisiologi Hati	5
II.1.2 Fungsi Hati	6
II.1.3 Biomarker Fungsi Hati	8
II.2 Siklofosfamid	10
II.2.1 Farmakodinamik Siklofosfamid	11
II.2.2 Farmakokinetik Siklofosfamid	11

II.3 Antioksidan	16
II.3.1 Sumber Antioksidan	16
II.3.2 Mekanisme Antioksidan	17
II.3.3 Vitamin C	19
BAB III METODE PENELITIAN	23
III.1 Alat dan Bahan	23
III.2 Metode Kerja	23
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji	23
III.2.2 Penyiapan Larutan Vitamin C	24
III.2.3 Perhitungan Dosis Siklofosamid	25
III.2.4 Penyiapan Larutan Siklofosamid	25
III.2.5 Prosedur Percobaan	26
III.2.6 Analisis Biomarker Hati	26
III.2.7 Pengumpulan dan analisis data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	38
V.1 Kesimpulan	30
V.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Analisis Kadar Serum ALT	38
2. Hasil Analisis Kadar Serum AST	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Rumus struktur siklofosamid (Sweetman, 2009)	10
2. Tahapan metabolisme siklofosamid (Sweetman, 2009)	12
3. Rumus struktur vitamin C	19

DAFTAR SINGKATAN

ALT	= Alanin Aminotransferase
AST	= Aspartat Transaminase
SGPT	= <i>Serum Glutamic Pyruvic Transminase</i>
SGOT	= <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transminase</i>
µm	= Micrometer
nm	= Nanometer
mm	= Millimeter
SOD	= Superoxide dismutase
CAT	= Catalase
GPX	= Glutathione peroxidase
GST	= Glutathione S-transferase
BHA	= Butil hidroksianisol
BHT	= Butil hidroksitoluen
TBHQ	= Terbutil hidroksi kuinon
IMT	= Indeks Massa Tubuh
kgBB	= Kilogram bobot badan
gBB	= Gram bobot badan
Wfi	= <i>Water for injection</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	35
2. Perhitungan	36
3. Tabel hasil evaluasi	38
4. Data hasil analisis atatistika	42
5. Dokumentasi penelitian	64
6. Rekomendasi persetujuan etik	66

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Siklofosfamid merupakan agen alkilasi sintetik yang telah lama digunakan dalam pengelolaan berbagai jenis kanker (El-sheikh dan Rifaai, 2014) serta pengobatan beberapa gangguan seperti *systemic lupus erythematosus*, *rheumatoid arthritis* dan *multiple sclerosis*. Siklofosfamid bekerja dengan cara berikatan kovalen dengan asam nukleat pada rantai yang berbeda membentuk *cross linking* sehingga terjadi kerusakan DNA (Mustajabah *et al.*, 2012). Siklofosfamid secara klinis dapat menyebabkan hepatotoksisitas dan toksisitas gastrointestinal yang disertai imunosupresi karena mengganggu proliferasi sel imun yang sehat (Zhang *et al.*, 2020).

Efek hepatotoksisitas siklofosfamid dihasilkan oleh gangguan respirasi seluler akibat kerusakan mekanisme konversi energi mitokondria. Hal ini kemudian mengganggu keseimbangan oksidan/antioksidan intraseluler hati sehingga menyebabkan akumulasi spesies oksigen reaktif. Akumulasi stres oksidatif yang dihasilkan dapat memicu jalur inflamasi nuclearfactor- κ B (NF- κ B) yang dapat meningkatkan sitokin proinflamasi intraseluler hepatik seperti faktor tumor nekrosis (TNF)- α sehingga menginduksi terjadinya hepatotoksisitas (El-sheikh dan Rifaai, 2014).

Alanin aminotransferase (ALT) dan aspartat transaminase (AST) merupakan enzim yang terdapat dalam hati yang umum digunakan untuk

mendeteksi ada tidaknya kerusakan pada hati. Hepatosit yang mengalami kerusakan akan mengeluarkan isi selnya termasuk ALT dan AST menuju ekstraseluler. Enzim ALT dan AST yang dilepaskan oleh hepatosit kemudian akan masuk ke sirkulasi darah sehingga terjadi peningkatan kadar serum ALT dan AST dalam darah (Ozer *et al.*, 2008).

Terdapat beberapa hasil penelitian yang menunjukkan bahwa vitamin C memiliki sifat protektif pada hati. Lenton *et al.* (2003) melaporkan bahwa vitamin C dapat meningkatkan limfosit askorbat dan limfosit glutathion yang akan menginduksi pembentukan antioksidan alami dalam tubuh (Lenton *et al.*, 2003). Pada penelitian yang lain, Abdulkhaleq *et al.* (2018) melaporkan bahwa pemberian vitamin C dengan dosis 500 mg/kg selama 6 hari berturut-turut diikuti dengan pemberian parasetamol dosis tinggi pada hari ke-7 dan ke-8 dapat mengurangi disfungsi hati tikus secara signifikan (Abdulkhaleq *et al.*, 2018). Penelitian serupa yang dilakukan oleh Djabir *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa pemberian pemberian vitamin C dengan dosis 250 mg/kg selama 7 hari dapat menurunkan kadar ALT dan AST tikus yang diinduksi doksorubisin (Djabir *et al.*, 2016). Dalam penelitian lainnya oleh Bhattacharyya dan Mehta (2012), dilaporkan bahwa pemberian vitamin C sebelum dan selama masa pengobatan cisplatin pada tikus dapat mengurangi efek hepatoksisitas dari cisplatin (Bhattacharyya dan Mehta, 2012).

Walaupun kemampuan vitamin C sebagai hepatoprotektor telah banyak diteliti, namun belum terdapat studi yang melaporkan efek

hepatoprotektifnya terhadap toksisitas siklofosamid. Setiap toksikan dapat memiliki mekanisme toksisitas yang berbeda pada hati, contohnya untuk parasetamol memiliki mekanisme toksisitas yaitu dengan terbentuknya metabolit reaktif toksik N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) (Sweetman *et al.*, 2009). Doksorubisin menginduksi nekrosis dengan mengganggu aktivitas pada mitokondria dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) (Carvalho *et al.*, 2009). Selanjutnya cisplatin dapat menyebabkan toksisitas dengan mengganggu aktivitas Superoksida dismutase (SOD) dan Glutathione reduktase (GSH) (Bhattacharyya dan Mehta, 2012). Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk menguji efek hepatoprotektif vitamin C terhadap toksisitas siklofosamid yang diberikan pada tikus (*Rattus norvegicus*).

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diperoleh adalah apakah pemberian vitamin C dapat mengurangi hepatotoksitas siklofosamid pada tikus (*Rattus norvegicus*) berdasarkan parameter kadar ALT dan AST ?

I.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian yang diperoleh yaitu untuk mengevaluasi efektifitas penggunaan vitamin C dalam mengurangi hepatotoksitas siklofosamid pada tikus (*Rattus norvegicus*) berdasarkan parameter kadar ALT dan AST.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Hati

II.1.1 Anatomi dan Fisiologi Hati

Hati adalah kelenjar terbesar di dalam tubuh, yang terletak di bagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan dibawah diafragma. Hati secara luas dilindungi iga-iga. Hati terbagi dalam dua lobus utama, lobus kanan dan lobus kiri. Permukaan atas hati berbentuk cembung dan terletak di bawah diafragma, sedangkan pada permukaan bawah memperlihatkan lekukan berupa *fisura transversus*. Permukaan hati dilintasi oleh berbagai pembuluh darah yang masuk-keluar hati. *Fisura longitudinal* memisahkan antara lobus kanan dan lobus kiri di permukaan bawah hati, sedangkan *ligament falsiformis* memisahkan antar lobus di permukaan atas hati. Selanjutnya hati terbagi atas empat belahan (kanan, kiri, kaudata dan kuadrata). Setiap belahan atau lobus terdiri atas lobules. Lobulus hati berbentuk polihedral (segibanyak) dan terdiri atas sel hati berbentuk kubus dan cabang-cabang pembuluh darah diikat bersama oleh jaringan hati. Hati mempunyai dua jenis persediaan darah, yaitu yang datang melalui arteri hepatica dan yang melalui vena porta. Sel hati berupa sel polihedral dan memiliki inti. Protoplasma sel berisi sejumlah besar enzim. Massa sel hati membentuk lobula hepatica yang terbentuk heksagonal kasar dengan diameter kira-kira satu milimeter dan satu yang lain terpisah oleh jaringan

ikat yang memuat cabang-cabang pembuluh darah yang menjelajahi hati (Pearce, 2013).

II.1.2 Fungsi Hati

Hati memiliki berbagai fungsi penting sehingga termasuk organ yang vital bagi kehidupan manusia. Fungsi hati bersangkutan dengan metabolisme tubuh, khususnya mengenai pengaruhnya atas makanan dan darah. Hati merupakan pabrik kimia terbesar dalam tubuh dalam hal menjadi pengantar metabolisme, artinya yaitu hati dapat mengubah zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan disimpan di suatu tempat di dalam tubuh guna dibuat sesuai untuk pemakaiannya di dalam jaringan. Hati juga mampu mengubah zat buangan dan bahan racun untuk mudah untuk di ekskresi oleh (Pearce, 2013). Adapun fungsi hati yaitu sebagai berikut :

II.1.2.1 Metabolisme

a. Metabolisme karbohidrat

Dalam metabolisme karbohidrat hati melakukan fungsi yaitu menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, menjalankan proses glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat. Penyimpanan glikogen memungkinkan hati mengambil kelebihan glukosa dari darah, menyimpan dan kemudian mengembalikannya kembali ke darah bila konsentrasinya glukosa darah mulai turun terlalu rendah (Arthur and John, 2011).

b. Metabolisme lemak

Hati berfungsi memetabolisme lemak yaitu dengan mengoksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat (Arthur dan John, 2011).

c. Metabolisme protein

Fungsi hati dalam metabolisme protein yaitu dalam deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma dan berperan dalam interkonversi berbagai asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino (Arthur dan John, 2011).

II.1.2.2 Penyimpanan

Hati memiliki peran yang besar dalam penyimpanan dan penyebaran berbagai zat, termasuk glikogen, lemak, vitamin, dan besi. Vitamin A dan D yang dapat larut dalam lemak disimpan dalam hati (Pearce, 2013).

II.1.2.3 Sintesis Asam Empedu

Beberapa unsur pada empedu misalnya garam empedu dibuat dalam hati. Unsur lain misalnya pigmen empedu dibentuk di dalam sistem retikuloendorelium dan dialirkan ke dalam empedu oleh hati (Pearce, 2013).

II.1.2.4 Pembentukan Ureum

Hati menerima asam amino yang diabsorpsi darah. Di dalam hati terjadi deaminasi oleh sel, artinya nitrogen dipisahkan dari bagian asam amino dan amonia diubah menjadi ureum. Ureum dapat dikeluarkan dari darah oleh ginjal dan dieksresikan ke dalam urin (Pearce, 2013).

II.1.2.5 Produksi Panas

Hati membantu mempertahankan suhu tubuh sebab luasnya organ itu dan banyaknya kegiatan metabolik yang berlangsung mengakibatkan darah yang mengalir mealui organ itu mengalami kenaikan suhu (Pearce, 2013).

II.1.2.6 Detoksikasi

Beberapa obat tidur dan alkohol dapat didetosifikasi secara keseluruhan oleh hati, namun pada dosis besar obat bius berpotensi dapat merusak sel hati. Demikian pula dengan beberapa obat dan bahan kimia yang digunakan dalam industri yang memicu kerusakan sel hati (Pearce, 2013).

II.1.3 Biomarker Fungsi Hati

Enzim yang bertindak sebagai biomarker hati berupa enzim yang terkandung dan tersintesis di dalam sel hati. Peningkatan kadar enzim dalam serum atau plasma merupakan indikasi terjadinya kerusakan sel. Enzim pada hati antaranya yaitu *alanine aminotransferase* (ALT) dan *aspartate transaminase* (AST). Beberapa faktor mempengaruhi aktivitas enzim dalam plasma atau serum yaitu, konsentrasi enzim dalam sel, tingkat dan durasi kerusakan sel dan aksesibilitas enzim dalam aliran darah (Washington *et al.*, 2012).

Enzim ALT dan AST merupakan enzim-enzim intrasel yang dapat dijadikan sebagai indikator penurunan fungsi hati. Peningkatan aktivitas kedua enzim tersebut menunjukkan bahwa hati telah bekerja lebih keras. Hal ini dapat terjadi karena adanya suatu penyakit, banyaknya senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuh termasuk obat-obatan atau karena kerusakan sel-sel hati. Saat terjadi kerusakan pada hati, ALT dan AST akan dilepaskan dari sel hati yang mengalami kerusakan dan menyebabkan peningkatan aktivitas serum yang signifikan (Fitria *et al.*, 2019).

II.1.3.1 Enzim Alanin Aminotransferase (ALT)

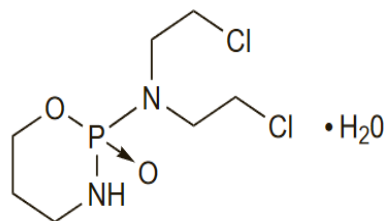
Alanine aminotransferase (ALT) atau dengan nama lain *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) merupakan enzim yang mengkatalisis transfer gugus amino dari alanin ke alfa-ketoglutarat dalam siklus alanine untuk membentuk piruvat dan glutamat. Enzim ALT ditemukan dalam serum dan jaringan organ terutama pada hati, serta terdapat juga pada ginjal, otot rangka dan miokardium. ALT juga terdapat pada pankreas, limfa dan paru-paru dengan konsentrasi yang lebih rendah (Washington *et al.*, 2012).

II.1.3.2 Enzim Aspartate Transaminase (AST)

Enzim *aspartate transaminase* (AST) atau yang biasa disebut *serum glutamic oxaloasetat transaminase* (SGOT) adalah enzim transaminase yang mengkatalisis konversi aspartat dan alfa-ketoglutarat menjadi oksaloasetat dan glutamat. Enzim AST dapat ditemukan di jaringan seperti hati, jantung, otot rangka, ginjal, otak, dan pankreas dengan kadar tertinggi

di hati dan otot rangka. Konsentrasi AST akan meningkat setelah terjadi trauma, infeksi atau neoplasia hati atau otot (*Washington et al.*, 2012)

II.2 Siklofosfamid



Gambar 1. Rumus Struktur Siklofosfamid (Sweetman, 2009)

Siklofoslamid merupakan antineoplastik yang diubah menjadi agen alkilator berupa ester losfamid siklik mekloretamin serta bersifat nonspesifik terhadap siklus sel. Siklofosfamid memiliki sifat immunosupresan. Siklofosfamid sering digunakan dalam pengelolaan berbagai kanker seperti kanker otak, payudara, endometrium, paru-paru dan ovarium serta pada limfoma burkitt, neuroblastoma, retinoblastoma, tumor wilms dan untuk leukemia limfoblastik (*Alison*, 2014).

Pemberian siklofosfamid sangat perlu dipertimbangkan untuk kondisi non-neoplastik karena sifat toksik akutnya berupa berpotensi sebagai hepatotoksisitas dan nefrotoksisitas serta berpotensi untuk menginduksi kemandulan, memiliki sifat teratogenik dan dapat menginduksi leukemia (*Brunton et al.*, 2011).

II.2.1 Farmakodinamik Siklofosfamid

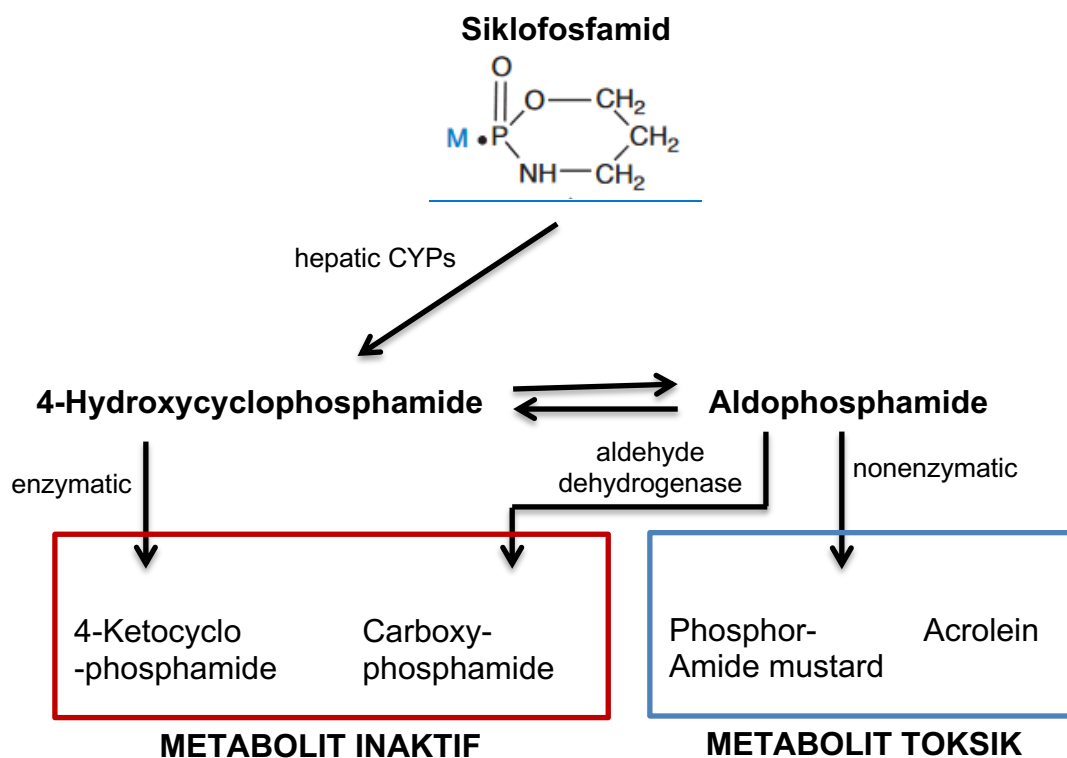
Siklofosfamid merupakan antineoplastik pada agen alkilasi dan digunakan untuk mengobati berbagai bentuk kanker. Digolongkan pada agen alkilasi karena kemampuannya untuk menambahkan gugus alkil ke

banyak gugus elektronegatif ke dalam sel. Gugus alkil tersebut akan menghentikan pertumbuhan tumor dengan menghubungkan basa guanin dalam untaian heliks ganda DNA sehingga secara langsung menyerang DNA. Hal ini membuat untaian tidak dapat mengurai dan terpisah. Karena ini diperlukan dalam replikasi DNA, sehingga sel-sel tidak dapat lagi membelah. Selain itu, obat-obatan golongan agen alkilasi dapat menambahkan metil atau gugus alkil lainnya ke molekul yang bukan tempatnya. Agen alkilasi dapat bekerja dengan tiga mekanisme yang berbeda dengan hasil akhir yang dicapai sama yaitu berupa gangguan fungsi DNA dan kematian sel. Aktivitas biologis alkilator dari nitrogen mustard jenis ini karena adanya gugus bis-(2-kloroetil). Siklofosfamid akan mengalami aktivasi metabolik yaitu proses hidrosilasi oleh enzim CYP (Gambar II.2) (Brunton *et al.*, 2011).

II.2.2 Farmakokinetik Siklofosfamid

Siklofosfamid diserap dengan baik dari saluran pencernaan dengan bioavailabilitas lebih besar dari 75%. Kemudian didistribusikan secara luas di jaringan dan dapat melewati sawar darah otak. Siklofosfamid akan diaktivasi oleh sistem oksidase dalam proses metabolisme di hati. Metabolit awal adalah *4-hydroxycyclophosphamid* dan tautomer asikliknya yaitu aldofosfamid, yang keduanya akan mengalami proses metabolisme lebih lanjut yaitu aldofosfamid dapat mengalami konversi nonenzimatik menjadi aktif mustard fosforamida. Akrolein juga diproduksi dan bertanggung jawab pada toksisitas kandung kemih. Siklofosfamid diekskresikan terutama

dalam urin berupa metabolit dan dapat melintasi plasenta dan ditemukan dalam air susu ibu (ASI) (Alison, 2014).



Gambar II .2 Tahapan Metabolisme Siklofosfamid (Brunton *et al.*, 2011)

Siklofosfamid diaktifkan di hati terutama oleh enzim CYP2C9 kemudian akan berubah menjadi 4-hidroksisiklofosfamid. Metabolit selanjutnya diubah menjadi spesies alkilasi aktif, mustard fosforamida ($t_{1/2} = 9$ jam) dan mustard nornitrogen ($t_{1/2} = 3,3$ jam) (Brunton *et al.*, 2011). Siklofosfamid dapat menembus lapisan lipid subkutan dan perlahan akan dilepaskan menuju ke sistem sirkulasi darah. Siklofosfamid juga dapat diidentifikasi pada urin seseorang baik yang sengaja ataupun tidak menghirup aerosol

yang mengandung siklofosfamid ataupun penggunaan siklofosfamid pada kulit (Alison, 2014).

II.2.3 Toksisitas Siklofosfamid

Adanya kemampuan agen alkilasi untuk mengganggu integritas dan fungsi DNA dan untuk menginduksi kematian sel dalam jaringan yang berkembang biak dengan cepat sehingga memberikan dua efek sekaligus yaitu efek terapeutik dan toksiknya. Efek yang diberikan berupa menginduksi kematian sel biasanya sangat cepat terjadi terutama pada lapisan jaringan, namun agen alkilasi tertentu juga memungkinkan memiliki efek merusak pada jaringan dengan mitosis misalnya pada hati, ginjal dan limfosit (Brunton *et al.*, 2011).

Siklofosfamid diketahui dapat memberikan efek toksisitas berupa kerusakan multiorgan yang mengakibatkan morbiditas berat dan berpotensi berakhir fatal. Toksisitas yang dapat dipicu berupa hepatotoksisitas, nefrotoksisitas, neurotoksisitas serta memicu kardiotoxikitas pada penggunaan dosis tinggi. Hepatotoksisitas yang diinduksi siklofosfamid dapat terjadi pada dosis kemoterapi yang tinggi atau bahkan pada konsentrasi yang rendah dan diperparah pada pasien yang disertai penyakit autoimun (El-sheikh dan Rifaai, 2014). Mekanisme hepatotoksisitas siklofosfamid dikaitkan dengan adanya ketidakseimbangan oksidan/antioksidan dan pelepasan sitokin proinflamasi yang mana akan berhubungan dalam mekanisme kerusakan hati yang diinduksi siklofosfamid (Zarei dan Shivanandappa, 2013). Pada penelitian yang

dilakukan oleh El-sheikh dan Rifaai (2014), melaporkan bahwa pemberian siklofosfamid menyebabkan penurunan aktivitas enzim antioksidan *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPX), dan *glutathione S-transferase* (GST), serta terjadinya peningkatan penanda stres oksidatif seperti peningkatan malondialdehid (MDA) dan nitrogen oksida yang diikuti dengan penurunan kadar glutathion dan peningkatan kadar sitokin proinflamasi TNF- α (El-sheikh dan Rifaai, 2014).

Siklofosfamid diaktifkan secara metabolik melalui mikrosom hati membentuk dua metabolit aktif yaitu, fosforamida mustard dan akrolein (Jyothi *et al.*, 2009), yang mana metabolit fosforamida mustard dan akrolein menjadi penyebab efek toksik siklofosfamid karena menginduksi pembentukan radikal bebas (Liu *et al.*, 2012). Salah satu jenis radikal bebas tersebut adalah radikal bebas nitrogen oksida yang memiliki karakteristik umur pendek namun bersifat sangat reaktif (Wang *et al.*, 2013). Keberadaan glutathion yang merupakan antioksidan nonenzimatik yang paling kuat dalam tubuh manusia, awalnya meningkat dalam 24 jam pertama setelah pemberian siklofosfamid sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tubuh alami terhadap kelebihan produksi radikal bebas. Hal ini diikuti kemudian oleh penurunan glutathion cadangan yang tersimpan dalam tubuh (Zarei dan Shivanandappa, 2013).

Aktivitas enzim antioksidan yang terdapat pada hati seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, *glutathione peroxidase*, dan *glutathione S-transferase* juga menurun selama upaya menetralkan radikal bebas yang berlebih

(Jyothi *et al.*, 2009). *Glutathione S-transferase* merupakan salah satu enzim penting untuk dalam metabolisme siklofosamid. Jalur detoksifikasi ini tergantung pada konjugasi siklofosamid dengan glutathione, yang mana terdapat gugus tiol yang kemudian dikatalisis oleh glutathione S-transferase. Menurunnya kadar *glutathione S-transferase* dalam masa upaya penangkalan radikal bebas menjadi penyebab meningkatnya konsentrasi serum siklofosamid sehingga dapat meningkatkan efek hepatotoksisitas siklofosamid (El-sheikh dan Rifaai, 2014).

Penurunan *glutathione S-transferase* dan penurunan aktivitas enzim antioksidan dikaitkan dengan peningkatan peroksidasi lipid yang kemudian mengakibatkan peningkatan pembentukan *malondialdehyde* (MDA), tiga karbon dialdehida yang sangat reaktif yang merupakan peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda dan produk sampingan metabolisme asam arakidonat. Akumulasi stres oksidatif yang dihasilkan kemudian dapat memicu jalur inflamasi nuclearfactor- κ B (NF- κ B) yang kemudian dapat meningkatkan sitokin proinflamasi intraseluler hepatik sebagai faktor tumornekrosis TNF- α sehingga menginduksi terjadinya hepatotoksisitas (El-sheikh dan Rifaai, 2014).

II.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein

dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya ke molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan melindungi lipid dari proses peroksidasi radikal bebas. Jika radikal bebas mendapat elektron dari antioksidan, maka radikal bebas tersebut tidak dapat lagi menyerang sel sehingga reaksi berantai akan terputus (Clarkson dan Thompson, 2018).

II.3.1 Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami adalah antioksidan yang dibentuk didalam tubuh serta dapat diperoleh dari makanan seperti buah-buahan, sayu-sayuran, biji-bijian, kacang-kacangan, daging dan minyak (Clarkson dan Thompson, 2018). Senyawa antioksidan alami pada umumnya berupa vitamin C, vitamin E, karotenoid, senyawa fenolik dan polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin flavonol dan halkon. Turunan asam sinamat meliputi asam ferulat, asam klorogenat, dan lainnya. Hal ini disebabkan karena adanya gugus $-OH$ dan ikatan rangkap dua ($>C=C<$) yang dimiliki oleh senyawa-senyawa di atas (Murray *et al.*, 2009).

Antioksidan sintetik merupakan antioksidan buatan dari sintesis reaksi kimia. Senyawa-senyawa yang termasuk antioksidan sintetik yaitu butil

hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, terbutil hidroksi kuinon (TBHQ) yang banyak digunakan sebagai bahan pengawet pada makanan (Shahidi dan Zhong, 2015).

II.3.2 Mekanisme Antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya antioksidan dapat dibagi menjadi tiga yaitu, antioksidan primer, sekunder dan tersier (Parwata, 2016) :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Adapun contoh antioksidan yang bekerja secara primer yaitu superoksida dimustase (SOD), katalase, albumin, feritin dan glutation.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau antioksidan non-enzimatis. Antioksidan dalam kelompok ini juga disebut sistem pertahanan preventif. Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Kerja sistem antioksidan

non-enzimatik yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Contoh dari antioksidan sekunder yaitu vitamin C, vitamin E, karoten dan flavonoid. Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitasnya. Ketika jumlah radikal bebas berlebihan, kadar antioksidan non-enzimatis yang dapat diamati dalam cairan biologis juga akan menurun.

c. Antioksidan tersier

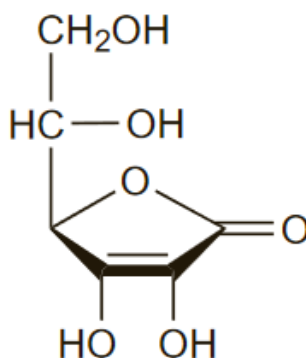
Antioksidan tersier atau *repair enzyme* yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah meliputi enzim *DNA-repair*, metionin sulfoksida reduktase, metionin sulfosida reduktase, *protease*, *transferase* dan *lipase*.

II.3.3 Vitamin C

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air yang mudah diserap dan cepat diekresi lewat urin. Eksresi melalui urin dalam bentuk utuh dan bentuk garam sulfatnya terjadi jika kadar dalam darah melewati ambang rangsang (Clarkson dan Thompson, 2018). Vitamin C banyak terdapat di sayuran serta buah-buahan terutama jenis sitrus. Dalam produk hewani, vitamin C dapat diperoleh pada ginjal dan hati. Dalam tubuh

terdapat di banyak jaringan, termasuk darah dan leukosit (Adikwu dan Deo, 2013).

II.3.3.1 Vitamin C Sebagai Antioksidan



Gambar II.3 Rumus Bangun Vitamin C (Asam askorbat) (Sweetman et al., 2009)

Vitamin C berbentuk kristal dan bubuk putih kekuningan dan stabil pada keadaan kering (Alison, 2014). Vitamin C merupakan kelompok analog asam askorbat baik berupa molekul sintetis ataupun alami. Asam askorbat adalah ketolakton yang larut dalam air dengan dua gugus hidroksil yang dapat terionisasi. Askorbat adalah agen pereduksi yang kuat yang mampu mendonorkan dua elektronnya untuk membentuk radikal askorbat dan asam dehidroaskorbat. Radikal askorbat relatif stabil karena elektron yang tidak berpasangan terdelokalisasi oleh resonansi. Konsentrasi askorbat pada plasma ketika keadaan sehat sekitar 10 $\mu\text{g/ml}$. Pada konsentrasi tersebut, askorbat sebagai ko-antioksidan untuk melindungi LDL dari radikal peroksil (Shalaby, 2019).

II.3.3.2 Farmakodinamik Vitamin C

Vitamin C digunakan dalam pengobatan dan pencegahan kekurangan asupan vitamin C dari asupan makanan. Dengan dosis harian 2,5-75 mg/hari mampu mencegah terjadinya defisiensi vitamin C dan dengan dosis 250 mg/hari atau lebih digunakan sebagai dosis pengobatan seperti pada pasien kronis kelebihan zat besi ataupun gangguan lainnya. Vitamin C juga dapat diberikan dalam pengelolaan beberapa kelainan metabolik turunan seperti trisintemia tipe III, *glutathione defisiensi sintase* dan Hawkinsinuria (Alison, 2014). Vitamin C memiliki aktivitas dalam memodulasi sistem kekebalan tubuh. Hal ini berhubungan dengan sifat antioksidannya yang efektif, yaitu mampu dengan mudah menyumbangkan elektron sehingga dapat melindungi biomolekul penting (protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat) dari kerusakan oleh oksidan yang dihasilkan selama metabolisme sel normal ataupun oksidan yang berasal dari paparan racun, polutan (misalnya asap rokok) serta bahan-bahan kimia yang memicu efek toksik. Selain sifat antioksidannya, konsumsi vitamin C dosis tinggi dapat memodulasi sistem kekebalan tubuh karena adanya akumulasi asam askorbat akan memodulasi pembentukan neutrofil dan limfosit (Carr and Maggini, 2017). Konsumsi dosis tinggi vitamin C 2-6 g/hari dilaporkan dapat menyebabkan gangguan gastrointestinal atau diare. Efek samping umumnya tidak serius dikarenakan sifat dari vitamin C yang dapat dengan mudah diekskresikan (Chambial *et al.*, 2013). Sudatri dkk. (2016) melaporkan bahwa injeksi vitamin C dosis tinggi (4000 mg/2 hari) selama 90 hari memicu efek samping yang lebih besar dibandingkan dengan

pemberian melalui oral yaitu berupa kerusakan sel hati ringan (Sudatri dkk. 2016).

Mingtong *et al.*, (2019) melaporkan pemberian vitamin C bersama dengan agen terapi kanker dapat meningkatkan aksi antikanker dari beberapa agen kemoterapi (Mingtong *et al.*, 2019). *National Cancer Institute* (NCI) melaporkan uji klinis aktivitas antioksidan vitamin C yang diberikan bersama agen kemoterapi pada pasien kanker, limfoma non hodgin dan tumor ginekologi menunjukkan respon yang baik dengan melihat kualitas hidup pasien dan hasil pengujian laboratorium (Ohno, 2009)

II.3.3.2 Farmakokinetik Vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) mudah diserap dari saluran pencernaan dan didistribusikan secara luas di jaringan tubuh. Konsentrasi plasma vitamin C meningkat seiring dengan dosis yang diberikan. Konsentrasi vitamin C diketahui lebih tinggi di leukosit dan trombosit dibandingkan pada eritrosit dan plasma. Vitamin C dioksidasi secara reversibel menjadi asam dehidroaskorbat, beberapa dimetabolisme menjadi askorbat-2-sulfat yang tidak aktif dan asam oksalat yang diekskresikan dalam urin. Kadar vitamin C yang berlebih dari kebutuhan tubuh juga dapat dengan cepat di eliminasi melalui urin (Alison, 2014). Konsumsi vitamin C dibawah 65 mg/hari dapat terabsorpsi mencapai 98% (Adikwu dan Deo, 2013). Konsumsi vitamin C dosis tinggi lebih dari 200 mg/hari akan diabsorpsi dan disimpan dalam tubuh pada leukosit dan trombosit. Waktu paruh asam askorbat dengan

tingkat asupan tinggi yaitu 30 menit, dan untuk dosis ≤ 100 mg/hari asam askorbat dapat bertahan hingga 8-40 hari (Jorge *et al.*, 2008). Konsentrasi maksimum (T_{max}) asam askorbat dalam plasma yaitu ± 4 jam untuk tablet pelepasan biasa dan ± 5 jam untuk tablet *slow release* (Viscovich *et al.*, 2004). Asam askorbat dapat melintasi plasenta dan didistribusikan ke dalam Air Susu Ibu (ASI) (Alison, 2014).