

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C
TERHADAP TOKSISITAS SIKLOFOSFAMID
BERDASARKAN PARAMETER KADAR
MALONDIALDEHID DAN ANALISIS
HISTOPATOLOGI HATI**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF VITAMIN C ON
CYCLOPHOSPHAMIDE TOXICITY BASED ON
MALONDIALDEHYD LEVELS AND
HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF LIVER**

Disusun dan diajukan oleh

A. NUR AQILAH HAKZAH

N011 18 1018



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

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C TERHADAP TOKSISITAS
SIKLOFOSFAMID BERDASARKAN PARAMETER KADAR
MALONDIALDEHID DAN ANALISIS HISTOPATOLOGI HATI**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF VITAMIN C ON
CYCLOPHOSPHAMIDE TOXICITY BASED ON MALONDIALDEHYD
LEVELS AND HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF LIVER**

SKRIPSI

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

A. NUR AQILAH HAKZAH

N011 18 1018

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

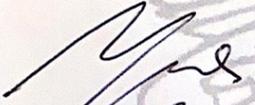
UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C TERHADAP TOKSISITAS
SIKLOFOSFAMID BERDASARKAN PARAMETER KADAR
MALONDIALDEHID DAN ANALISIS HISTOPATOLOGI HATI

A. NUR AQILAH HAKZAH
N011 18 1018

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



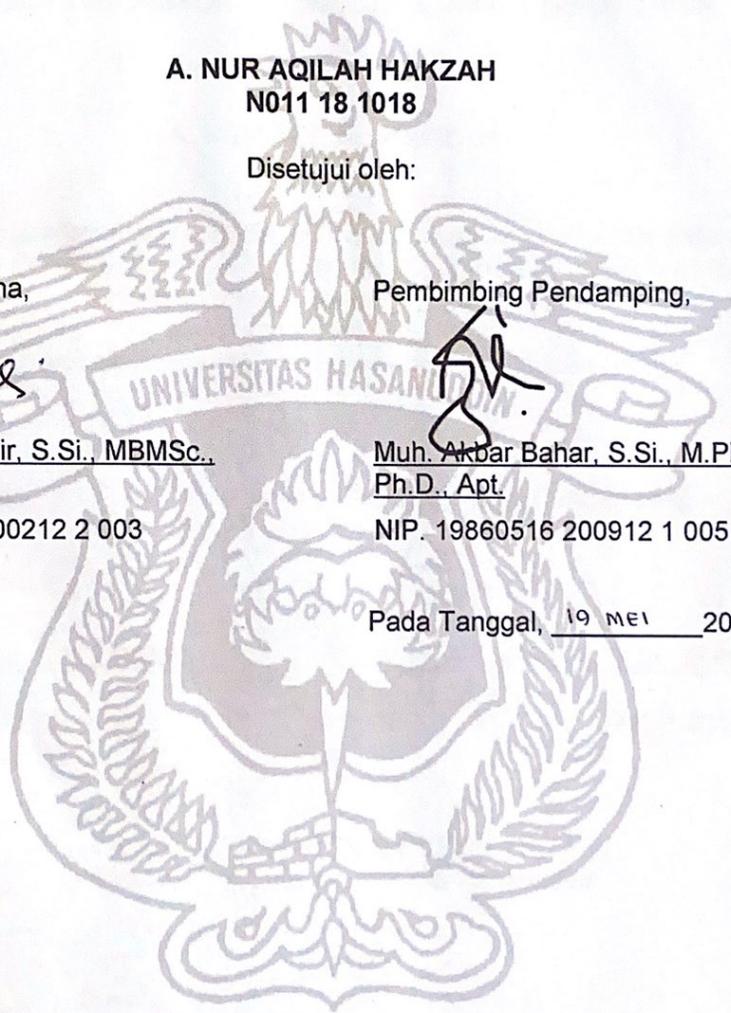
Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBMSc.,
M.Si., Ph.D., Apt.

Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc.,
Ph.D., Apt.

NIP. 19780728 200212 2 003

NIP. 19860516 200912 1 005

Pada Tanggal, 19 Mei 2022



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF VITAMIN C TERHADAP TOKSISITAS
SIKLOFOSFAMID BERDASARKAN PARAMETER KADAR
MALONDIALDEHID DAN ANALISIS HISTOPATOLOGI HATI**

**HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF VITAMIN C ON
CYCLOPHOSPHAMIDE TOXICITY BASED ON MALONDIALDEHYD
LEVELS AND HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF LIVER**

Disusun dan diajukan oleh:

**A. NUR AQILAH HAKZAH
N011 18 1018**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 19 MEI 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Yulia Yusrini Djabir, S.Si., MBMSc.,
M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19780728 200212 2 003

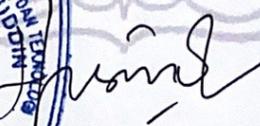
Pembimbing Pendamping,



Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc.,
Ph.D., Apt.
NIP. 19860516 200912 1 005



Rh Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860416 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

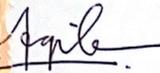
Yang bertanda tangan dibawah ini ;

Nama : A. Nur Aqilah Hakzah
Nim : N011 18 1018
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul "Uji Efek Hepatoprotektif Vitamin C Terhadap Toksisitas Siklofosamid Berdasarkan Parameter Kadar Malondialdehid dan Analisis Histopatologi Hati" 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, 19 MEI 2022
Yang menyatakan,


A. Nur Aqilah Hakzah

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, S.Si., MBMSc., M.Si., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., 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 Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya

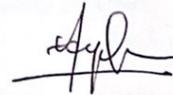
dan memberikan masukan dan saran terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini.

3. Ibu Dr. Aliyah, M.S., 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. Orang tua penulis yaitu Bapak Dr. H. Hakzah, S.T., M.T dan Ibu Hj. A. Irmayani Pawelloi, S.T., M.T, adik penulis A. Muhammad Farhan Hakzah dan A. Azizah Khairinniswah Hakzah, tante serumah selama di Makassar yaitu Ettatina serta keluarga penulis yang tanpa henti memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, dan doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis.
6. Utti, Ila, Nunu, Ani, Hilda, Usri, Ikhsan, Fiko, Asti dan Awal yang selalu mendukung dan senantiasa membantu selama masa perkuliahan.
7. Sahabat-sahabat penulis sejak masa putih biru sampai sekarang, Devi, Upe, Ismu, Mem, dan Innah untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

8. Rekan-rekan Korps Asisten Biofarmasi dan Toksikologi, Dosen dan Laboran yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.
9. Teman-teman angkatan "GEMF18ROZIL" atas kebersamaan yang diberikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan selama penyelesaian skripsi.
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, 19 MEI 2022



A. Nur Aqilah Hakzah

ABSTRAK

A. NUR AQILAH HAKZAH. Uji Efek Hepatoprotektif Vitamin C Terhadap Toksisitas Siklofosfamid Berdasarkan Parameter Kadar Malondialdehid dan Analisis Histopatologi hati

Vitamin C telah diketahui memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang kuat dalam plasma sehingga dihipotesiskan dapat melindungi sel terhadap hepatotoksisitas akibat siklofosfamid (SFD). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek hepatoprotektif vitamin C dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB berdasarkan parameter malondialdehid dan analisis histopatologi hati. Hewan uji terdiri dari 25 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) yang dibagi kedalam 5 kelompok perlakuan uji, kelompok 1 (kelompok sehat), kelompok 2 (*water for injection* + SFD), kelompok 3 (vitamin C 125 mg/kgBB + SFD), kelompok 4 (vitamin C 250 mg/kgBB + SFD) dan kelompok 5 (vitamin C 500 mg/kgBB + SFD). Hasil dari uji kadar MDA dan analisis histopatologi menunjukkan bahwa SFD memiliki efek hepatotoksik yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA tiga kali lipat (0,29 µg/mL dari 0,08 µg/mL) dengan skor kerusakan histopatologi dari ringan hingga parah (skor 1-3). Pada kelompok 3, 4 dan 5 ditemukan tidak terjadi peningkatan MDA dengan nilai rata-rata 0,18 µg/mL, 0,14 µg/mL, dan 0,16 µg/mL serta skor kerusakan rata-rata <1 (skor ringan). Namun dari ketiga dosis yang digunakan, hanya kelompok 5 yang memberikan perbedaan signifikan dari kelompok 2 baik dari kadar MDA maupun skor histopatologinya ($p < 0.05$). Disimpulkan bahwa walaupun vitamin C dosis 250 mg/kgBB mampu mencegah peningkatan kadar MDA, namun dibutuhkan dosis yang lebih tinggi (500 mg/kg) untuk memberikan perlindungan yang optimal terhadap hepatotoksisitas siklofosfamid.

Kata Kunci : Hepatoprotektif, histopatologi, malondialdehid, siklofosfamid, vitamin C

ABSTRACT

A. NUR AQILAH HAKZAH. Hepatoprotective Effects of Vitamin C on Cyclophosphamide Toxicity Based on Malondialdehyd Levels and Histopathological Analysis of Liver

Vitamin C has been known to have a strong free radical scavenging activity in plasma; thus, it is hypothesized that it may protect cells against hepatotoxicity due to cyclophosphamide (SFD). This study aimed to evaluate the hepatoprotective effects of vitamin C with doses of 125 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, and 500 mg/kgBW based on malondialdehyde and liver histopathological parameters. Twenty-five rats (*Rattus norvegicus*) were divided into five groups i.e. group 1 (healthy group), group 2 (water for injection + SFD), group 3 (vitamin C 125 mg/kgBB + SFD), group 4 (vitamin C 250 mg/kgBW + SFD) and group 5 (vitamin C 500 mg/kgBW + SFD). The results of the MDA level test and histopathological analysis showed that SFD had a hepatotoxic effect which was characterized by a threefold increase in MDA levels (0.29 g/mL from 0.08 g/mL) with histopathological damage scores ranging from mild to severe (score 1-3). In group 3, group 4 and group 5, there were no increase in MDA with the average means of 0.18 µg/mL, 0.14 µg/mL, dan 0.16 µg/mL and an average damage score of <1 (mild), but only group 5 showed significant difference from group 2 in terms of both MDA levels and histopathological scores ($p < 0.05$). It was concluded that although a dose of 250 mg/kgBW of vitamin C was able to prevent an increase in MDA levels, a higher dose (500 mg/kg) was needed to provide an optimal protection against cyclophosphamide hepatotoxicity.

Keywords: Hepatoprotective, histopathological, malondialdehyde, cyclophosphamide, vitamin C

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	V
ABSTRAK	VIII
ABSTRACT	IX
DAFTAR ISI	X
DAFTAR TABEL	XIII
DAFTAR GAMBAR	XIV
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	XVI
BAB I PENDAHULUAN	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II. 1 Siklofosfamid	5
II.1.1 Mekanisme Aksi Siklofosfamid	6
II.1.2 Dosis Siklofosfamid	8
II.1.3 Farmakokinetik Siklofosfamid	9
II.1.4 Toksisitas Siklofosfamid	9
II. 2 Vitamin C	11
II.2.1 Mekanisme Vitamin C terhadap Radikal Bebas	11
II.2.2 Farmakokinetik Vitamin C	12
II.2.3 Farmakodinamik Vitamin C	13

II.2.4 Penggunaan Vitamin C sebagai Hepatoprotektor Pada Agen Kemoterapi Lainnya	14
II. 3 Hati	16
II.3.1 Anatomi Hati	16
II.3.2 Fisiologi Hati	17
II.3.3 Histologi Hati	19
II.4 Malondialdehid	23
II.5 Tikus	25
BAB III METODE PENELITIAN	27
III.1 Alat dan bahan	27
III.2 Metode kerja	27
III.2.1 Penyiapan Hewan Uji	27
III.2.2 Penyiapan Larutan Vitamin C	Error! Bookmark not defined.
III.2.3 Perhitungan Dosis Siklofosamid	Error! Bookmark not defined.
III.2.4 Penyiapan Larutan Siklofosamid	Error! Bookmark not defined.
III.2.5 Uji Pendahuluan	Error! Bookmark not defined.
III.2.6 Prosedur Percobaan	Error! Bookmark not defined.
III.2.6 Analisis Kadar MDA	Error! Bookmark not defined.
III.2.7 Pembuatan Preparat Histologi Hati Tikus	Error! Bookmark not defined.
III.2.8 Analisis Histopatologi Hati Tikus	Error! Bookmark not defined.
III.2.9 Pengumpulan Data dan Analisis Data	Error! Bookmark not defined.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
IV.1 Analisis Kadar MDA	29
IV.2 Histopatologi Hati	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
V.1 Kesimpulan	31
V.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tahapan kerja STP 120	35
2. Kategori skor tingkat kerusakan perubahan histopatologi	38
3. Data perubahan kadar MDA Hati Tikus	40
4. Hasil Pengamatan Histopatologi Hati Tikus	48
5. Data Perubahan Skor Kerusakan Histopatologi Hati Tikus	49
6. Hasil Pengukuran kadar MDA Hati Tikus	68

DAFTAR GAMBAR

Tabel	Halaman
1. Struktur kimia siklofosfamid (Ahlmann and Hempel, 2016)	5
2. Jalur metabolisme siklofosfamid (Ahlmann and Hempel, 2016)	7
3. Mekanisme aktivitas penangkapan radikal asam askorbat (Claudia et al., 2013)	14
4. Lobulus Hati (Maulina, 2018)	22
5. Ilustrasi histologi hati manusia (Ozougwu, 2017)	22
6. Struktur Malondialdehid (Situmorang and Zulham, 2020)	26
7. Grafik rata-rata kadar MDA pada kelompok kontrol sehat dan kelompok uji	40
8. Gambaran histopatologi kelompok kontrol sehat	43
9. Gambaran histopatologi kelompok siklofosfamid	44
10. Gambaran histopatologi kelompok 3 (Vitamin C 150 mg + Siklofosfamid)	45
11. Gambaran histopatologi kelompok 4 (Vitamin C 250 mg + Siklofosfamid)	46
12. Gambaran histopatologi kelompok 5 (Vitamin C 500 mg + Siklofosfamid)	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	59
2. Perhitungan Dosis	63
3. Perhitungan Kadar MDA	65
4. Hasil Pengukuran kadar MDA Hati Tiap Sampel	69
5. Data Statistik MDA	70
6. Data Statistik Histopatologi	72
7. Dokumentasi Penelitian	75
8. Persetujuan Kode Etik	77

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

MDA	= Malondialdehid
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
CYP	= Cytochrome
SFD	= Siklofosfamid
µm	= Micrometer
NaCl	= Natrium Klorida
PBS	= <i>Phosphate Buffer Saline</i>
BNF	= <i>Buffered Neutral Formalin</i>
TBA	= <i>Thiobarbituric Acid</i>
TCA	= <i>Tri Chloro Acetate</i>
g	= Gram
ml	= Milliliter
UV	= Ultra Violet
Vis	= Visibel
H	= Hipotesis
LAFW	= <i>Laminar Air Flow Workbench</i>
BSC	= <i>Biological Safety Cabinet</i>
SD	= Standar Deviasi

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Siklofosfamid merupakan agen sitotoksik pengalkil yang sering digunakan sebagai antineoplastik pada gangguan limfoproliferatif (limfoma dan leukemia) serta pada beberapa tumor padat (karsinoma mammae, karsinoma tiroid, hemangiosarkoma). Siklofosfamid juga dapat digunakan sebagai immunosupresan dalam pengobatan berbagai kondisi autoimun (Rahayuningtyas and Setiadhi, 2019). Siklofosfamid bekerja dengan mengaitkan silang rantai DNA sehingga mencegah replikasi DNA dan pembelahan sel. Siklofosfamid adalah prodrug yang diaktifkan di hati oleh enzim oksidase menjadi 4-hidroksisiklofosfamid dan aldofosfamid (Withrow and Vail, 2007).

Siklofosfamid dapat menyebabkan berbagai toksisitas karena efek sitotoksik dan immunosupresifnya yang kuat (Ming et al., 2019). Hepatotoksitas menjadi salah satu efek samping siklofosfamid pada dosis 500-1000 mg/m² setiap bulan. Beberapa kasus hepatoksitas siklofosfamid telah dilaporkan salah satunya yaitu pada pasien kemoterapi kanker payudara yang pengobatannya diberikan siklofosfamid (600 mg/m²) (Ming et al., 2019). Bahkan, tidak hanya pada dosis tinggi, siklofosfamid pada dosis rendah (200 mg) juga telah dilaporkan menyebabkan efek samping berupa cedera hati yang terjadi dalam waktu 24 jam setelah pemberian siklofosfamid (Subramaniam et al., 2013).

Keterbatasan penggunaan siklofosamid diakibatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan stress oksidatif dan toksisitas terutama pada jaringan hati. Stres oksidatif dapat dipantau dengan melihat perubahan kadar Malondialdehid (MDA) (Budi et al., 2019). Selain MDA, kerusakan hati tikus juga dapat diamati dengan histopatologi. Histopatologi memiliki peran yang sangat penting di dalam mendiagnosis atau mengetahui mekanisme kerusakan organ melalui pengamatan jaringan yang diduga terganggu fungsinya (Jabbar et al., 2019). Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa kadar MDA pada tikus mengalami peningkatan setelah diinduksi siklofosamid. Selain itu, kerusakan hepatoseluler dengan steatosis (perubahan lemak), infiltrasi sel inflamasi, degenerasi hepatosit, kongesti, dan nekrosis merupakan temuan khas pada perubahan histopatologi setelah pemberian siklofosamid (Sherif, 2018).

Vitamin C (asam askorbat) adalah vitamin yang larut dalam air dan merupakan antioksidan dimana memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang kuat dalam plasma, melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS (Farshid et al., 2013). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa vitamin C mampu memberikan efek protektif terhadap hati. Pemberian vitamin C ditemukan mampu menurunkan jumlah kerusakan pada hati mencit yang diinduksi *Monosodium Glutammate* (MSG) (Arania dan Sariningsih, 2014). Vitamin C juga dapat memperbaiki efek toksik metotreksat pada jaringan hati tikus dengan mengurangi tingkat

MDA dan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, seperti SOD dan GSH-Px (Savran et al., 2017).

Namun belum ada penelitian yang menunjukkan bahwa vitamin C dapat memproteksi kerusakan hati akibat agen kemoterapi siklofosfamid. Berbeda dengan metotreksat yang merupakan antagonist folat, toksisitas siklofosfamid bekerja dengan membentuk metabolit toksik *phosphoramid mustard* dan *acrolein* yang membentuk *cross-linking* pada DNA sel hingga terjadi kerusakan (Kim and Chan, 2016). Dikarenakan mekanisme terjadinya hepatotoksisitas bisa berbeda-beda tergantung pada kerja obat, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengkonfirmasi apakah vitamin C juga mampu memproteksi hati dari kerusakan struktur hepatosit akibat meningkatnya peroksidasi lipid yang diinduksi oleh siklofosfamid.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian vitamin C dapat mencegah peningkatan peroksidasi lipid yang dapat diamati melalui kadar malondialdehida (MDA) dan mengurangi kerusakan struktur histopatologi hati tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi siklofosfamid?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk mengevaluasi efektivitas penggunaan vitamin C dalam mencegah peningkatan kadar MDA dan kerusakan struktur histopatologi hati tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi siklofosfamid.

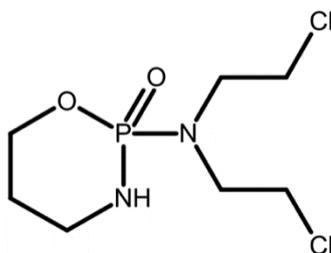
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Siklofosfamid

Siklofosfamid adalah agen alkilasi yang menjadi salah satu obat antikanker tertua yang ditemukan pada awal tahun 1958 dan diperkenalkan ke dalam terapi kanker pada tahun 1959. Obat ini menjadi andalan dalam terapi keganasan hematologis termasuk limfoma dan leukemia serta berbagai tumor epitel termasuk payudara, ovarium dan karsinoma paru-paru. Di Jerman, obat ini disetujui untuk terapi limfoma non-Hodgkin, plasmositoma, kanker payudara, karsinoma ovarium, kanker paru-paru sel kecil, *rhabdomyosarcoma* dan neuroblastoma (Ahlmann and Hempel, 2016).

Obat ini digunakan dalam pengkondisian sebelum transplantasi sumsum tulang untuk keganasan hematologis serta untuk anemia aplastik. Selain kemoterapi kanker, indikasi lain yang telah disetujui yaitu penyakit autoimun dan penyakit yang diperantarai kekebalan seperti lupus nephritis, granulomatosis Wegener dan *multiple sclerosis* (Ahlmann and Hempel, 2016).



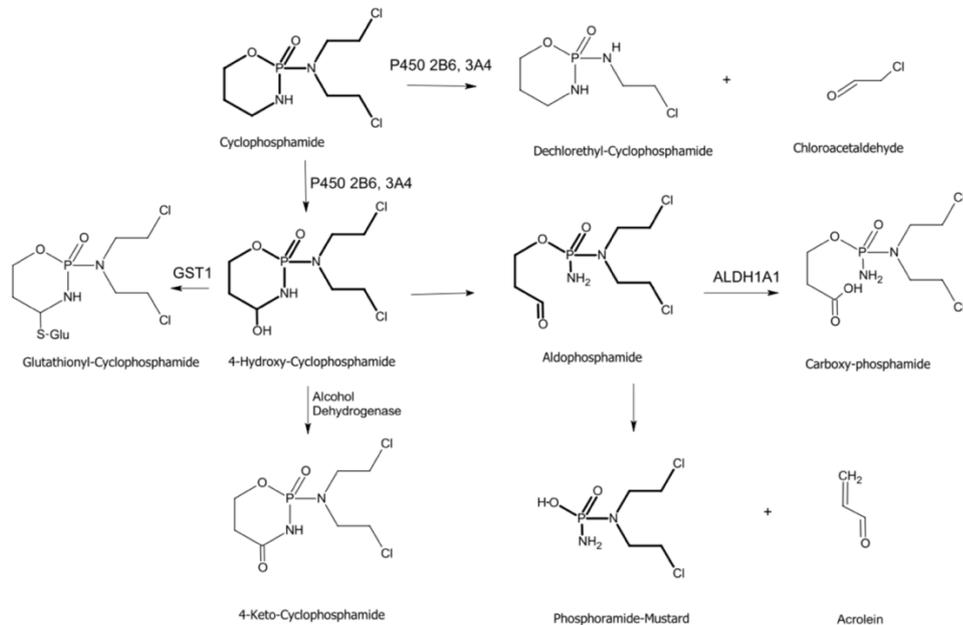
Gambar 1. Struktur kimia siklofosfamid (Ahlmann and Hempel, 2016)

II.1.1 Mekanisme Aksi Siklofosfamid

II.1.1.1 Mekanisme Kerja Siklofosfamid

Siklofosfamid adalah agen alkilasi dengan subklasifikasi sebagai oksazafosforin yang memberikan efeknya melalui alkilasi DNA (Fleming, 1997). Obat ini bermetabolisme menjadi bentuk aktif yang mampu menghambat sintesis protein melalui ikatan silang DNA dan RNA. Siklofosfamid dimetabolisme secara oksidatif oleh sitokrom P450 hati menjadi 2 metabolit kuat, fosforamida mustard dan akrolein, dan mencegah pembelahan sel kanker dengan mengikat untai DNA sehingga menghentikan pertumbuhan sel kanker (Al-Homsi et al., 2015).

Mustard fosforamid dan akrolein keduanya merupakan zat sitotoksik. Akrolein merupakan aldehid yang sangat reaktif dan sitotoksik yang bekerja dengan cara menurunkan kadar glutathion seluler melalui konjugasi. Berkurangnya kadar glutathion seluler dapat memicu timbulnya stres oksidatif. Sedangkan mustard fosforamid bertanggung jawab memberikan efek alkilasi DNA dengan membentuk kation aziridium siklik (*ethyleneiminium*) melalui siklisasi intramolekuler yakni eliminasi klorida. Kation ini sangat tidak stabil dan mudah diserang oleh beberapa nukleofil, seperti residu guanin DNA untuk membentuk ikatan kovalen kedua dengan nukleofil lain sehingga mengganggu replikasi DNA dengan membentuk intrastrand dan interstrand DNA *crosslinks* (Widodo et al., 2020).



Gambar 2. Jalur metabolisme siklofosfamid. Struktur yang dicetak tebal menunjukkan jalur menuju metabolit aktif. ALDH: aldehyd dehidrogenase, GST: glutathione-S-transferase, P450: sitokrom P450 (Ahlmann and Hempel, 2016)

II.1.1.2 Mekanisme Hepatotoksisitas Siklofosfamid dan Agen

Kemoterapi

Mekanisme terjadinya hepatotoksisitas yang diakibatkan oleh agen kemoterapi berbeda-beda tergantung pada kerja obat. Untuk siklofosfamid, ditemukan toksisitasnya pada hati berkaitan dengan sindrom obstruksi sinusoidal yang diinduksi. Hal ini mungkin terkait dengan efek toksik langsung siklofosfamid pada sel-sel sinusoidal di hati, menyebabkan nekrosis dan pelepasannya ke dalam sinusoid, obstruksi dan obliterasi vena hepatic (LiverTox, 2017).

Contoh agen kemoterapi lainnya, metotreksat, yang merupakan analog asam folat sintetik mampu menyebabkan hepatotoksisitas dari proses penghambatan dihidrofolat reduktase (DHFR) dan membentuk poligutamat. Toksisitas hati terjadi akibat akumulasi intraseluler metotreksat

poliglutamasi. Selain itu disebutkan juga bahwa peningkatan aminotransferase yang mengarahkan pada kerusakan hepatoselular atau inflamasi (Marissa et al., 2019). Mekanisme kerusakan hati dengan metotreksat diyakini sebagai toksisitas langsung, melalui penghambatan sintesis RNA dan DNA di hati. Terapi metotreksat telah terbukti meningkatkan jumlah sel stellata hati, tetapi mekanisme yang menyebabkan fibrosis belum dijelaskan dengan jelas (LiverTox, 2020).

Salah satu obat antikanker lainnya yaitu doksorubisin bekerja dengan cara mengikat DNA sel kanker dan menghambat enzim yang penting seperti topoisomerase II. Hal tersebut menyebabkan DNA mengecil dan sel kanker tidak dapat berkembang. Adapun toksisitas pada penggunaan doksorubisin jangka panjang diakibatkan oleh konversi metabolik doksorubisin menjadi doksorubisinol. Mekanisme utama toksisitas doksorubisinol terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan ROS yang merusak makromolekuler sel (Sebayang, 2019).

II.1.2 Dosis Siklofosfamid

Dosis dan profil toksisitas dari siklofosfamid sangat bervariasi tergantung pada indikasi klinis. Berdasarkan penelitian Emadi *et al* (2009) bahwa siklofosfamid dosis rendah: 1-3 mg/kg (40-120 mg/m²) biasanya diberikan secara oral setiap hari, dosis menengah atau nadi: 15–40 mg/kg (600-1.500 mg/m²) biasanya diberikan secara intravena setiap 3-4 minggu, dan dosis tinggi: >120 mg/kg (>5,000 mg/m²) paling sering diberikan selama 2–4 hari. Dosis rendah hingga menengah cenderung memiliki efek toksik

akut yang lebih sedikit. Namun, penggunaan jangka panjang (>6 bulan) dapat menyebabkan toksisitas kronis yang substansial. Sebaliknya, siklofosfamid dosis tinggi dikaitkan dengan efek toksik yang lebih akut, tetapi tampaknya mengurangi risiko efek toksik kronis (Emadi et al., 2009).

II.1.3 Farmakokinetik Siklofosfamid

Siklofosfamid dapat digunakan baik secara oral maupun intravena. Absorpsi obat siklofosfamid dimulai dengan molekul obat yang tidak aktif diserap dengan baik dari saluran pencernaan dan diubah menjadi obat aktif oleh hati. Siklofosfamid didistribusikan secara luas. Penetrasi terbatas pada sawar darah otak. Metabolisme dan ekskresi siklofosfamid dikonversi menjadi obat aktif oleh hati dan sebanyak 30% dieliminasi tidak berubah oleh ginjal dengan waktu paruh yaitu 4 – 6,5 jam (Vallerand and Cynthia A. Sanoski, 2019).

II.1.4 Toksisitas Siklofosfamid

Toksisitas akut siklofosfamid terkait dengan sitotoksitasnya. Seperti agen alkilasi lainnya, siklofosfamid paling toksik pada jaringan yang berkembang biak dengan cepat seperti sistem hematopoietik, sel epitel saluran pencernaan, folikel rambut, dan gonad. Oleh karena itu, toksisitas umum dalam pengobatan siklofosfamid adalah mual, muntah, *alopecia*, immunosupresi, kerusakan gonad, dan sistitis hemoragik (cedera kandung kemih) (Jonge et al., 2005). Siklofosfamid dosis tinggi (>1,5 g/m²/hari) meningkatkan risiko kardiotoxikitas yang dapat berkisar dari kasus ringan hingga nekrosis miokard hemoragik. Efek toksik jangka panjang termasuk

hipogonadisme dan keganasan kandung kemih (Chou et al., 2021). Selain itu, efek samping lainnya yang telah ditemui di beberapa kasus yakni hepatoksisitas pada pemberian siklofosfamid dosis tinggi (600 mg/m²) (Ming et al., 2019) dan pada dosis rendah (200 mg) yang terjadi dalam waktu 24 jam setelah pemberian siklofosfamid (Subramaniam et al., 2013). Leukopenia, trombositopenia dan anemia juga dilaporkan sering terjadi setelah pemberian siklofosfamid dosis tinggi (Emadi et al., 2009).

II. 2 Vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) merupakan senyawa yang bersifat antioksidan kuat dan pengikat radikal bebas dalam plasma (Arifuddin et al., 2016). Vitamin C dapat dihasilkan pada hampir semua tumbuhan dan hewan. Pada manusia vitamin C tidak dapat dihasilkan karena karena tidak terdapat enzim *Lgulono- λ -laktonoksidase* sehingga asam askorbat didapatkan melalui nutrisi untuk memenuhi kebutuhan (Andarina and Djauhari, 2017). Masyarakat Indonesia sering mengonsumsi vitamin C sebagai salah satu upaya untuk meningkatkan sistem imun. Vitamin C merupakan vitamin yang relatif tidak toksik artinya jarang menimbulkan efek samping yang berlebih jika dikonsumsi dan secara ekskresi merupakan zat yang mudah diurai (Alquraisi et al., 2021). Vitamin C melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS, memiliki sifat anti-aterosklerosis, anti-rematik, anti-kanker, dan anti-katarak (Farshid et al., 2013)

II.2.1 Mekanisme Vitamin C terhadap Radikal Bebas

Radikal bebas atau ROS merupakan molekul yang terbentuk ketika molekul oksigen bergabung dengan molekul lain menghasilkan elektron ganjil sehingga bersifat reaktif dan tidak stabil. Apabila radikal bebas tidak berikatan dengan antioksidan maka reaksi oksidasi akan terus berlanjut yang menyebabkan kerusakan sel (Andarina and Djauhari, 2017). Ketidakseimbangan faktor prooksidan (ROS) dan antioksidan menyebabkan stres oksidatif (Wibawa et al., 2020), menyebabkan

kerusakan seluler pada lipid, karbohidrat protein, dan struktur DNA irreversibel (Andarina and Djauhari, 2017).

Pada lipid terjadi proses peroksidasi oleh enzim lipid peroksidase dengan mengambil atom hidrogen yang berasal dari poly *unsaturated fatty acid* (PUFA), sehingga membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh menjadi rentan terhadap oksidasi. Proses peroksidasi pada lipid menyebabkan pembentukan radikal peroksil. Radikal peroksil ini apabila tidak distabilkan akan menyerang molekul lipid lain sehingga mempengaruhi integritas dan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kerusakan membran sel (Andarina and Djauhari, 2017). Adapun bentuk ROS antara lain *singlet oxygen* (1O_2), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^\cdot), radikal alkoksil (RO), radikal peroksil (ROO), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan Hidroperoksida lipid (LOOH) (Nimse and Pal, 2015).

II.2.2 Farmakokinetik Vitamin C

Vitamin C diabsorpsi dengan mudah di saluran pencernaan dan didistribusikan secara luas di dalam tubuh dengan konsentrasi besar ditemukan di hati, leukosit, trombosit, jaringan kelenjar. Vitamin C dimetabolisme di hati. Dioksidasi secara reversibel menjadi asam dehidroaskorbat. Beberapa dimetabolisme menjadi senyawa tidak aktif yang diekskresikan dalam urin (Lykkesfeldt and Tveden-Nyborg, 2019). Ketika tubuh jenuh dan kadar darah melebihi ambang batas, asam askorbat yang tidak berubah diekskresikan dalam urin. Konsumsi vitamin C dosis

rendah (dibawah 65 mg/hari) dapat terabsorpsi mencapai 98% (Adikwu and Deo, 2013).

II.2.3 Farmakodinamik Vitamin C

Vitamin C berfungsi secara fisiologis sebagai antioksidan yang larut dalam air. Angka Kecukupan Gizi (AKG) untuk memenuhi asupan vitamin C orang dewasa yaitu 75 mg/hari untuk wanita dan 90 mg/hari untuk pria. Untuk perokok direkomendasikan mereka meningkat sebesar 35mg/hari dari AKG. Adapun tingkat tertinggi asupan nutrisi harian (*Tolerable Upper Intake Level*) yang merupakan tingkat asupan yang mungkin tidak menimbulkan risiko efek kesehatan yang merugikan di hampir semua individu dewasa (usia 19 tahun ke atas) yaitu pada vitamin C dosis 2.000 mg (11.360 μ mol)/hari. Konsumsi vitamin C dosis tinggi lebih dari 200 mg/hari akan diabsorpsi dan disimpan dalam tubuh pada leukosit dan trombosit (The National Academies, 2000).

Tidak ada bukti yang menunjukkan bahwa vitamin C bersifat karsinogenik, teratogenik ataupun menyebabkan efek reproduksi yang merugikan. Ulasan tentang asupan vitamin C yang tinggi menunjukkan toksisitas yang rendah. Gangguan gastrointestinal seperti mual, kram perut, dan diare adalah efek samping yang paling umum dari asupan vitamin C yang tinggi. Efek samping yang paling banyak dilaporkan terutama setelah dosis yang sangat besar (lebih besar dari 3 g/hari), diantaranya diare dan gangguan gastrointestinal lainnya, peningkatan ekskresi oksalat dan pembentukan batu ginjal, peningkatan ekskresi asam urat, peningkatan

penyerapan zat besi menyebabkan kelebihan zat besi, penurunan vitamin B12 dan status tembaga, serta peningkatan kebutuhan oksigen. Para peneliti melaporkan gejala perut kembung dan diare pada konsumsi vitamin C dosis 3-4 g/hari. Dari 13 penelitian, 7 menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C menghasilkan penurunan yang signifikan dalam produk oksidasi lipid dalam plasma, LDL, atau urin. Suplemen vitamin C yang menghasilkan efek positif berkisar antara 500 hingga 2.000 mg/hari. Bukti yang paling meyakinkan bahwa vitamin C berfungsi sebagai antioksidan in vivo adalah perokok dengan pemberian 2,0 g vitamin C selama 5 hari dikaitkan dengan penurunan yang signifikan dalam isoprostan urin yang merupakan indikator stres oksidatif (The National Academies, 2000).

II.2.4 Penggunaan Vitamin C sebagai Hepatoprotektor Pada Agen Kemoterapi Lainnya

Selain siklofosfamid, beberapa penelitian berikut telah membuktikan potensi dari vitamin C yang bertindak terhadap efek hepatoprotektif akibat induksi agen antikanker lainnya.

1. 5-fluorouracil (5-FU)

Berdasarkan penelitian Al-Asmari et al (2016) bahwa Vitamin C mampu melindungi kerusakan hati akibat induksi obat antineoplastik, yaitu 5-fluorouracil (5-FU). 5-FU adalah analog pirimidin yang merupakan salah satu obat kemoterapi untuk pengobatan neoplasma. Vitamin C mengurangi pembentukan peroksidasi lipid dengan meningkatkan antioksidan endogen dimana Vitamin C secara signifikan dapat menghambat tingkat MDA

setelah induksi 5-FU. Selain itu, efek perlindungan Vitamin C dapat dilihat pada translokasi nuklear faktor transkripsi redoks sensitif (NF-B dan Nrf2) dan ekspresi Cox-2. Vitamin C menunjukkan perlindungan yang mungkin disebabkan oleh modifikasi oksidatif KEAP1 dengan demikian Nrf2 menginduksi peningkatan ekspresi elemen responsif antioksidan. Nrf2 adalah faktor transkripsi redoks yang memainkan peran penting dalam perlindungan seluler dengan mengatur pertahanan antioksidan seluler secara genetik. Selain itu, Vitamin C juga memiliki potensi perlindungan yang kuat terhadap kerusakan hati yang diinduksi 5-FU karena mengurangi translokasi nuklir NF- κ B melalui penghambatan faktor nuklir B kinase. NF- κ B adalah faktor transkripsi peka redoks penting lainnya yang terlibat dalam perkembangan anomali hati. Selanjutnya Vitamin C juga berperan dalam memodulasi ekspresi Cox-2. Cox-2 adalah salah satu protein respon stres penting yang memainkan peran penting dalam toksisitas dan perkembangan penyakit selama kemoterapi dimana peningkatannya mungkin salah satu faktor penyebab kerusakan hati. Dalam penelitian Al-Asmari et al (2016) ini telah mengamati bahwa potensi Vitamin C terhadap cedera hati yang diinduksi obat antineoplastik terdapat pada sifat pembersihan radikal bebas dan modulasi NF- κ B dan jalur pensinyalan lainnya yang mengarah pada penghambatan Cox-2.

2. Metotreksat

Berdasarkan penelitian Savran et al (2017) penggunaan vitamin C mampu memproteksi kerusakan hati akibat induksi obat metotreksat. Metotreksat adalah antagonis folat yang digunakan dalam pengobatan beberapa jenis kanker. Efek hepatoprotektif dari Vitamin C terhadap induksi metotreksat berkaitan dengan peningkatan kadar glutathion (GSH) dimana setelah pemberian vitamin C, kadar GSH dalam tubuh mengalami peningkatan. GSH mereduksi radikal bebas secara langsung atau sebagai kofaktor enzim antioksidan seperti glutathion peroksidase dan glutathion transhidrogenase. Fungsi utama GSH adalah mendetoksifikasi obat, xenobiotik atau pestisida yang dikatalisis oleh enzim GSH-S-transferase. GSH juga berperan mempertahankan gugus tiol (-SH) pada protein esensial, dengan mereduksi ikatan disulfida pada protein, yang dikatalisis oleh enzim tiol transferase (Safyudin and Subandrate, 2015).

II. 3 Hati

II.3.1 Anatomi Hati

Hati memiliki berat sekitar 1500 gram dan menyumbang sekitar 2,5% dari berat badan orang dewasa. Permukaan hati halus dan berbentuk kubah, yang berhubungan dengan kecekungan permukaan inferior diafragma. Hati terletak terutama di kuadran kanan atas perut tempat tersembunyi dan dilindungi oleh sangkar toraks dan diafragma. Hati yang normal terletak jauh ke tulang rusuk 7 – 11 di sisi kanan (Ozougwu, 2017). (Nusi et al., 2019)

II.3.2 Fisiologi Hati

Hati merupakan organ padat terbesar, kelenjar terbesar dan salah satu organ paling vital yang berfungsi sebagai pusat metabolisme zat gizi dan ekskresi sisa metabolit. Fungsi utamanya adalah untuk mengontrol aliran dan keamanan zat yang diserap dari sistem pencernaan sebelum didistribusikan ke sistem peredaran darah sistemik (Ozougwu, 2017). Hati bekerja dengan menerima darah beroksigen dari jantung melalui arteri hepatic, dan darah yang kaya nutrisi dari saluran pencernaan melalui vena portal (Gambar 3a). Darah mengalir melalui sinusoid hati (Gambar 3b, pembuluh terminal antara tali hepatosit dan dilapisi dengan sel Kupffer dan sel endotel), bermuara ke dalam vena sentral, dan keluar dari hati dari vena hepatic. Hepatosit membentuk 70-85% populasi sel hati (Wang et al., 2016). Hati memiliki berbagai fungsi yang dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yaitu sebagai berikut (Nusi et al., 2019):

1. Fungsi Sekresi

Salah satu contoh produk yang paling penting dari sekresi hati, contohnya adalah produksi empedu dan berbagai zat pembawanya yaitu asam empedu, kolesterol, lesitin, dan fosfolipid. Sebanyak satu liter empedu yang diekskresikan oleh hati ke dalam usus halus setiap harinya terdiri atas air (97%), elektrolit, dan garam empedu (Nusi et al., 2019).

2. Fungsi Sintesis

Hati memiliki fungsi utama dalam sintesis protein, karbohidrat, dan lemak. Sintesis berbagai protein serum yang esensial, seperti albumin yang

diperlukan antara lain untuk mempertahankan tekanan osmotik plasma, protein carrier, faktor koagulasi, berbagai hormon, dan faktor pertumbuhan (Nusi et al., 2019).

3. Fungsi Detoksifikasi

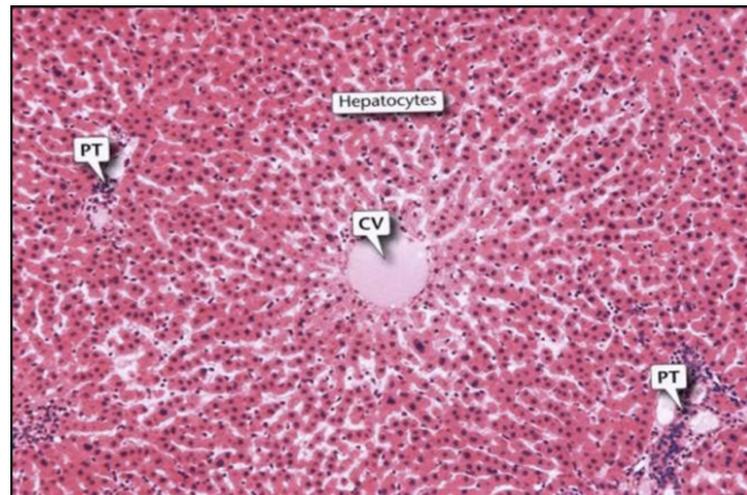
Berbagai macam fungsi detoksifikasi oleh hati dilakukan melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis, hidrosilasi, karboksilasi, dan demetilasi (Nusi et al., 2019).

II.3.3 Histologi Hati

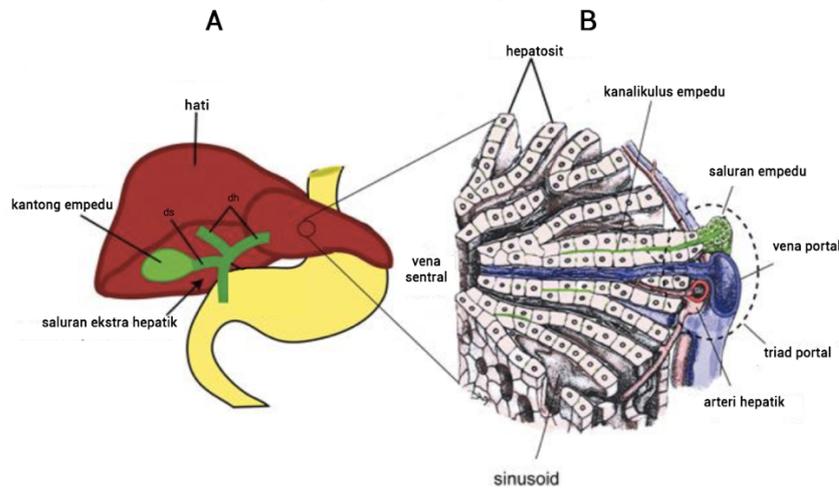
Histologi merupakan salah satu cabang ilmu biologi yang mempelajari tentang struktur penyusun organ tubuh suatu makhluk hidup, terutama pada mamalia. Struktur histologi ini dapat diamati secara mikroskopis (Sari and Anantyarta, 2018).

Unsur utama struktur hati adalah hepatosit. Hepatosit saling bertumpukan dan membentuk lapisan sel, mempunyai satu atau dua inti yang bulat dengan satu atau lebih nukleolus. Hepatosit berkelompok dalam susunan-susunan saling berhubungan sedemikian rupa sehingga membentuk suatu unit struktural, yang dinamakan lobulus hati (Maulina, 2018). Lobulus hati tunggal berukuran seperti biji wijen dan kira-kira berbentuk heksagonal (Ozougwu, 2017). Struktur lobulus dapat dikelompokkan dalam 3 golongan yang berbeda yaitu (Maulina, 2018):

1. Pertama yaitu lobulus klasik yang merupakan suatu bangun berbentuk heksagonal dengan vena sentralis sebagai pusat.
2. Kedua, saluran portal, merupakan bangunan berbentuk segitiga dengan vena sentralis sebagai sudut-sudutnya dan segitiga Kiernan atau saluran portal sebagai pusat.
3. Ketiga, asinus hepar yang merupakan unit terkecil hepar. Asinus hepar adalah bagian dari hepar yang terletak diantara vena sentralis. Asinus hepar memiliki cabang terminal arteri hepatica, vena porta dan sistem duktuli biliaris.



Gambar 3. Lobulus Hati. Keterangan : CV = vena sentralis, PT = saluran portal. Pewarnaan HE, Pembesaran 60x (Maulina, 2018)



Gambar 4. Ilustrasi histologi hati manusia. hati dewasa (merah) (A); Struktur lobulus hati (B); duktus hepaticus (dh); duktus sistikus (ds) (Ozougwu, 2017)

Gambar di atas menunjukkan hati dewasa (merah), dengan kantong empedu dan saluran ekstra hepatic (hijau), yang berdekatan dengan lambung dan usus (kuning). Saluran ekstra hepatic terdiri dari duktus hepaticus (dh), yang mengalirkan empedu dari hati ke kantong empedu melalui duktus sistikus (ds) lalu ke duodenum. (B) Gambar struktur lobulus hati yang terdiri hepatosit (merah muda) tersusun dalam lempeng hati yang dipisahkan oleh ruang sinusoid yang menyebar di sekitar vena sentral. Kanalikulus empedu pada permukaan hepatosit yang bersebelahan

mengalirkan empedu ke dalam saluran empedu (hijau), yang berjalan sejajar dengan vena portal (biru) dan arteri hepatic (merah) untuk membentuk saluran portal (Ozougwu, 2017).

Kerusakan hepar secara histologi ditandai dengan adanya perubahan seluler baik berupa perubahan reversibel dan ireversibel. Pola kerusakan sel reversibel dapat diamati melalui pemeriksaan mikroskopik berupa degenarasi. Degenerasi merupakan suatu kondisi ketika sel kehilangan struktur normal sel akibat pengaruh dari dalam atau dari luar sel yang merupakan tanda dimulainya kerusakan sel karena adanya toksin (Maulina, 2018). Degenerasi sel atau kemunduran sel menyebabkan perubahan morfologi sel yang selanjutnya menimbulkan perubahan struktur sel (Dewi et al., 2017). Cedera ringan yang mengenai struktur dalam sel seperti mitokondria dan sitoplasma akan mengganggu proses metabolisme sel (Maulina, 2018). Kerusakan ini sifatnya reversibel artinya bisa diperbaiki apabila penyebabnya segera dihilangkan. Apabila tidak dihilangkan, atau bertambah berat, maka kerusakan menjadi ireversibel, dan sel akan mati (Nazarudin et al., 2017). Jenis degenerasi sel adalah degenerasi hidrofik dan degenerasi lipid (perlemakan hati) (Maulina, 2018).

Degenerasi hidrofik merupakan suatu keadaan sitoplasma sel mengandung air. Secara mikroskopis, pada sel-sel yang mengalami degenerasi hidrofik terlihat adanya ruangan-ruangan jernih di sitoplasma tetapi tidak sejernih kolagen maupun lemak (Fahmi et al., 2015). Degenerasi hidrofik diduga karena terdapat gangguan pompa

natrium-kalium di membran sel akibat peroksidasi lipid membran, sehingga terjadi hipernatremia di dalam sel yang menyebabkan masuknya cairan masuk ke dalam sitoplasma, yang menyebabkan terbentuknya vakuola-vakuola kecil sampai besar. Degenerasi lemak tampak sebagai sel yang memiliki vakuola kecil (mikrovesikular) di sitoplasma pada tahap awal dan akan berkembang menjadi vakuola yang berukuran lebih besar (makrovesikular) sehingga menekan nukleus ke tepi (Maulina, 2018). Degenerasi lemak (*fatty degeneration*) merupakan akumulasi lemak dalam sitoplasma sel dengan kondisi yang menggambarkan hepatosit berisi banyak lipid. Pada pewarnaan hematoksilin eosin (HE), lemak yang hilang akibat proses dehidrasi dengan alkohol akan terbentuk vakuola-vakuola. Lemak dalam sitoplasma sel dapat mendesak inti sel ke pinggir yang tampak pada pemeriksaan mikroskopik (Agata et al., 2017).

Kerusakan sel atau jaringan yang merupakan kelanjutan dari degenerasi sel adalah nekrosis (Dewi et al., 2017). Nekrosis adalah interaksi antara radikal bebas hasil metabolisme obat dan metabolisme tubuh dengan biomolekul penyusun membran sel hati (Nazarudin et al., 2017). Interaksi radikal bebas ini menyebabkan perubahan dan merusak membran sel hati berupa degradasi atau disorganisasi seluler yang irreversibel atau kematian sel jaringan tubuh sebagai akibat pengaruh jelas, dengan perubahan morfologi yang nyata pada inti sel. Nekrosis diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Tahap berikutnya inti pecah (karioheksis) dan inti menghilang (kariolisis) (Agata et al., 2017).

Kongesti ditandai dengan warna merah pada sel hal tersebut terjadi karena adanya peningkatan darah di dalam pembuluh darah. Kongesti terjadi akibat reaksi peradangan dan kerusakan bagian organ. Kongesti merupakan proses pasif yang disebabkan oleh menurunnya aliran darah venous. Kongesti akan menunjukkan perubahan warna merah, bergantung derajat oksigenasi darah. Kongesti juga merupakan gejala patologis pertama dari kerusakan jaringan dan terjadi peningkatan jumlah darah di dalam pembuluh darah sehingga akan tampak kapiler darah melebar dan sinusoid-sinusoid di hati terisi banyak eritrosit (Andayani et al., 2018).

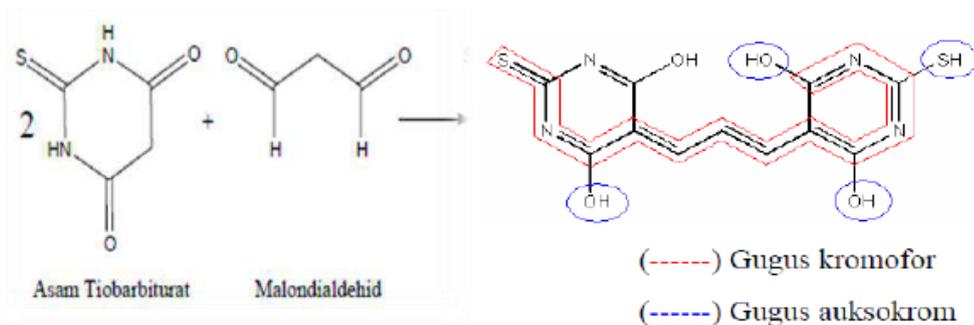
Hemoragi ditandai dengan adanya pendarahan pada sel. Hemoragi ini terjadi bila kongesti sudah sangat parah, maka pembuluh darah akan pecah dan darah berada pada tempat yang tidak semestinya (pendarahan). Adanya hemoragi dapat disebabkan oleh kerusakan pembuluh darah akibat agen infeksi yang beredar di pembuluh darah. Hemoragi mengindikasikan keluarnya darah dari pembuluh darah, baik keluar tubuh maupun ke dalam jaringan tubuh, tampak adanya bintik hemoragi pada lapisan mukosa atau serosa pada organ tubuh. Bila perdarahan meluas akan terjadi purpura, dan eritrosit terlihat di luar pembuluh darah (Andayani et al., 2018).

II.4 Malondialdehid

Stres oksidatif merupakan faktor pemicu pada banyak penyakit kronis dan inflamasi. Ketidakseimbangan antara produksi ROS dan sistem antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif. Sifat radikal bebas sebagai oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron.

Malondialdehyde atau yang dikenal sebagai MDA, adalah molekul yang terbentuk sebagai akibat dari aktivitas yang dilakukan oleh radikal bebas. MDA merupakan penanda paling sering pada peroksidasi lipid dan penanda stres oksidatif paling populer (Wibawa et al., 2020)

Malondialdehid (MDA) merupakan hasil akhir dari peroksidasi lemak dimana terputusnya rantai asam lemak dan menjadi senyawa toksik bagi sel lipid akibat adanya reaktif oksigen spesi terhadap membran sel. MDA ini diproduksi secara konstan sesuai dengan proporsi peroksidasi lipid yang terjadi. Substansi yang sudah dikenal dan banyak dipakai sebagai penanda biologis peroksidasi lipid dan stres oksidatif adalah MDA. Senyawa ini pertama kali digunakan pada tahun 1950 sebagai petanda kerusakan pada makanan. Saat ini MDA sering digunakan sebagai petanda stres oksidatif khususnya pada berbagai keadaan klinis yang berkaitan dengan proses peroksidasi lipid (Situmorang and Zulham, 2020). Hidroksiperoksida lipid bersifat tidak stabil dan dapat terurai menjadi aldehyd terutama MDA, sehingga MDA dapat digunakan sebagai indikator pengukuran radikal bebas dalam tubuh (Firdaus et al., 2017).



Gambar 5. Struktur Malondialdehid (Situmorang and Zulham, 2020)

Stress oksidatif menyebabkan terjadinya disfungsi mitokondria sehingga menimbulkan kekurangan energi seluler, akumulasi mediator sitotoksik, dan kerusakan seluler. Sel glia memerlukan lebih banyak oksigen dan glukosa agar memasok suplai ATP yang diperlukan dalam menjaga fungsi otak yang normal sehingga sangat rentan terhadap overload oksigen dan timbulnya ROS. Neuron sangat sensitif terhadap ROS, karena komposisi biokimia dari neuron terdiri dari asam lemak yang tinggi sehingga rentan terjadi peroksidasi lemak dan modifikasi oksidatif. Ikatan ganda dari asam lemak tak jenuh merupakan target dari radikal bebas sehingga timbul kerusakan asam lemak disekitarnya. Membran lipid mengalami oksidasi menghasilkan MDA dan 4 hydroxynonenal (4-HNE) yang toksik terhadap neuron (Situmorang and Zulham, 2020).

II.5 Tikus

Tikus merupakan hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian ilmiah (Nugroho et al., 2018). Tikus yang sering digunakan adalah tikus putih, yang bersifat lebih tenang dan mudah dikerjakan beberapa intervensi, mudah dipelihara, tidak terlalu takut terhadap cahaya, serta tidak begitu cenderung berkumpul sesama jenis (Rejeki et al., 2018).

Tikus memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit kardiovaskular, metabolik, neurologik, penyakit (kanker dan diabetes), dan kecemasannya (Nugroho et al., 2018). Hal ini terjadi karena adanya kesamaan organisasi DNA dan ekspresi gen di mana 98% gen manusia memiliki gen sebanding dengan gen tikus (Rejeki et al.,

2018). Selain itu, respon imun tikus memiliki hubungan langsung dengan sistem imun manusia, yaitu pada sel CD4+, IL-12 dan TNF- (Novita, 2015).

Berikut merupakan uraian klasifikasi dari hewan tikus (Rejeki et al., 2018).

Kingdom : Animalia

Filum : Chordate

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Murinane

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*