

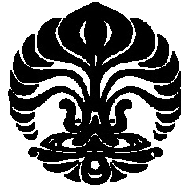
**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI POTENSI EKSTRAK KASAR TERIPANG  
*Holothuria atra* Jaeger SEBAGAI PENCEGAH KANKER  
MELALUI UJI MIKRONUKLEUS PADA SUMSUM TULANG  
MENCIT (*Mus musculus* L.) JANTAN GALUR DDY**

**SKRIPSI**

**NABILA CHAIRUNNISA  
0706264066**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JANUARI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI POTENSI EKSTRAK KASAR TERIPANG  
*Holothuria atra* Jaeger SEBAGAI PENCEGAH KANKER  
MELALUI UJI MIKRONUKLEUS TERHADAP SUMSUM  
TULANG MENCIT (*Mus musculus* L.) JANTAN GALUR DDY**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

**NABILA CHAIRUNNISA  
0706264066**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JANUARI 2012**

**HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Nabila Chairunnisa**

**NPM : 0706264066**

**Tanda Tangan :**



**Tanggal : 4 Januari 2012**

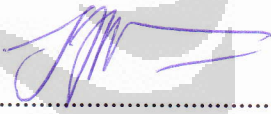
## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

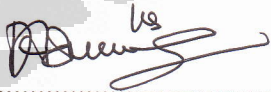
Nama : Nabila Chairunnisa  
NPM : 0706264066  
Program Studi: Biologi  
Judul Skripsi : Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang *Holothuria atra* Jaeger  
Sebagai Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus pada  
Sumsum Tulang Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan Galur DDY

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.**

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dra. Setiorini, M.Kes. (.....)

Pembimbing II : Dr.rer.nat. Yasman, M.Sc. (.....)

Penguji I : Dr. Dadang Kusmana, M.S. (.....)

Penguji II : Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc. (.....)

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 4 Januari 2012

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan hanya kepada Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala nikmat, rahmat dan karuniaNya yang tidak terbatas sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Departemen Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Begitu banyak bantuan moril dan material serta bimbingan dari berbagai pihak yang tidak dapat diungkapkan hanya dengan kata-kata. Walau demikian, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dra. Setiorini, M.Kes. selaku Penasihat Akademik dan Pembimbing I, serta Dr.rer.nat. Yasman, M.Sc. selaku pembimbing II atas waktu, perhatian, pengertian, kesabaran, bimbingan, dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Dadang Kusmana, M.S. dan Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc. selaku Penguji I dan II atas segala saran, perbaikan-perbaikan, dan dukungan yang diberikan kepada penulis untuk pembuatan dan perbaikan skripsi ini.
3. Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA-UI, Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc. selaku Sekretaris Departemen Biologi FMIPA-UI, Dra. Titi Soedjiarti S.U. selaku Koordinator Pendidikan, Riani Widirti, M.Si. selaku Koordinator Kemahasiswaan dan segenap staf pengajar atas ilmu pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis selama berada di Biologi. Terima kasih pula kepada seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA-UI, khususnya Mbak Asri Martini, S.Si., Pak Taryana dan Mas Arif atas segala bantuan yang telah diberikan.
4. Keluarga tercinta, Ayah, Ibu, adik-adikku (Nadia, Khatami, dan Dachlan) atas kasih sayang, dukungan, semangat, nasihat, dan doa yang selalu diberikan kepada penulis.
5. Rekan seperjuangan dalam satu topik penelitian Januar Hakam (Cumi), terima kasih untuk kerja sama, dukungan dan kesabarannya dalam

menghadapi penulis selama ini. Rekan-rekan di laboratorium (Lulu, Elwiena, Ka Bun, Ka Suri, Anjar, Oim, Jupe, Suhe, RR, Nova dan Jill), terima kasih atas segala motivasi dan bantuannya selama ini.

6. Sahabat-sahabat terbaik (Naba, Gitaw, Memi, Putsan, Pepep, Tiara, Tewe, Uthie, dan Ine) atas persahabatan, kebersamaan, tawa, dan tangis yang kita lalui bersama. HIMBIO 09 (Wahyu, Bayu, Kimbot, Iik, Ade, Fika, Nesti, Ecid, Naya), CANOPY 09 (Bang Jaja, Pakpres, Bre, Adel), dan seluruh teman-teman BLOSSOM atas segala canda tawa, semangat yang diberikan, dan semua hal yang selalu menghibur.
7. Terima kasih juga untuk kakak-kakak Baliveau, Biosphere (Ka Giri, Ka Jin, Bangkur, Ka Wanda, dll.), Felix, dan teman-teman Biosentris, Zygomorphic (Tacul, Pota, Uminyo, dll.), Biogenesis atas kekeluargaannya selama ini.
8. Keluarga besar TKD28 (Salingga, Cuge, Nalla, Lina, Ka Nurdin, Ka Yuri, para sabeum, dll.), terima kasih atas semua pengalaman hidup, persahabatan, dll. yang telah kalian berikan selama ini.
9. Teman-teman terbaik Tyas, Ana, Dewi, Resti, Yohana, teman-teman Damen atas dukungan, keceriaan, doa, dan semangat yang telah diberikan kepada penulis.

Akhir kata, penulis memohon maaf jika terdapat kesalahan dan kekhilafan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para perkembangan ilmu pengetahuan.

Depok, Januari 2012

Penulis

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nabila Chairunnisa  
NPM : 0706264066  
Program Studi : S1 Biologi  
Departemen : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

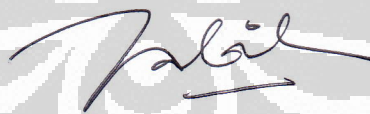
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang *Holothuria atra* Jaeger Sebagai Senyawa Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus Terhadap Sumsum Tulang Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan Galur DDY

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 4 Januari 2012  
Yang menyatakan



Nabila Chairunnisa

## ABSTRAK

Nama : Nabila Chairunnisa  
Program Studi : S1 Biologi  
Judul : Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang *Holothuria atra* Jaeger  
Sebagai Senyawa Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus  
Terhadap Sumsum Tulang Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan  
Galur DDY

Penelitian tentang potensi pencegahan kanker dari ekstrak kasar *H. atra* di Indonesia belum pernah dilakukan. Penelitian dilakukan untuk menguji ekstrak kasar *Holothuria atra* sebagai pencegah kanker melalui uji mikronukleus terhadap sumsum tulang *Mus musculus* jantan galur DDY. Potensi ekstrak kasar *H. atra* sebagai pencegah kanker diketahui dengan menentukan persentase jumlah mikronukleus (MN) pada 2000 sel eritrosit polikromatik (PCE). Hasil penelitian menunjukkan bahwa frekuensi MN pada 4 kelompok perlakuan yang dicekok larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb selama 7 hari berturut-turut dan diinjeksi kolkisin pada hari ke-7 (KP1, KP2, KP3, KP4) berbeda secara nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya dicekok akuades dan disuntik kolkisin pada hari ke-7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian larutan ekstrak kasar *H. atra* dengan dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb berpotensi mencegah kanker dengan parameter penurunan jumlah MN pada 2000 PCE mencit galur DDY.

Kata kunci : *Holothuria atra*, mikronukleus (MN), sel eritrosit polikromatik (PCE)

xi + 51 halaman; 15 gambar; 9 lampiran; 2 tabel  
Daftar referensi : 55 (1963--2011)



## ABSTRACT

Name : Nabila Chairunnisa  
Study Programme : S1 Biologi  
Title : Potency Test of Crude Extract from Sea Cucumber  
*Holothuria atra* Jaeger as Cancer Prevention Use  
Micronucleus Test Towards Male Mice (*Mus musculus* L.)  
DDY Bone Marrow

Research about the cancer-prevention activity of crude extract from *Holothuria atra* Jaeger in Indonesia has never been done. Therefore, this study were performed to test the cancer-prevention potency of *H. atra* crude extract using the micronucleus test of male mice (*Mus musculus* L.) DDY bone marrow. The cancer-prevention potency was knew by counting micronucleus (MN) in 2000 polychromatic erythrocyte cells (PCE). In this study, MN frequency in 4 treatment groups which given *H. atra* dose 0,33; 0,66; 0,99 and 1,32 g/kg body weight orally (KP1, KP2, KP3 and KP4) significantly decrease if compare to positive control group. Our data showed that treatment of *H. atra* crude extract's solution with dose 0,33; 0,6; 0,99 and 1,32 g/kg body weight can reduce the frequency of micronucleus in PCE from bone marrow smears induced by 1 mg/kg body weight colchicine intraperitoneally.

Keywords : *Holothuria atra*, micronucleus (MN), polychromatic erythrocyte (PCE)

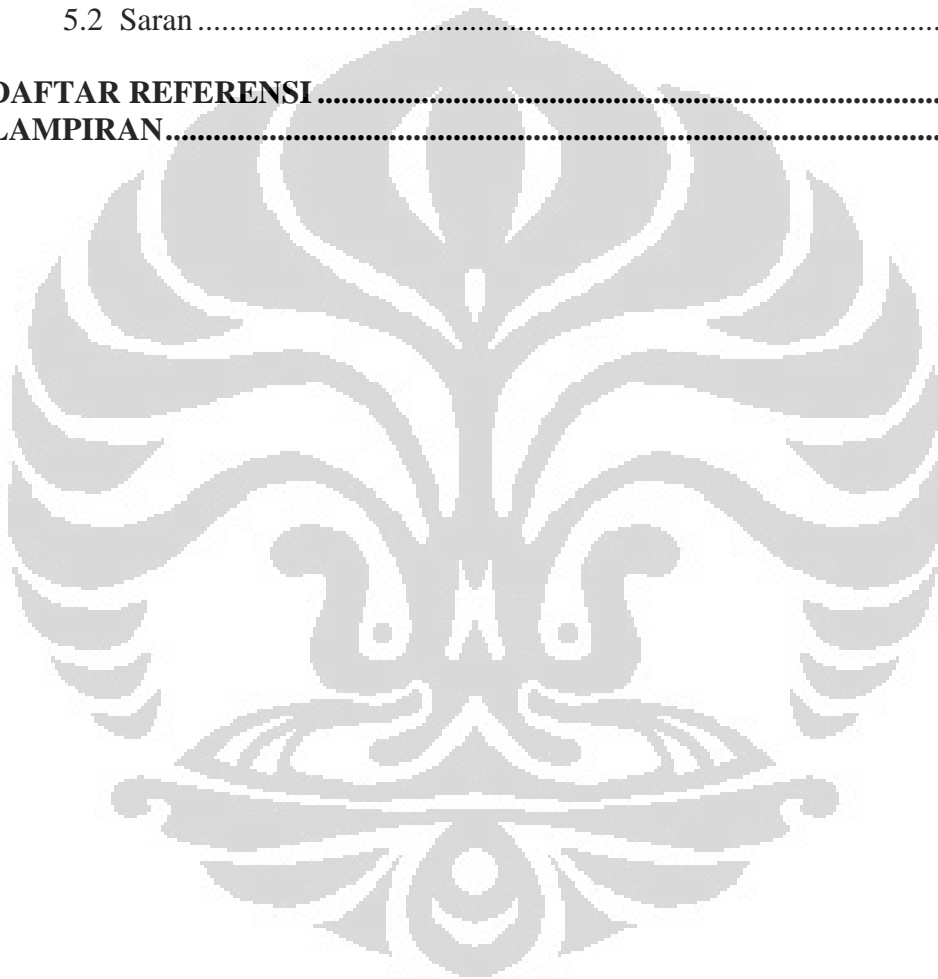
xiii + 51 pages; 9 appendixes; 15 pictures; 2 tables.

Bibliography : 55 (1963--2011)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
<b>1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Teripang.....	4
2.1.1 <i>Holothuria atra</i> .....	6
2.1.2 Manfaat dan kandungan senyawa bioaktif teripang .....	8
2.2 Mikronukleus dan uji mikronukleus.....	10
2.3 Kolkisin .....	12
2.4 Mencit.....	13
<b>3 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>15</b>
3.1 Lokasi dan waktu penelitian .....	15
3.2 Bahan .....	15
3.2.1 Bahan uji.....	15
3.2.2 Hewan uji.....	16
3.2.3 Makanan dan minuman hewan uji.....	16
3.2.4 Bahan kimia .....	16
3.3 Alat.....	16
3.3.1 Peralatan lapangan.....	16
3.3.2 Peralatan laboratorium.....	16
3.4 Cara kerja .....	17
3.4.1 Rancangan penelitian.....	17
3.4.2 Pengambilan dan perlakuan sampel di lapangan.....	17
3.4.3 Ekstraksi .....	18
3.4.4 Pemeliharaan hewan uji.....	20
3.4.5 Pembuatan larutan ekstrak kasar teripang .....	19
3.4.6 Pembuatan larutan kolkisin 1,00 mg/kg bb .....	21
3.4.7 Pembuatan larutan dapar fosfat (pH 6,9).....	21
3.4.8 Perlakuan terhadap mencit.....	21
3.4.9 Pembuatan sediaan oles sumsum tulang.....	22
3.4.10 Pewarnaan preparat olesan sumsum tulang .....	23

3.4.11	Pengamatan sediaan .....	23
3.4.12	Pengolahan dan analisis data .....	24
<b>4</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>25</b>
4.1	Hasil.....	25
4.1.1	Ekstrak kasar <i>H. atra</i> .....	25
4.1.2	Jumlah mikronukleus.....	26
4.2	Pembahasan .....	28
<b>5</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>35</b>
5.1	Kesimpulan.....	35
5.2	Saran .....	35
	<b>DAFTAR REFERENSI.....</b>	<b>36</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Berbagai bentuk spikula teripang .....	1
Gambar 2.1.1	<i>Holothuria atra</i> .....	4
Gambar 2.1.2(1)	Contoh produk ekstrak teripang yang beredar di pasaran ...	8
Gambar 2.2	Mekanisme pembentukan mikronukleus .....	11
Gambar 2.3	Struktur kolkisin .....	12
Gambar 2.4	Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	13
Gambar 3.1	Lokasi pengambilan sampel .....	15
Gambar 3.4.3	Skema cara kerja ekstraksi.....	19
Gambar 3.4.8	Perlakuan pada mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	22
Gambar 3.4.11	Pola pengamatan .....	23
Gambar 4.1.1	Ekstrak kasar <i>H. atra</i> .....	25
Gambar 4.1.2	Diagram batang persentase jumlah rata-rata mikronukleus.	26
Gambar 4.2(1)	Eritrosit normokromatik dan eritrosit polikromatik .....	28
Gambar 4.2(2)	Mikronukleus pada PCE .....	29
Gambar 4.2(3)	Diagram rata-rata jumlah MN pada KK+ dan KK-.....	30

## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.2	Hasil uji perbandingan berganda.....	27
Tabel 4.2	Persentase penurunan jumlah MN terhadap KK+.....	32

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data pengamatan jumlah mikronukleus per 2000 PCE .....	42
Lampiran 2	Data perhitungan jumlah mikronukleus per 2000 PCE dan peringkatnya .....	43
Lampiran 3	Perhitungan konversi dosis ekstrak <i>Holothuria atra</i> untuk <i>Mus musculus</i> .....	44
Lampiran 4	Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik .....	45
Lampiran 5	Uji homogenitas Levene terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik .....	46
Lampiran 6	Uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik .....	47
Lampiran 7	Uji perbandingan berganda terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik .....	48
Lampiran 8	Warna ekstrak kasar berdasarkan standar warna ACE-Paint.	50
Lampiran 9	Komposisi larutan Ringer .....	51

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

Kanker merupakan penyebab kematian kedua tertinggi di Amerika Serikat setelah penyakit kardiovaskuler. Di Indonesia, kanker merupakan penyebab kematian ketiga setelah penyakit yang disebabkan infeksi dan penyakit jantung serta pembuluh darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kanker disebabkan oleh kerusakan genetik. Kerusakan genetik tersebut dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain: pola makan dan gaya hidup (*lifestyle*), faktor lingkungan dalam pekerjaan maupun kehidupan sehari-hari, infeksi berbagai virus, serta kelainan genetik yang diturunkan (Haryana 2010: 124).

Metode-metode pengobatan yang umum digunakan untuk mengatasi penyakit kanker antara lain dengan memberikan obat antikanker, pembedahan, dan radiasi. Pemberian obat-obatan antikanker tertentu terkadang dapat menimbulkan efek toksik terhadap sel organ-organ lainnya yang tidak memiliki tingkat proliferasi sel yang tinggi. Selain hal tersebut, pemberian obat-obatan antikanker dapat menimbulkan reaksi hipersensitivitas (Atmakusuma 2010: 430). Oleh karena efek samping yang disebabkan pengobatan kanker, lebih baik dilakukan upaya pencegahan kanker.

Upaya pencegahan terhadap penyakit kanker dapat dilakukan dengan menjalankan pola hidup sehat, seperti memakan makanan yang bergizi, tidak minum minuman beralkohol, tidak merokok, dan memerhatikan keamanan saat bekerja dengan zat-zat yang berpotensi menyebabkan kanker (Curry *dkk.* 2003: 15-16). Upaya lain yang juga dilakukan adalah dengan menciptakan makanan pendamping (suplemen) dari bahan-bahan alam yang berpotensi mencegah kanker (Meiyanto *dkk.* 2008: 12).

Masyarakat telah lebih lama memanfaatkan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan baku obat tradisional, sedangkan pemanfaatan organisme dari laut masih belum banyak dilakukan. Dengan semakin bertambahnya jumlah penduduk dan peningkatan penyakit yang resisten terhadap obat-obatan, maka diperlukan penelitian lebih jauh untuk mencari sumber senyawa bioaktif yang baru (Rasyid 2008: 11). Sejak tahun 1970-an, perhatian mulai tertuju pada penemuan senyawa bioaktif potensial dari organisme laut (Schupp 2000: 1). Salah satu organisme

laut yang banyak diteliti mengenai senyawa bioaktifnya adalah teripang. Teripang adalah invertebrata laut dari filum Echinodermata yang hingga tahun 2005, pemanfaatannya di Indonesia masih terbatas sebagai bahan makanan, baik untuk konsumsi lokal maupun untuk komoditas ekspor. Terdapat sedikitnya 188 jenis teripang di perairan Indonesia dan 26 jenis di antaranya telah menjadi komoditas perdagangan (Purwati 2005: 15).

Teripang sebagai salah satu keragaman biota laut, umumnya dimanfaatkan sebagai bahan makanan tradisional di beberapa negara Asia, khususnya Cina. Teripang disukai karena dipercaya berkhasiat obat (*curative*). Beberapa jenis teripang digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati luka, eksim, arthritis dan hipertensi (Althunibat *dkk.* 2009: 377). Selain itu, teripang dipercaya mempunyai daya afrodisiak (Darsono 2003: 3).

Daging teripang memiliki komposisi sebagai berikut: protein (43%), lemak (2%), kadar air (17%), mineral (21%), garam (10%), dan kadar abu (7%) (Darsono 2003: 3). Senyawa kimia khas yang dimiliki oleh teripang adalah triterpen glikosida yang termasuk dalam senyawa saponin sebagai metabolit sekundernya (Careaga *dkk.* 2009: 60; Zhang *dkk.* 2006: 807). Saponin yang dihasilkan oleh teripang diyakini memiliki efek biologis, antara lain sebagai antijamur, antioksidan, dan antikanker (Zhang *dkk.* 2005: 807).

Penelitian Suriyanto (2010: 27) menunjukkan bahwa teripang jenis *Holothuria atra* memiliki keaktifan tertinggi di antara jenis-jenis teripang dari genus *Holothuria* lainnya yang diteliti (*H. impatiens*, *H. arenicola*, dan *H. pyxis*) setelah dilakukan *screening* awal menggunakan BSLT (*brine shrimp lethality test*). Ekstrak kasar *H. atra* memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 175 ppm, sedangkan jenis-jenis lainnya masing-masing memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 217 ppm, 244 ppm dan 418 ppm. Menurut Meyer *dkk.* (1982 lihat Fajarningsih *dkk.* 2006: 38), suatu senyawa dianggap aktif apabila memiliki nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000 ppm. Berdasarkan hal tersebut, diperkirakan ekstrak kasar *H. atra* memiliki aktivitas pencegahan kanker, sehingga diperlukan pengujian lebih lanjut mengenai potensi pencegahan kanker dari ekstrak kasar *H. atra* menggunakan metode lain.

Uji untuk mengetahui potensi suatu senyawa sebagai pencegah kanker dapat dilakukan dengan uji mikronukleus. Uji mikronukleus secara *in vivo*

merupakan uji yang sering digunakan karena metode yang lebih sederhana dibandingkan uji potensi mutagenik lainnya (Lu & Kacew 2002: 101 & 122). Uji mikronukleus dapat dilakukan dengan menggunakan mencit sebagai hewan uji (Hayes *dkk.* 2009: 419). Pemberian bahan uji dilakukan selama 7 hari berturut-turut mengikuti cara yang dilakukan oleh Astuti & Kusmana (1995: 3) dalam melakukan uji mikronukleus. Kolkisin digunakan sebagai senyawa yang menginduksi terjadinya mikronukleus.

Prapenelitian telah dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak kasar *H. atra* sebagai pencegah kanker. Dosis yang diberikan sebesar 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb kepada mencit jantan selama 7 hari berturut-turut. Dosis yang digunakan merujuk pada produk suplemen dari teripang yang beredar di pasaran (Patent: Gold-G), yaitu sebesar 15--22,5 g yang kemudian dikonversikan menjadi dosis untuk mencit (Ngatidjan 1991: 94). Hasil prapenelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb diduga berpengaruh terhadap penurunan jumlah mikronukleus. Oleh karena itu, dosis yang digunakan untuk penelitian adalah sebesar 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak kasar (*crude extract*) *H. atra* sebagai senyawa pencegah kanker pada dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb per hari yang diberikan secara oral selama 7 hari berturut-turut dengan induksi kolkisin 1,00 mg/kg bb bersamaan dengan pemberian larutan ekstrak kasar terakhir melalui uji mikronukleus pada sumsum tulang mencit (*Mus musculus*) jantan galur DDY (Astuti & Kusmana 1995: 3). Hipotesis yang diajukan adalah pencekokan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99; dan 1,32 g/kg bb per hari selama 7 hari berturut-turut dapat menghambat pembentukan mikronukleus dengan parameter perbandingan penurunan rata-rata jumlah mikronukleus pada kelompok perlakuan (KP1, KP2, KP3 dan KP) dengan kelompok kontrol positif (KK+).

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Teripang**

Teripang atau timun laut merupakan hewan invertebrata laut dari filum Echinodermata. Hewan tersebut banyak terdapat di paparan terumbu karang, pantai berbatu atau berlumpur, dan padang lamun. Teripang dapat ditemukan tidak hanya di perairan dangkal, tetapi juga dapat ditemukan di laut dalam (Hutauruk 2009: 8; Althunibat *dkk.* 2009: 377). Teripang menyukai perairan yang bersih dan jernih, terlindung dari hempasan ombak kuat, dasaran berpasir halus, dan lingkungan yang kaya akan materi organik (Aziz 1997: 10; Darsono 2003: 3). Beberapa jenis teripang aktif mencari makan pada malam hari sedangkan pada siang hari bersembunyi di bawah bebatuan atau membenamkan diri ke dalam pasir (Hutauruk 2009: 9).

Teripang memiliki tubuh yang lunak dan elastis dengan bentuk bervariasi, seperti membulat, silindris, segi empat, atau bulat memanjang seperti ular. Mulut terletak di ujung anterior, sedang anus diujung posterior. Panjang tubuh bervariasi menurut jenis dan umur, berkisar antara 3 cm sampai 150 cm (Darsono 1998: 1--2). Menurut Hyman tahun 1955, teripang pada umumnya mempunyai warna kulit yang kusam, seperti abu-abu, coklat, hijau lumut, atau hitam. Sisi ventralnya biasanya berwarna lebih cerah dari pada sisi dorsal, seperti putih, kuning, merah muda atau merah. Beberapa jenis teripang memiliki kulit dengan pola bercak-bercak atau garis-garis (*lihat* Darsono 1998: 3).

Teripang memiliki kaki tabung (*tube feet*) yang berfungsi untuk pergerakan. Selain berfungsi untuk pergerakan, kaki tabung juga termodifikasi menjadi alat peraba dan tentakel untuk mengumpulkan makanan. Kaki tabung yang berfungsi sebagai alat pergerakan terdapat di sisi ventral tubuhnya yang disebut pedisel. Sedangkan, kaki tabung yang berfungsi sebagai indra peraba terdapat di sisi dorsal tubuh disebut papila (Darsono 1998: 2). Kaki tabung yang terdapat di bagian mulut (anterior) termodifikasi menjadi tentakel yang berfungsi untuk menangkap makanan. Cara makan teripang dibagi menjadi dua, yaitu menangkap plankton dengan tentakel dari lingkungan sekelilingnya (*suspension*



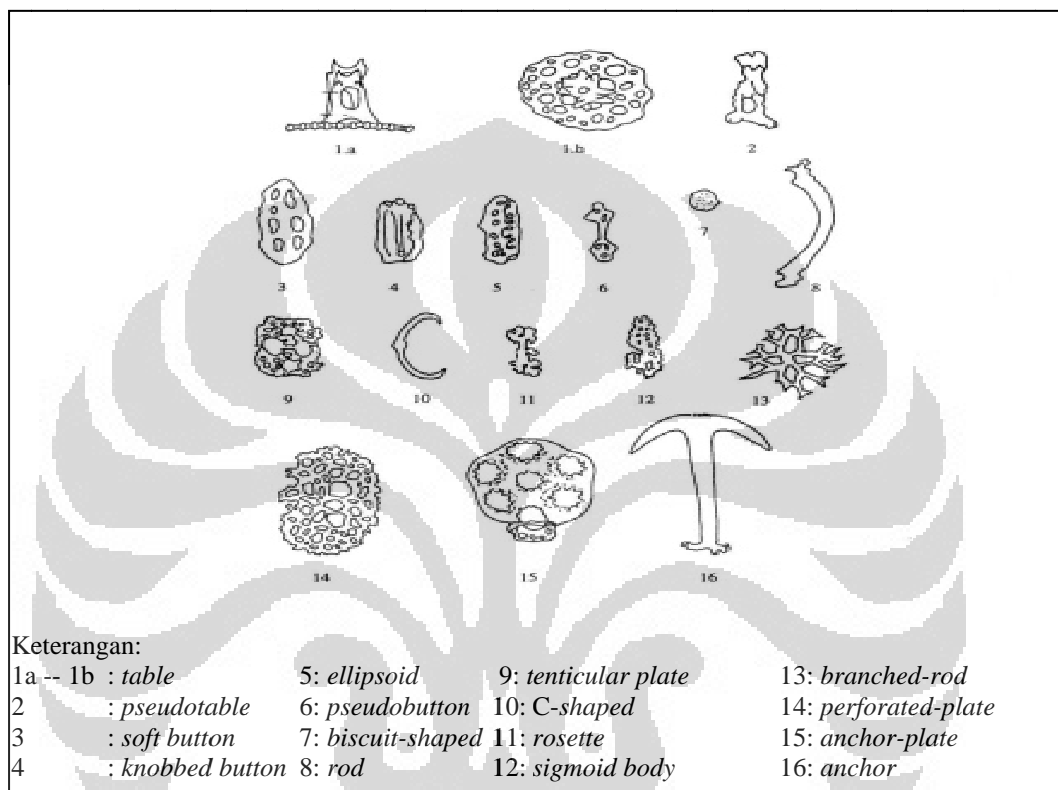
*feeder*) dan dengan cara menelan sedimen pasir kemudian mengambil komponen organik yang terkandung di dalamnya (*deposit feeder*) (Pechenik 1996: 462).

Teripang merupakan hewan yang memiliki pergerakan lambat. Menurut Hamel *dkk.* (2001 *lihat* Purwati 2005: 14), teripang hidup sebagai hewan benthik dengan pergerakan kurang dari 300 cm/hari. Oleh karena pergerakannya yang sangat lambat tersebut, teripang memerlukan mekanisme pertahanan diri dari predator. Predator teripang yang umum dijumpai di alam antara lain ikan, kepiting, dan kerang. Mekanisme pertahanan diri teripang terjadi secara kimiawi dan mekanik. Pertahanan diri secara mekanik dilakukan antara lain dengan cara mengubah bentuk tubuh (penebalan atau penegangan), memutuskan tubuh (autotomi), mengubur diri di bawah pasir, bersembunyi dibalik batu atau karang, mengeluarkan organ Cuvierian, dan eviserasi. Mekanisme pertahanan diri secara kimiawi dilakukan dengan menghasilkan senyawa metabolit sekunder pada dinding tubuh dan organ dalamnya (Dyck *dkk.* 2010: 174).

Teripang pada umumnya berkelamin ganda (*dioceous*), tetapi tidak jelas ada perbedaan morfologi antara jantan dengan betina (dimorfisme kelamin). Teripang bereproduksi secara aseksual dan seksual. Secara aseksual dilakukan dengan cara pembelahan (*fission*), yaitu terjadi pengkerutan (konstriksi) pada satu bagian tubuh teripang yang berkembang menjadi bentuk cincin, lalu bagian tersebut akan memanjang dan terputus. Individu yang terbentuk dari hasil pemutusan bagian tubuh akan melakukan regenerasi organ dalamnya. Reproduksi secara seksual dilakukan dengan melepaskan sel-sel gamet ke air lalu terjadi pembuahan secara eksternal (Darsono 1999: 3; Pechenik 1996: 465).

Identifikasi teripang dapat dilakukan secara makroskopis maupun mikroskopis. Identifikasi makroskopis dilakukan dengan cara mengamati morfologi teripang tersebut. Hal yang diamati dapat berupa warna tubuh, bentuk tubuh, jumlah dan bentuk tentakel, keberadaan kaki tabung, keberadaan gigi anal, dan keberadaan organ Cuvierian (Arnold & Birtles 1989: 222: 1989; Darsono 1998: 6). Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengamati bentuk spikula. Menurut Hyman (1955 *lihat* Darsono 1998: 4), spikula merupakan endoskeleton yang tereduksi menjadi berukuran mikroskopis dan tertanam dalam lapisan dermis dinding tubuh teripang. Senyawa utama

pembentuk spikula adalah kalsium karbonat yang larut dalam larutan asam. Pengamatan spikula dapat menjadi dasar identifikasi genus dan spesies karena bentuk spikula sangat beragam dan khas untuk masing-masing jenis. Bentuk spikula teripang antara lain kancing, roset, jangkar, roda, batang, dan bentuk lainnya (Arnold & Birtles 1989: 230).

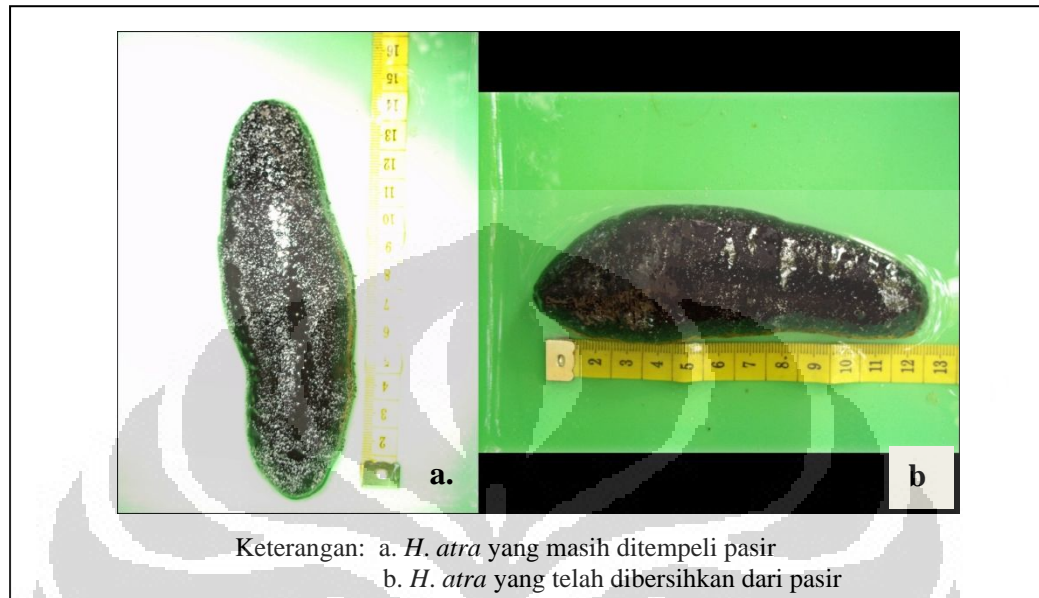


Gambar 2.1 Berbagai bentuk spikula teripang  
[Sumber: Guille *dkk.* dalam Darsono 1998: 5.]

### 2.1.1 *Holothuria atra*

*Holothuria atra* termasuk ke dalam famili Holothuriidae yang merupakan famili yang banyak tersebar pada daerah litoral perairan Indonesia. *Holothuria atra* merupakan salah satu jenis teripang yang penyebarannya luas di kawasan Indo-Pasifik barat (Bandaranayake & Rocher 1999: 163; Darsono 1999: 2). *Holothuria atra* memiliki ukuran tubuh bervariasi dari 2--60cm dan berat tubuh antara 10 g hingga 2000 g. Dinding tubuh (integumen) dari *H. atra* cukup tebal dan lembut dibandingkan dengan jenis teripang lainnya. Berbeda dengan jenis-jenis teripang lainnya, *H. atra* tidak memiliki organ Cuvierian sebagai alat

pertahanannya (Bonham & Held 1963: 602). *Holothuria atra* melakukan pertahanan diri dengan mengeluarkan cairan berwarna merah yang diduga sebagai senyawa holothurin saat mendapat gangguan (Aziz 1995: 18; Bakus 1973: 354).



Gambar 2.1.1 *Holothuria atra*

Warna tubuh *H. atra* pada umumnya hitam dengan sedikit berwarna coklat pada bagian dorsal. Tubuh *H. atra* kadang terlihat hanya sedikit karena tubuhnya diselubungi oleh pasir. *Holothuria atra* menempeli dirinya dengan pasir sebagai cara untuk menghindari sinar matahari. Pasir yang menempel akan memantulkan cahaya dan membuat suhu tubuhnya menjadi lebih rendah. Dikarenakan kemampuannya dalam melindungi diri dari cahaya yang kuat, *H. atra* termasuk dalam organisme yang bersifat fototaksis negatif (Bonham & Held 1963: 305; Suriyanto 2006: 22; Yusron 2004: 126).

Menurut Suriyanto (2010: 22), pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa *H. atra* memiliki spikula berbentuk meja dan 17 tentakel berbentuk perisai (Gambar 2.1, nomor 1b). Klasifikasi *H. atra* menurut Arnold & Birtles (1989: 224 & 227) adalah sebagai berikut:

*Kingdom* : Animalia  
*Phylum* : Echinodermata  
*Class* : Holothurioidea  
*Order* : Aspidochirotida

*Family* : Holothuriidae  
*Genus* : *Holothuria*  
*Species* : *Holothuria atra*

### 2.1.2 Manfaat dan kandungan senyawa bioaktif teripang

Teripang umumnya dimanfaatkan sebagai bahan makanan tradisional di beberapa negara Asia, khususnya Cina. Teripang disukai karena dipercaya berkhasiat obat (*curative*). Beberapa jenis teripang digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati luka, eksim, arthritis dan hipertensi (Althunibat *dkk.* 2009: 377). Selain itu, teripang dipercaya mempunyai daya afrodisiak (Darsono 2003: 3).

Akhir-akhir ini, teripang banyak dijadikan bahan baku produk komersial. Produk komersial yang telah dikembangkan antara lain berupa *jelly* gamat yang dipercaya berkhasiat mengobati luka, diabetes, anemia, kanker, hipertensi, dan lain-lain (Gambar 2.1.2(1)). Selain produk *jelly* tersebut, teripang juga dijadikan bahan baku kosmetik (Goldgamat 2011: 1).



Gambar 2.1.2(1) Contoh produk ekstrak teripang yang ada di pasaran  
[Sumber: Goldgamat 2011: 1.]

Daging teripang memiliki komposisi sebagai berikut: protein (43%), lemak (2%), kadar air (17%), mineral (21%), garam (10%) dan kadar abu (7%) (Darsono 2003: 3). Teripang dipercaya bernutrisi tinggi karena mengandung vitamin A, vitamin B1 (*thiamine*), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (*niacin*) dan mineral (kalsium, magnesium, zat besi dan seng). Qi *dkk.* (2007) menyatakan bahwa dari hasil studi lanjutan menggunakan kromatografi kertas, teripang mengandung asam amino bebas yaitu alanin, arginin, sistein, glisin, asam glutamat, histidin, lisin, dan valin.

Sejumlah aktivitas biologis dan farmakologis dari beberapa jenis teripang seperti antikanker, antihipertensi, antimikrobal, antioksidan dan penyembuh luka telah diketahui. Aktivitas biologis dan farmakologis teripang dapat dihubungkan dengan keberadaan beragam senyawa bioaktif terutama triterpen glikosida (saponin), kondroitin sulfat, glikosaminoglikan (GAG), sulfat polisakarida, sterol (glikosida dan sulfat), fenolat, lektin, peptida, glikoprotein, *glycosphingolipids* dan asam lemak esensial. Teripang kering mengandung kadar protein sebesar 83% dan dijual sebagai *nutraceutical* dalam bentuk tablet atau kapsul (Bordbar *dkk.* 2011: 1761).

Senyawa kimia khas yang dimiliki oleh teripang adalah triterpen glikosida (holothurin) yang termasuk dalam senyawa saponin sebagai metabolit sekundernya. Triterpen glikosida yang dihasilkan oleh teripang berperan dalam proses pertahanan diri dan diproduksi di kulit dan organ Cuveriannya. Senyawa saponin banyak ditemukan pada tumbuhan, tetapi sangat jarang ditemukan pada hewan (Careaga *dkk.* 2009: 60; Zhang *dkk.* 2006: 807). Triterpen glikosida pada teripang dipercaya sebanding dengan triterpen glikosida pada ginseng dan ganoderma. Triterpen glikosida pada teripang menunjukkan banyak aktivitas biologis seperti aktivitas hemolitik, sitostatik, antineoplastik, antikanker dan antitumor (Bordbar *dkk.* 2011: 1772).

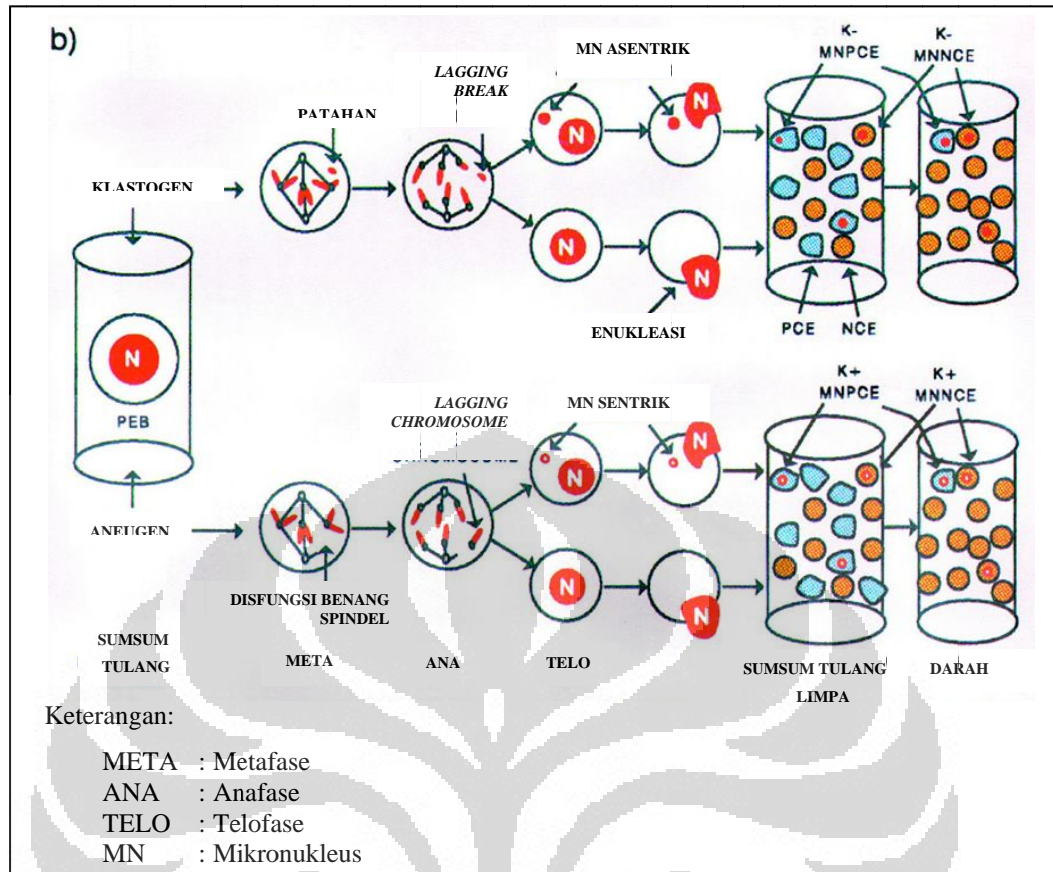
Berdasarkan penelitian oleh Caulier *dkk.* pada tahun 2011, *H. atra* diketahui mengandung triterpen glikosida jenis holothurin A, holothurin B, holothurin A<sub>2</sub>, holothurin B<sub>1</sub> dan holothurin B<sub>2</sub>. Penelitian Suriyanto (2010: 34) menunjukkan bahwa teripang jenis *Holothuria atra* memiliki keaktifan tertinggi diantara jenis-jenis teripang dari genus *Holothuria* lainnya yang diteliti (*H.*

*impatiens*, *H. arenicola*, dan *H. pyxis*) setelah diuji menggunakan BSLT (*brine shrimp lethality test*). Ekstrak kasar *H. atra* memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 175 ppm. Sedangkan jenis-jenis lainnya masing-masing memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 217 ppm, 244 ppm dan 418 ppm.

## 2.2 Mikronukleus dan uji mikronukleus

Mikronukleus atau dalam dunia hematologi disebut Howell-Jolly *bodies* adalah massa bundar berukuran kecil bermembran yang secara morfologi mirip dengan nukleus (Fenech *dkk.* 2010: 125). Mikronukleus berasal dari fragmen kromosom asentrik atau dari keseluruhan kromosom yang gagal tergabung dalam sel anaknya. Terbentuknya mikronukleus menunjukkan adanya kerusakan sitogenetik pada kromosom atau tidak berfungsinya benang spindel pada saat anafase (Fenech *dkk.* 2010: 125; Krishna & Hayashi 2000: 156; Wahnschaffe 2005: 2). Mikronukleus terbentuk antara lain karena adanya paparan dari senyawa-seyawa kimia seperti *hydroquinone*, kolkisin, vinblastin, diazepam, kadmium klorida, *econazole*, dan *chloral hydrate* (Marrazzini *dkk.* 1994: 1).

Norppa & Falck (2003: 221) menyebutkan dua mekanisme umum terbentuknya mikronukleus adalah karena kerusakan pada kromosom (*chromosome breakage*) dan tidak berfungsinya benang spindel. Tidak berfungsinya benang spindel saat metafase menyebabkan posisi kromosom berada tidak tepat pada bidang ekuator saat tahap anafase. Hal tersebut mengakibatkan terbentuknya mikronukleus karena pembelahan kromosom menjadi tidak sempurna. Kerusakan pada kromosom yang menyebabkan mikronukleus dapat berupa pembentukan jembatan kromatin, sehingga terjadi patahan pada kromosom (Gambar 2.2) (Campbel *dkk.* 2002: 290; Nasuroh 2003: 13).



Gambar 2.2 Mekanisme pembentukan mikronukleus  
[Sumber: Krishna & Hayashi 2000 : 157, diterjemahkan dari aslinya.]

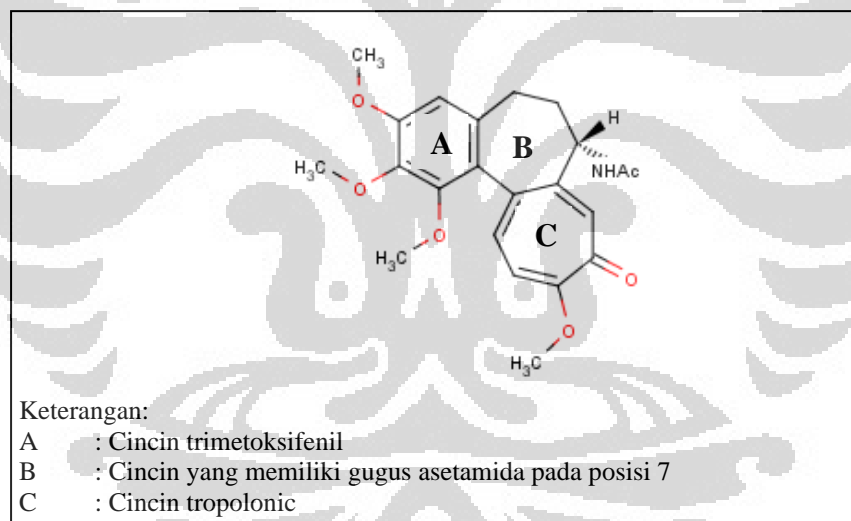
Uji mikronukleus secara *in vivo* merupakan uji yang sering digunakan untuk mengetahui potensi mutagenik suatu zat karena memiliki metode yang lebih sederhana dibandingkan uji potensi mutagenik secara *in vivo* lainnya (Lu & Kacew 2002: 122). Uji mikronukleus memiliki beberapa keunggulan, antara lain dapat dilakukan oleh siapa saja tanpa harus memiliki keahlian membuat preparat yang sempurna, dapat dilakukan selama siklus sel berlangsung, jumlah eritrosit polikromatik yang diamati tidak terbatas dan kerusakan sitogenik dapat diketahui dengan cepat (Nasuroh 2003: 14). Dalam uji mikroukneus, yang umum diamati adalah sel darah merah yang masih muda (eritrosit polikromatik / PCE) (Heddle *dkk.* 2011: 3).

Mikronukleus umumnya berbentuk bulat, akan tetapi dapat ditemukan juga berbentuk lonjong. Mikronukleus terlihat dengan jelas pada eritrosit polikromatik atau retikulosit, yaitu eritrosit yang berumur 72 jam dan berukuran lebih besar dari eritrosit (Junqueira *dkk.* 1982: 271). Eritrosit polikromatik bersifat basofilik

sehingga akan terwarnai menjadi biru menggunakan pewarnaan Giemsa. Pembentukan dan pematangan sel darah terjadi pada jaringan hematopoietik, antara lain limpa (*spleen*) dan sumsum tulang (Krishna & Hayashi 2000: 157).

### 2.3 Kolkisin

Kolkisin ( $C_{22}H_{25}O_6N$ ) merupakan suatu alkaloid berwarna putih yang diperoleh dari umbi tanaman *Colchichum autumnale* (Suku Liliaceae). Kolkisin terdiri atas 3 cincin, yaitu cincin A (cincin trimetoksifenil), cincin B (cincin yang memiliki asetamida pada posisi 7), dan cincin C (cincin tropolonik). Senyawa ini dapat menghalangi terbentuknya benang-benang spindel pada pembelahan sel sehingga menyebabkan terbentuknya individu poliploidi (Suminah *dkk.* 2002: 174).



Gambar 2.3 Struktur kolkisin  
 [Sumber: NLM 2009: 1.]

Proses penghambatan pembentukan benang spindel oleh kolkisin disebabkan oleh kemampuan kolkisin berikatan dengan dimer tubulin. Dimer tubulin adalah protein yang akan berpolimerasi membentuk filamen mikrotubulus. Apabila pembentukan filamen mikrotubulus terhambat maka benang spindel tidak akan terbentuk atau terbentuk dalam keadaan tidak normal. Hal tersebut mengakibatkan kromosom tidak dapat memisahkan diri ke arah kutub masing-



masing sehingga terbentuk mikronukleus dari kromosom utuh (Russell 1994: 416; Suminah *dkk.* 2002: 174).

Kolkisin banyak digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan pembelahan sel, mutasi sel, dan efek karsinogenik. Senyawa tersebut digunakan karena bersifat karsinogenik dan dapat menginduksi pembentukan mikronukleus. Konsentrasi yang umum digunakan untuk menginduksi mikronukleus pada mencit sebesar 1--12 mg/kg bb (Tyrkiel *dkk.* 1996: 1; NLM 2009: 1).

## 2.4 Mencit

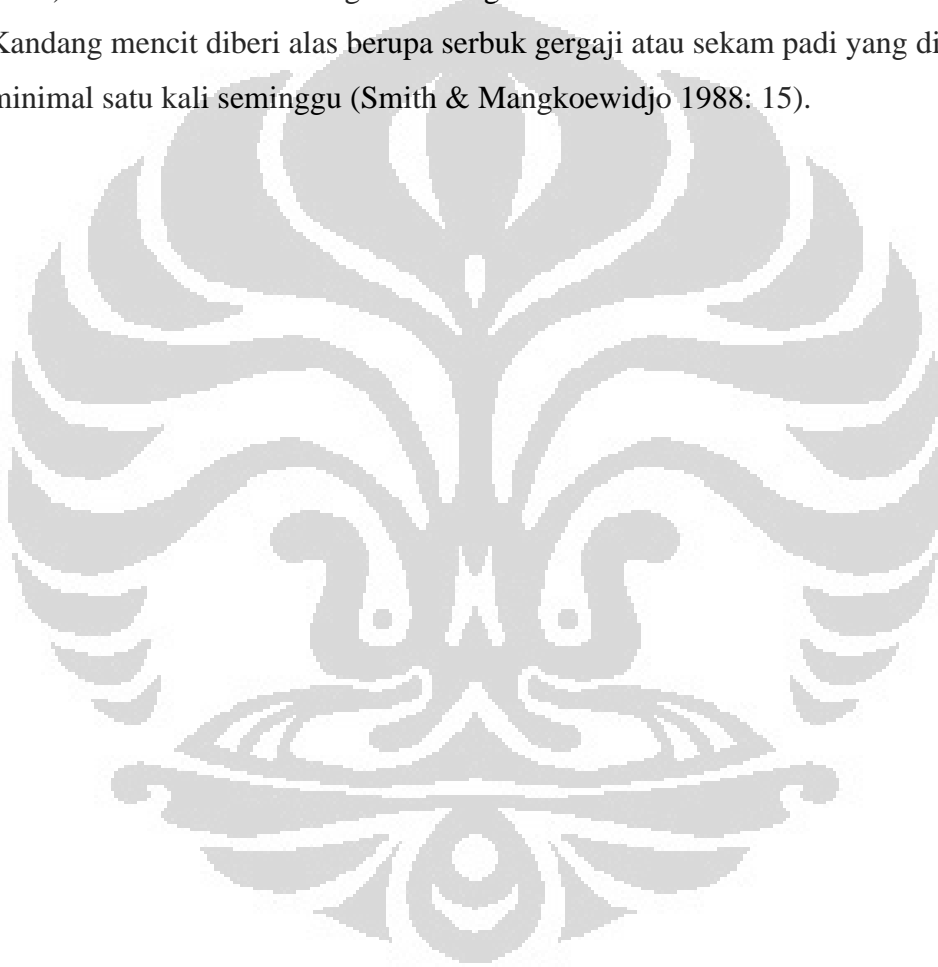
Mencit merupakan hewan kelas Mamalia, bangsa Rodentia, dan suku Muridae. Nama ilmiah yang digunakan untuk mencit adalah *Mus musculus*. Mencit sering digunakan sebagai hewan uji di laboratorium. Pemilihan mencit sebagai hewan percobaan karena mencit cepat berkembang biak (masa kehamilan relatif singkat, antara 18--21 hari), mudah dipelihara dalam jumlah besar, variasi genetik yang tinggi, dan memiliki ciri, sifat, serta pola absorpsi yang mirip dengan manusia. Ukuran mencit relatif kecil dan harga yang relatif murah menyebabkan mencit umum digunakan dalam uji toksisitas dan karsinogenisitas (Sirois 2005: 89). Mencit yang digunakan sebagai hewan uji harus diperoleh dari sumber yang sama, umur seragam dan dalam keadaan yang sehat (Malole & Pramono 1989: 5 & 94; Ngatidjan 1991: 79).



Gambar 2.4 Mencit (*Mus musculus*)

Berat badan mencit jantan dewasa adalah 30--50 g, sedangkan mencit betina berkisar antara 18--35 g. Berat badan tersebut berpengaruh pada jumlah senyawa yang akan diuji atau diberikan. Pemilihan mencit dengan galur, jenis kelamin, umur dan berat badan yang sama bertujuan untuk menyeragamkan kondisi biologis hewan uji (Malole & Pramono 1989: 5).

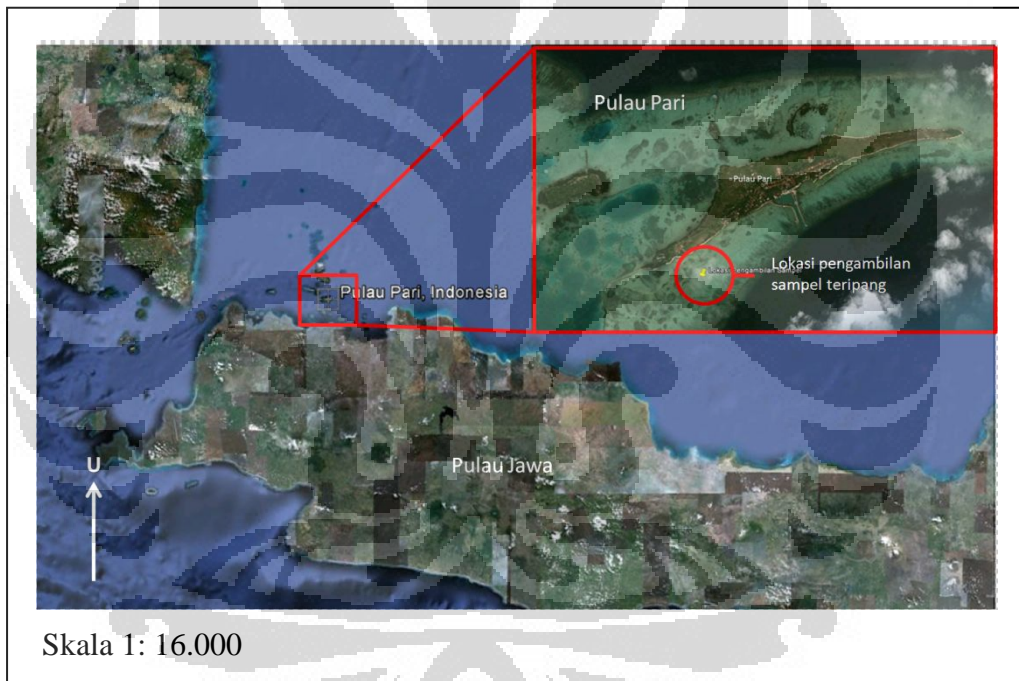
Seekor mencit dewasa membutuhkan 15 g makanan dan 15 ml air per 100 g berat badan per hari. Mencit diberi pakan berupa pelet secara *ad libitum* (tanpa batas) dan air minum matang. Kandang mencit harus dalam keadaan bersih. Kandang mencit diberi alas berupa serbuk gergaji atau sekam padi yang diganti minimal satu kali seminggu (Smith & Mangkoewidjo 1988: 15).



## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Lokasi dan waktu penelitian

Pengambilan sampel *Holothuria atra* dilakukan di perairan Pulau Pari, Kepulauan Seribu, Jakarta pada bulan Februari dan April 2011 (Gambar 4.1). Proses ekstraksi sampel dan pengujian terhadap mencit dilakukan di Laboratorium Taksonomi Hewan dan Laboratorium Biologi Perkembangan, Departemen Biologi FMIPA UI.



Gambar 3.1. Lokasi pengambilan sampel (Pulau Pari, Kepulauan Seribu)  
[Sumber: Google Earth.]

### 3.2 Bahan

#### 3.2.1 Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak kasar *Holothuria atra* yang diperoleh dari proses ekstraksi. *H. atra* didapatkan dari perairan Pulau Pari, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta.

### 3.2.2 Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) galur DDY yang berumur  $\pm$  8 minggu dengan berat sekitar 30--40 gr yang diperoleh dari Bagian Nonruminansia dan Satwa Harian, Fakultas Peternakan IPB.

### 3.2.3 Makanan dan Minuman Hewan Uji

Makanan mencit berupa pelet yang diperoleh dari PT Pemuka Tani yang beralamat di Jl. HR. Moch. Mangundiprojo Km 3.5 Sidoarjo 61252. Air minum yang diberikan adalah air yang sudah dimasak.

### 3.2.4 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah metanol teknis, akuades, akuabides [IKA], kolkisin [Merck], larutan Ringer, metanol absolut [Merck], xilol [Merck], entelan [Merck], pewarna Giemsa [Merck], pewarna May-Gruenwald [Merck], asam pikrat, dapar fosfat pH 6,9 yang terdiri atas  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (9,1 g/l) dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (11,9 gr/l), larutan desinfetan [Bayclin] dan minyak imersi [Euromex].

## 3.3 Alat

### 3.3.1 Peralatan lapangan

Peralatan yang digunakan di lapangan adalah peralatan *snorkeling* (*masker, snorkel, fin*), bak pelampung, plastik sampel, toples kaca, *dissecting set*, alat tulis, kertas label, kamera digital [Kodak EasyShare M530], dan *container box*.

### 3.3.2 Peralatan Laboratorium

Peralatan yang digunakan di laboratorium antara lain blender [Waring], *rotary evaporator* [Stuart], oven [Precision], timbangan digital [Ohaus], timbangan analitik [Precisa], *vortex* [Lab Line], *sentrifuge* [Procion scientific Kic, Vari Hi-Speed Centricone], *microsentrifuge* [Eppendorf], mikroskop medan terang [Nikon], *dissecting set*, *round flask* [Schott Duran], gelas ukur [Pyrex], cawan penguap [Pyrex], corong [Pyrex], pipet, gelas objek [Sail Brand], kaca penutup [Sail Brand], *staining jar*, kertas saring [Whatman No. 1], *syringe* 1 ml [Terumo], jarum suntik 27gauge [Terumo], *gavage needle* (sonde cekok), bak plastik dan kawat penutup kandang, tabung mikro 1,5 ml, tabung sentrifuge 15 ml [Iwaki], standar warna [ACE Paint] dan *counter* [Kenko].

## 3.4 Cara kerja

### 3.4.1 Rancangan Penelitian

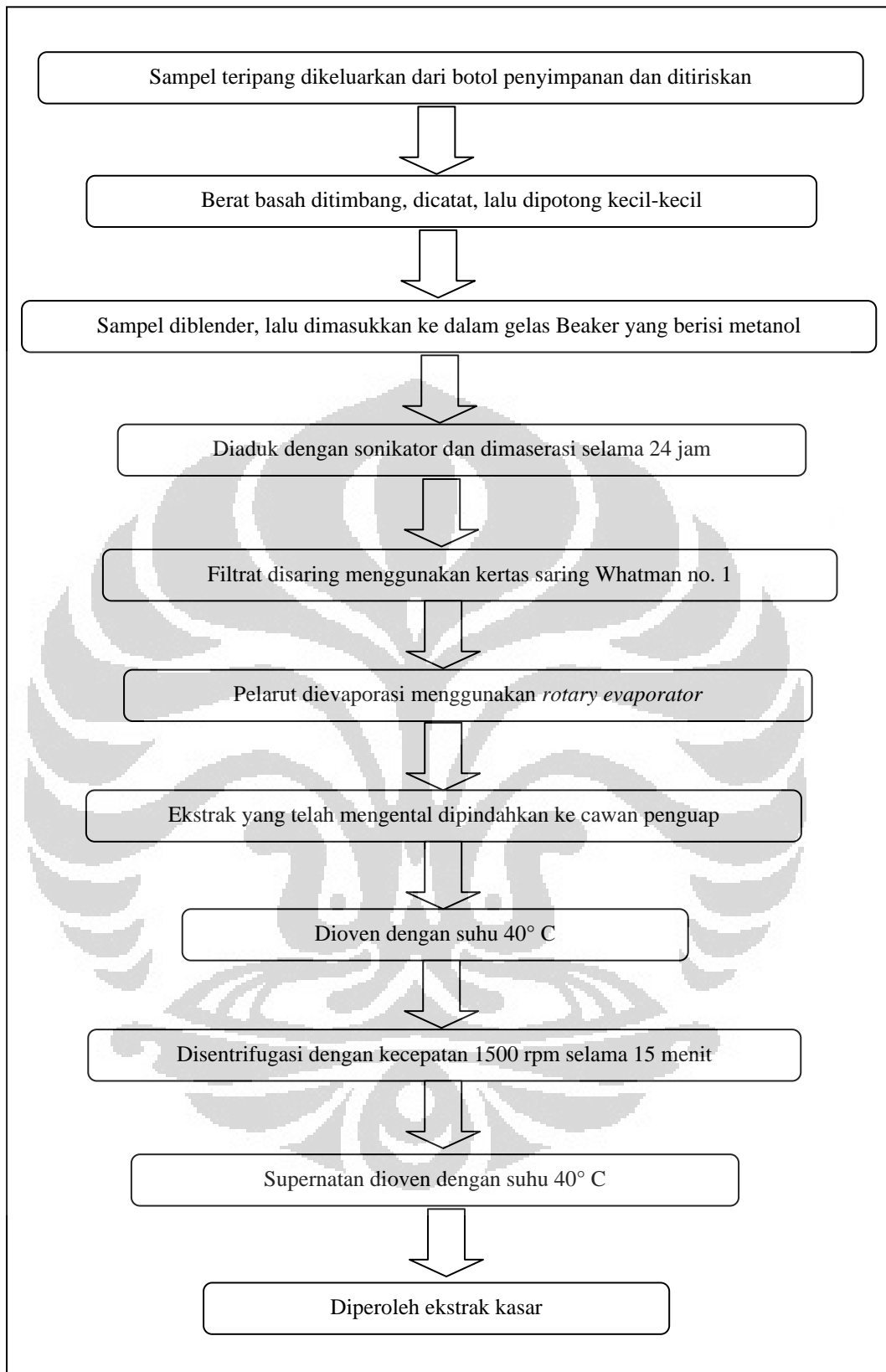
Penelitian bersifat eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 5 kali ulangan. Jumlah perlakuan dan ulangan dibuat berdasarkan rumus Federer, yaitu  $(t-1)(n-1) \geq 15$ , dengan  $t$  adalah jumlah perlakuan dan  $n$  adalah jumlah ulangan (Hanafiah 1997: 6).

### 3.4.2 Pengambilan dan Perlakuan Sampel di Lapangan

Pengambilan sampel dilakukan secara *broad survey* berdasarkan perjumpaan langsung di rataan terumbu karang pantai Pulau Pari, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta. Sampel *H. atra* yang ditemukan lalu diletakkan dalam bak pelampung atau plastik sampel yang berisi air laut. *H. atra* yang didapat didokumentasikan lalu dikeluarkan organ dalamnya dan dimasukkan ke dalam toples kaca yang berisi metanol.

### 3.4.3 Ekstraksi

*Holothuria atra* dikeluarkan dari wadah penyimpanan, ditiriskan, lalu ditimbang untuk mengetahui berat basahnya. Selanjutnya, *H. atra* dipotong-potong, diblender hingga halus lalu dimasukkan ke dalam gelas Beaker 1 L yang berisi metanol. *H. atra* yang telah dicampur metanol diaduk hingga homogen menggunakan ultrasonikator dan dimaserasi selama 24 jam. Hasil maserasi akan menunjukkan 2 fase, yaitu filtrat dan endapan. Filtrat kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan ditampung dalam botol gelap ukuran 2,5 L. Endapan yang tersisa ditambahkan metanol, dimaserasi, dan difiltrasi kembali hingga fase cair yang dihasilkan berwarna bening. Filtrat yang didapat kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga pelarut metanol sedikit atau mengental. Ekstrak teripang yang telah mengental kemudian dipindahkan ke cawan penguap untuk selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga pelarutnya benar-benar hilang dan beratnya konstan. Ekstrak yang telah mengering kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit untuk mengendapkan garam. Supernatan dari hasil sentrifugasi kemudian dipindahkan ke dalam cawan penguap dan dioven pada suhu 40°C hingga beratnya stabil. Ekstrak kasar tersebut diamati warnanya menggunakan standar warna (Lampiran 8), ditimbang, dipindahkan ke dalam botol vial, diberi label, dan disimpan dalam desikator. Pelet yang ada dipindahkan ke dalam botol vial untuk disimpan. Skema cara kerja ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 3.4.4.



Gambar 3.4.4 Skema cara kerja ekstraksi

#### 3.4.4 Pemeliharaan Hewan

*Mus musculus* (mencit) jantan sebanyak 30 ekor diadaptasikan selama  $\pm$  2 minggu di dalam kandang untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan percobaan sebelum diberi perlakuan. Mencit dipelihara dalam kandang plastik yang diberi alas serutan kayu untuk menyerap kotorannya. Makanan berupa pelet dan minuman berupa air matang dalam botol gelas diberikan setiap hari secara *ad libitum* (tanpa batas).

Mencit yang sudah diadaptasikan dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan dengan 5 kali ulangan. Setiap kandang berisi 6 ekor mencit yang mewakili 6 kelompok perlakuan, yaitu KK+, KK-, KP1, KP2, KP3, dan KP4. Masing-masing mencit dari setiap kelompok perlakuan diberi tanda dengan menggunakan asam pikrat 10%. Kandang plastik yang berisi mencit diletakkan dalam ruang kandang pemeliharaan hewan Biologi FMIPA-UI.

Kandang mencit dibersihkan 3 kali seminggu dengan cara mencucinya dengan sabun, direndam dalam larutan desinfektan, lalu dikeringkan. Alas kandang selanjutnya diganti dengan serutan kayu yang baru. Di dalam kandang terdapat *timer* yang mengatur pergiliran pencahayaan gelap dan terang, masing-masing selama 12 jam.

#### 3.4.5 Pembuatan Larutan Ekstrak

Larutan ekstrak dosis 0,33 g/kg bb dibuat dengan cara memasukkan 0,33 g ekstrak kasar *H. atra* ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan akuabides hingga volumenya mencapai 10 ml. Campuran tersebut lalu dihomogenkan dengan cara dikocok dan menggunakan sonikator. Larutan ekstrak dosis 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb dibuat dengan cara yang sama, yaitu memasukkan berturut-turut 0,66 g; 0,99 g; dan 1,32 g ekstrak kasar *H. atra* ke dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan akuabides hingga volumenya mencapai 10 ml.



#### 3.4.6 Pembuatan Larutan Kolkisin 1,0 mg/kg bb

Larutan kolkisin 1,0 mg/kg bb dibuat dengan cara memasukkan 1 mg kolkisin ke dalam gelas ukur, kemudian ditambahkan akuabides hingga volumenya 10 ml.

#### 3.4.7 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat 0,66 M (pH 6,9)

Larutan dapar fosfat terdiri atas larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dibuat dengan cara melarutkan 9,1 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dalam akuades hingga volumenya 1 liter. Larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dibuat dengan cara melarutkan 11,9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dalam akuades hingga volumenya 1 liter. Larutan tersebut dicampurkan saat ingin digunakan. Sebanyak 320 ml larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dicampurkan dengan 400 ml larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , kemudian pH-nya diukur menggunakan pH meter. Selanjutnya ditambahkan NaOH ke dalam campuran larutan tersebut hingga pH-nya mencapai 6,9 (WHO 1988: 38).

#### 3.4.8 Perlakuan Terhadap Mencit

Mencit-mencit yang berumur 6--8 minggu sebanyak 30 ekor ditimbang dan masing-masing dicatat beratnya. Mencit-mencit dibagi dalam 6 kelompok perlakuan dengan 5 kali pengulangan. Kelompok-kelompok perlakuan meliputi:

- Kelompok kontrol positif (KK+), yaitu kelompok *M. musculus* yang dicekok akuabides (10 ml/kg bb) dan disuntik kolkisin pada hari ke-7 (2 mg/kg bb).
- Kelompok kontrol negatif (KK-), yaitu kelompok *M. musculus* yang hanya dicekok dengan akuabides (10 ml/kg bb).
- Kelompok perlakuan 1 (KP1), yaitu kelompok *M. musculus* yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33 g/kg bb dan disuntik kolkisin.
- Kelompok perlakuan 2 (KP2), yaitu kelompok *M. musculus* yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,66 g/kg bb dan disuntik kolkisin.
- Kelompok perlakuan 3 (KP3), yaitu kelompok *M. musculus* yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,99 g/kg bb dan disuntik kolkisin.

- f. Kelompok perlakuan 4 (KP4), yaitu kelompok *M. musculus* yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 1,32 g/kg bb dan disuntik kolkisin.

Ekstrak kasar *H. atra* diberikan secara oral disesuaikan dengan berat badan mencit yaitu 1 ml untuk 100 g berat badan. Pemberian akuabides untuk kelompok kontrol juga diberikan secara oral. Pencekohan pada kelompok-kelompok perlakuan (KK+, KK-, KP1, KP2, KP3, dan KP4) dilakukan selama 7 hari berturut-turut pada pukul 08.00 WIB menggunakan *gavage needle*. Penyuntikan larutan kolkisin 1 mg/kg bb dilakukan secara intraperitoneal pada hari ke-7 pukul 07.00 WIB. Tiga puluh jam kemudian (hari ke-8, pukul 14.00 WIB) setelah penyuntikan kolkisin, mencit-mencit dikorbankan dengan cara dislokasi vertebrae servikalis untuk diambil sumsum tulangnya.



Gambar 3.4.8 Perlakuan pada mencit (*Mus musculus*)

#### 3.4.9. Pembuatan Sediaan Oles Sumsum Tulang

Tulang femur dan tibia dari mencit yang sudah dikorbankan dipisahkan dengan cara memotong tulang bawah gelang pelvik dan di bawah lutut. Tulang dibersihkan dari otot-otot yang masih menempel. Bagian proksimal tulang digunting hingga saluran sumsum terlihat. Larutan Ringer disiapkan sebanyak 1,5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung mikro. Larutan Ringer yang telah disiapkan diambil sebanyak 0,2 ml menggunakan jarum suntik. Jarum suntik dimasukkan ke dalam saluran sumsum tulang yang terbuka lalu cairan sumsum disedot

perlahan. *Syringe* kemudian sedikit dinaik-turunkan agar cairan sumsum bercampur dengan larutan Ringer. Cairan sumsum lalu dimasukkan ke dalam tabung mikro. Tabung mikro disentrifus selama 2 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Supernatan dibuang dan pelet (endapan) dihomogenkan menggunakan *vortex*. Endapan tersebut kemudian diambil menggunakan pipet Pasteur dan diteteskan pada ujung gelas objek I (2 cm dari tepi).

Pembuatan preparat oles dilakukan dengan meletakkan gelas objek lainnya (gelas objek II) dengan posisi membentuk sudut  $45^\circ$  diatas gelas objek I lalu ditarik berlawanan arah hingga membentuk lapisan oles yang tipis dan rata. Sediaan yang telah kering selanjutnya difiksasi dengan cara direndam dalam larutan metanol absolut selama 3 menit kemudian dikeringanginkan sehari semalam.

#### 3.4.10 Pewarnaan dan Penutupan Sediaan

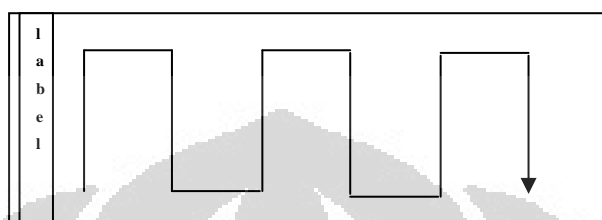
Sediaan yang telah kering sempurna dimasukkan ke dalam *staining jar* yang berisi larutan May-Gruenwald pekat selama 3 menit lalu diangkat. Sediaan tersebut kemudian direndam dalam larutan May-Gruenwald yang telah diencerkan dalam akuades dengan perbandingan 1:1 selama 2 menit lalu dibilas menggunakan akuades sebanyak 2 kali. Selanjutnya sediaan direndam dalam larutan Giemsa yang diencerkan dengan akuades sebanyak 2 kali. Selanjutnya sediaan dipindahkan ke dalam larutan Giemsa-dapar fosfat pH 6,9 dengan perbandingan 7:160 selama 10 menit. Sediaan dibilas kembali dengan akuades kemudian dikeringanginkan. Sediaan tersebut kemudian direndam selama  $\pm 10$  menit dalam larutan xilol. Sediaan selanjutnya diangkat, ditetesi dengan entelan, dan ditutup dengan gelas penutup (Sumpena *dkk.* 2009: 35).

#### 3.4.11 Pengamatan Sediaan

Sediaan diamati di bawah mikroskop medan terang dengan perbesaran 10x100 dan menggunakan minyak imersi yang diteteskan di permukaan sediaan. Jumlah sel eritrosit polikromatik (PCE) dihitung menggunakan bantuan *counter*

dan jumlah mikronukleus yang terdapat dalam PCE dicatat. Penghitungan jumlah mikronukleus dilakukan pada 2.000 PCE.

Pengamatan dan perhitungan dilakukan dengan metode *score blind*, yaitu menutup label pada gelas objek sebelum dilakukan pengamatan agar penghitungan dilakukan secara objektif.



Gambar 3.4.11 Pola pengamatan pada gelas objek

#### 3.4.12 Pengolahan dan Analisis Data

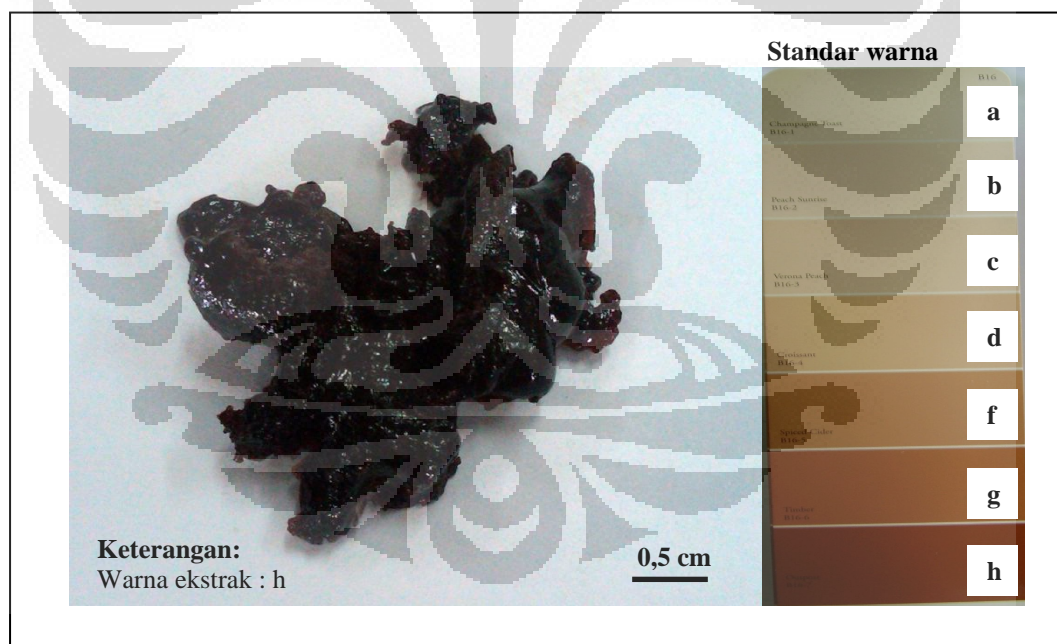
Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental sehingga analisis data dilakukan dengan menggunakan pendekatan statistik. Data hasil pengamatan jumlah mikronukleus per 2.000 PCE pada mencit jantan disusun dalam tabel (Lampiran 2). Data diolah dengan menggunakan *Statistical Products and Service Solution* (SPSS) versi 17.0 for Windows. Uji Kolmogorov-Smirnov digunakan untuk mengetahui normalitas distribusi data. Uji homogenitas Levene digunakan untuk mengetahui homogenitas variansi data. Analisis data dilanjutkan dengan melakukan uji statistik nonparametrik Kruskal-Wallis karena data yang didapatkan tidak berdistribusi normal. Hasil uji disimpulkan dengan cara membandingkan nilai taraf nyata ( $\alpha$ ) dengan nilai probabilitas (P) yang diperoleh melalui komputasi SPSS 17.0. Hasil perhitungan statistik yang didapat kemudian dijelaskan secara deskriptif.

## BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Ekstrak kasar

Berat basah total *Holothuria atra* yang didapat dari Pulau Pari, Kepulauan Seribu adalah 2534 g (43 individu). Berat ekstrak kasar yang diperoleh yaitu 31,8 g (0,79 %). Persentase ekstrak kasar *H. atra* yang diperoleh pada penelitian sesuai dengan hasil penelitian Elyakov (1973: 327) yang menyatakan bahwa persentase ekstrak kasar *H. atra* berkisar antara 0,5--2,5% dari berat basahnya. Ekstrak kasar yang diperoleh berstruktur pasta mengeras berwarna *outpost* (B16-7) berdasarkan standar warna *ACE Paint* (Gambar 4.1.1).

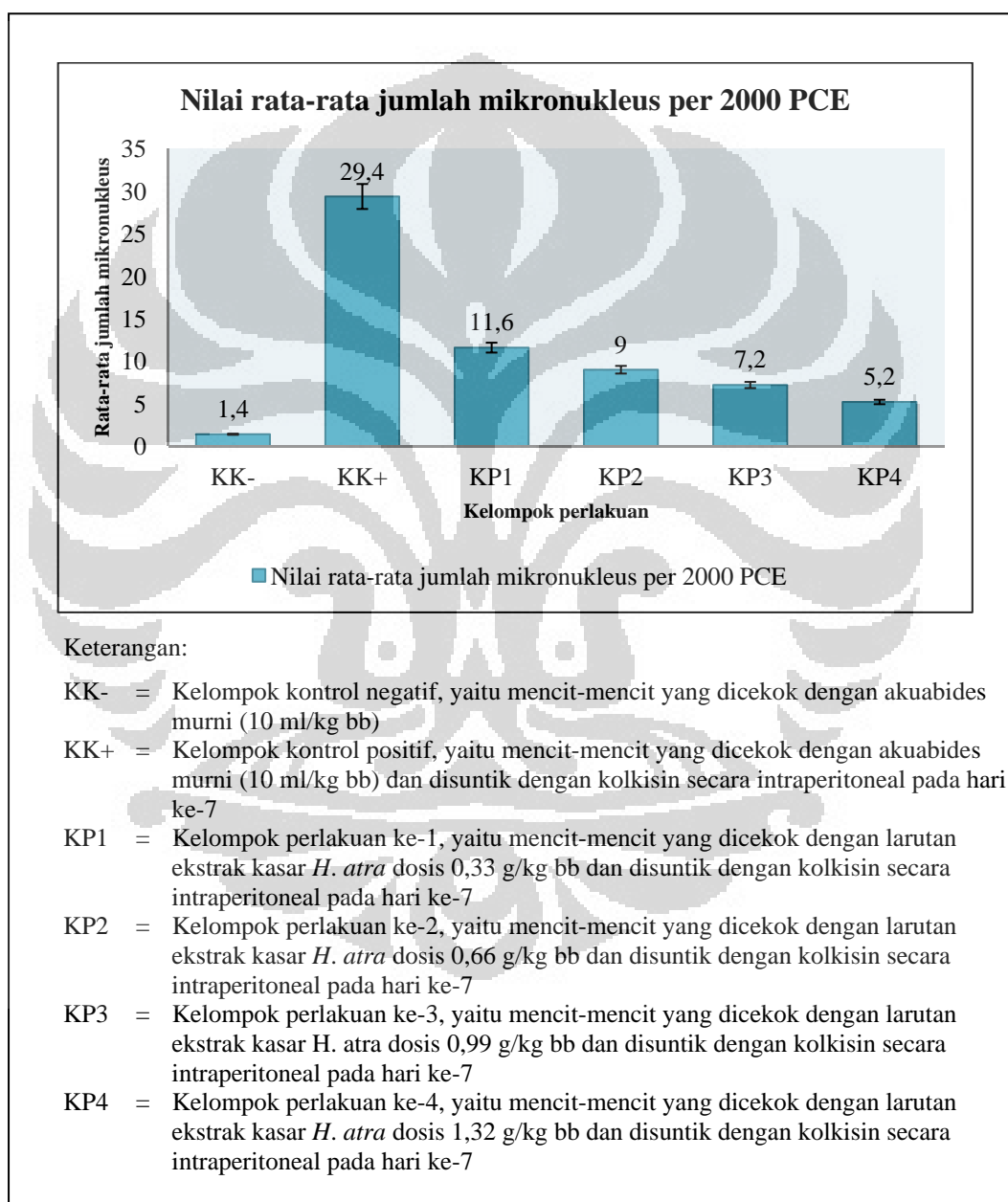


Gambar 4.1.1 Ekstrak kasar *H. atra*

#### 4.1.2 Jumlah mikronukleus

Data rata-rata jumlah mikronukleus yang terbentuk per 2000 PCE (PCE) mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak *H. atra* adalah sebagai berikut: KK-

(kelompok kontrol negatif) =  $1,40 \pm 0,548$ ; KK+ (kelompok kontrol positif) =  $29,40 \pm 3,647$  (0,07%); KP1 (dosis 0,33 g/kg bb) =  $11,60 \pm 3,05$  (1,47%); KP2 (dosis 0,66 g/kg bb) =  $9,00 \pm 2,00$  (0,58%); KP3 (dosis 0,99 g/kg bb) =  $7,20 \pm 2,49$  (0,36%); dan KP4 (dosis 1,32 g/kg bb) =  $5,2 \pm 1,304$  (0,26%). Diagram batang dari rata-rata jumlah mikronukleus yang dihitung pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.1.2.



Gambar 4.1.2 Diagram batang persentase rata-rata jumlah mikronukleus

Hasil uji normalitas dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov

terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 PCE menunjukkan bahwa data tersebut tidak berdistribusi normal walaupun data tersebut telah ditransformasi menggunakan log, ln, dan akar kuadrat ( $\alpha = 0,05$ ; Lampiran 4). Hasil uji homogenitas Levene terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 PCE menunjukkan bahwa data tersebut tidak bervariasi homogen (Lampiran 5). Dengan demikian, data tidak memenuhi syarat untuk uji statistik parametrik. Pengolahan data dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis.

Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap data rata-rata jumlah mikronukleus diperoleh nilai  $p = 0,000$ . Nilai  $p < 0,05$ ; sehingga dari hasil uji tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata jumlah mikronukleus yang nyata antar kelompok perlakuan (Lampiran 6). Pengujian dilanjutkan dengan melakukan uji perbandingan berganda (*multiple comparison test*) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata jumlah mikronukleus antar pasangan kelompok perlakuan.

Hasil uji perbandingan berganda menunjukkan bahwa pemberian larutan ekstrak dosis 0,33 (KP1); 0,66 (KP2); 0,99 (KP3); dan 1,32 g/kg bb (KP4) memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok kontrol negatif (KK-) dan positif (KK+). Kelompok perlakuan 1 (KP1) memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok perlakuan 3 (KP3) dan kelompok perlakuan 4 (KP4) (Lampiran 7).

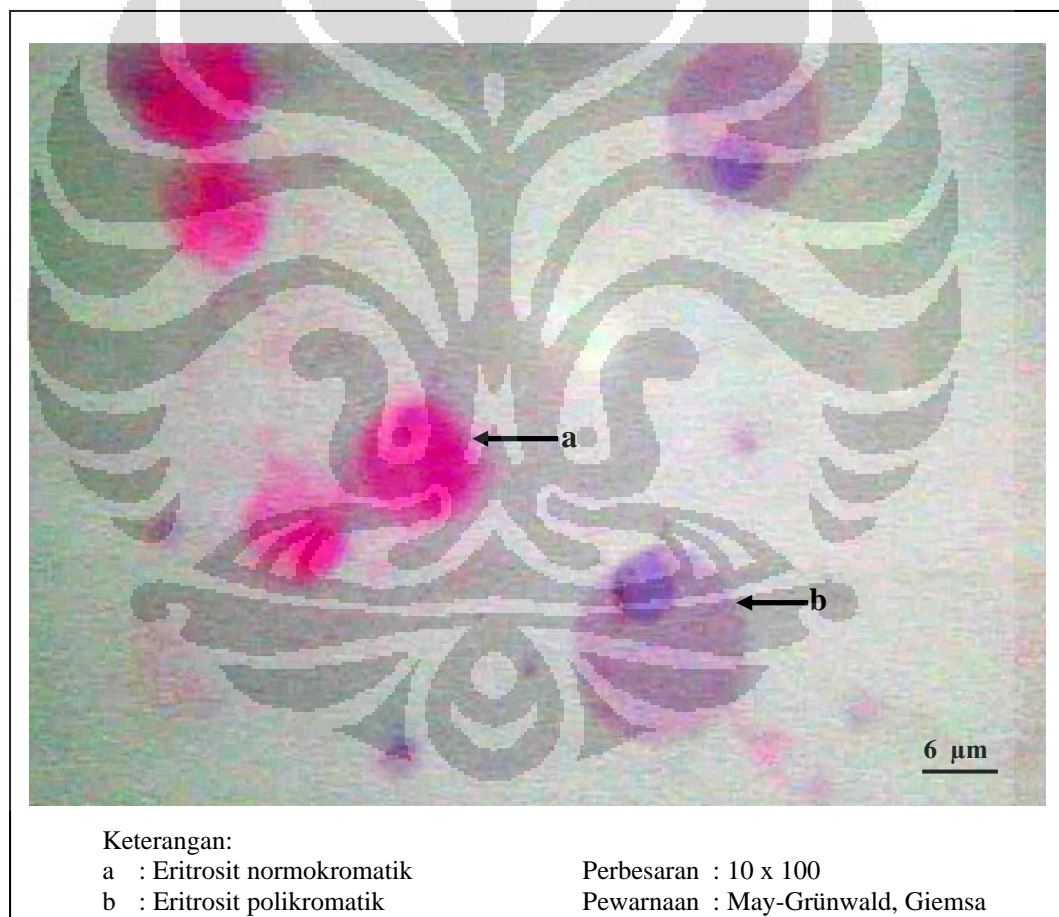
Tabel 4.1.2 Hasil uji perbandingan berganda

	KK-	KK+	KP1	KP2	KP3	KP4
KK-		28.000*	17.800*	20.400*	22.200*	-24.200*
KK+			10.200*	7.600*	5.800*	3.800*
KP1				2.600	-4.400*	-6.400*
KP2					-1.800	-3.800*
KP3						-2.000
KP4						

Keterangan: \* = berbeda nyata

## 4.2 Pembahasan

Pengamatan jumlah sel yang mengandung mikronukleus dilakukan pada sel eritrosit polikromatik (PCE) karena mudah dikenali dari warnanya yang relatif kontras dibandingkan sel lain, seperti eritrosit normokromatik (NCE). PCE dapat dibedakan dari NCE dengan pewarnaan May-Grünwald dan Giemsa. PCE berwarna kebiruan, sedangkan NCE berwarna merah muda (Gambar 4.2(1)). PCE merupakan sel eritrosit muda yang baru mengalami mitosis dan sintesis DNA, serta mengandung banyak ribosom. Selain warnanya relatif kontras dengan sel yang lain, PCE juga berukuran relatif besar (11--15  $\mu\text{m}$ ) (Sumpena *dkk.* 2009: 33).

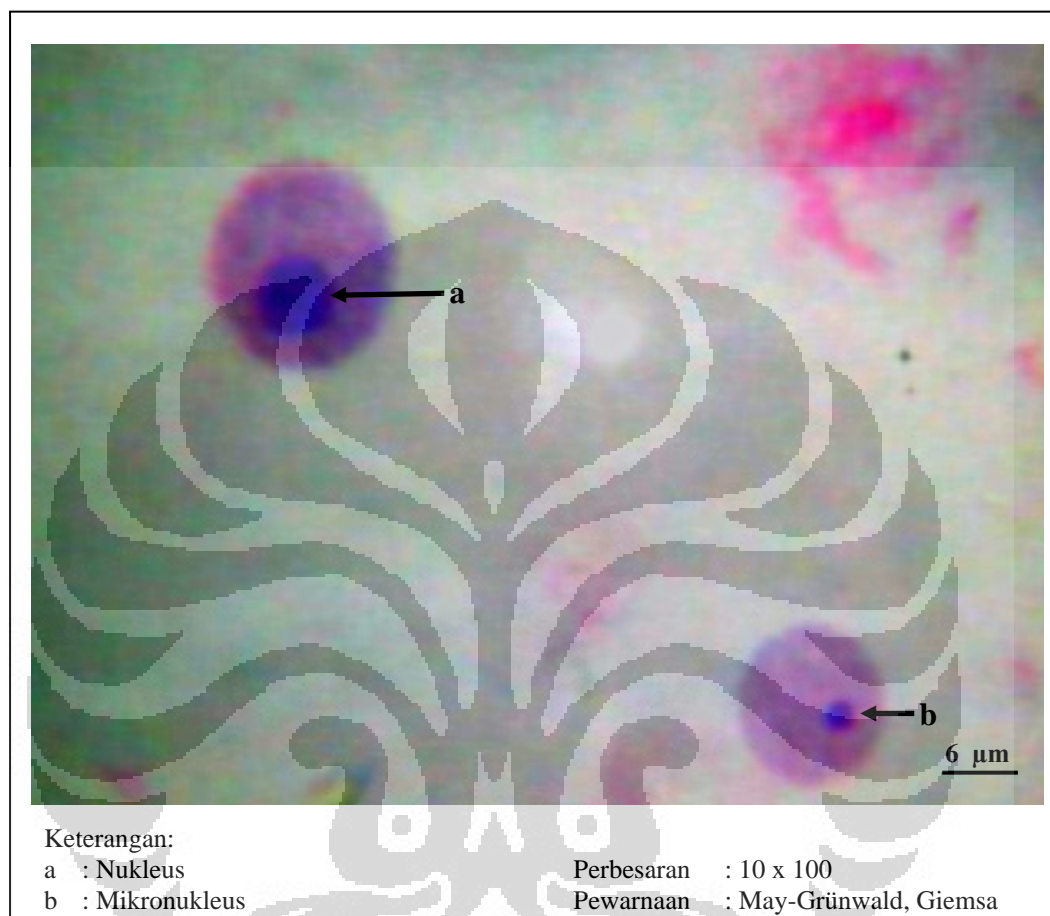


Gambar 4.2(1) Eritrosit normokromatik (NCE) dan eritrosit polikromatik (PCE)

Dari hasil pengamatan terhadap PCE yang mengandung mikronukleus, umumnya ditemukan 1 mikronukleus dalam satu sel (Gambar 4.2(2)).



Penghitungan jumlah sel yang mengandung mikronukleus dilakukan pada 1000--2000 PCE (Krishna & Hayashi 2000: 155). Pada penelitian dilakukan penghitungan terhadap 2000 PCE mencit (Hayes *dkk.* 2009: 419).

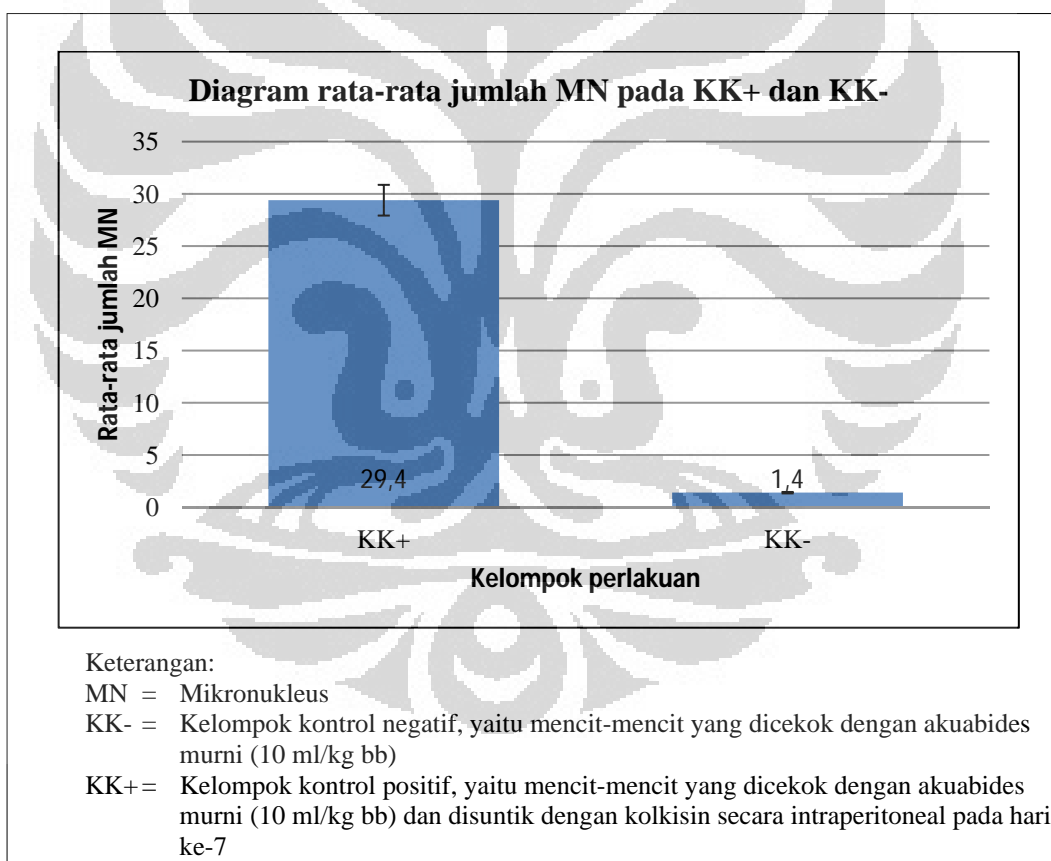


Gambar 4.2(2) Mikronukleus pada PCE

Kelompok kontrol positif (KK+) yaitu kelompok mencit yang dicekok akuabides dan disuntik kolkisin memiliki rata-rata jumlah mikronukleus paling banyak ( $29,40 \pm 3,647$ ) dibandingkan dengan dengan keempat kelompok perlakuan yang dicekokkan larutan ekstrak kasar *H. atra*. Kelompok kontrol negatif (KK-), yaitu kelompok mencit yang dicekok akuabides memiliki rata-rata jumlah mikronukleus paling sedikit ( $1,40 \pm 0,548$ ). Berdasarkan hal tersebut, mikronukleus yang terbentuk pada kelompok kontrol positif (KK+) merupakan hasil induksi kolkisin, sedangkan mikronukleus yang terbentuk pada kelompok kontrol negatif (KK-) adalah mikronukleus yang terbentuk secara alami. Jumlah

mikronukleus yang terbentuk secara alami adalah sekitar 20 mikronukleus per 10540 PCE (Sahu *dkk.* 1981: 72).

Kolkisin mampu berikatan dengan dimer tubulin. Dimer tubulin adalah protein yang akan berpolimerasi membentuk filamen mikrotubulus. Apabila pembentukan filamen mikrotubulus terhambat maka benang spindel tidak akan terbentuk atau terbentuk dalam keadaan tidak normal. Hal tersebut mengakibatkan kromosom tidak dapat memisahkan diri ke arah kutub masing-masing sehingga terbentuk mikronukleus dari kromosom utuh (Russell 1994: 416; Suminah *dkk.* 2002: 174). Terbentuknya mikronukleus pada sel merupakan indikasi terjadinya aktivitas mutagenik yang merusak kromosom dan akhirnya memicu terjadinya kanker (Sumpena *dkk.* 2009: 33).



Gambar 4.2(3) Diagram rata-rata jumlah MN pada KK+ dan KK-

Gambar 4.1.2 menunjukkan rata-rata jumlah mikronukleus pada semua kelompok perlakuan (KK-, KK+, KP1, KP2, KP3, dan KP4). Rata-rata jumlah

mikronukleus pada KK-, KP1, KP2, KP3 dan KP4 lebih rendah dibandingkan KK+. Hasil uji nonparametrik Kruskal-Wallis membuktikan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan. Hasil uji perbandingan berganda juga menunjukkan bahwa larutan ekstrak kasar *Holothuria atra* dapat menghambat pembentukan mikroukneus pada eritrosit polikromatik mencit. Dengan demikian, hipotesis yang menyatakan bahwa pencekokan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb dapat menghambat pembentukan mikronukleus pada eritrosit polikromatik sumsum tulang mencit, diterima.

Hasil uji perbandingan berganda menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok kontrol negatif (KK-) dan kelompok kontrol positif (KK+). Jika dibandingkan dengan KK+ maka larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33 g/kg bb telah memiliki aktivitas pencegahan kanker. Hal tersebut terlihat dari terjadinya pengurangan jumlah mikronukleus dibandingkan dengan kontrol positif (KK+).

Hasil perhitungan dengan menggunakan uji perbandingan berganda menunjukkan bahwa KP1 (dosis 0,33 g/kg bb) tidak berbeda nyata dengan KP2 (dosis 0,66 g/kg bb), tetapi berbeda nyata dengan KP3 (dosis 0,99 g/kg bb) dan KP4 (dosis 1,32 g/kg bb). Hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis sebesar 100% tidak mempunyai pengaruh yang nyata terhadap jumlah mikronukleus. Peningkatan dosis sebesar 200% menunjukkan telah memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah mikronukleus. Hal tersebut menunjukkan bahwa rentang dosis yang diberikan masih terlalu kecil, sehingga perbedaan hasil antardosis tidak terlalu signifikan (Lampiran 5).

Berdasarkan tabel 4.2, penurunan jumlah mikronukleus yang terbanyak terjadi pada KP4 (dosis 1,32 g/kg bb). Persentase penurunan rata-rata jumlah mikronukleus dari KP4 dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (KK+) sebesar 82,312%. Namun, hasil persentase tersebut belum mendekati nilai rata-rata jumlah mikronukleus dari kontrol negatif (KK-). Berdasarkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan peningkatan dosis ekstrak kasar *H. atra* yang digunakan hingga rata-rata jumlah mikronukleus

mendekati KK-.

Tabel 4.2 Persentase penurunan jumlah MN terhadap KK+

Perlakuan	Jumlah rata-rata MN	Selisih rata-rata MN dengan KK+	Persentase perubahan jumlah MN
KK+	29,40	0,00	0%
KK-	1,40	28,00	0%
KP1	11,60	17,80	58,503%
KP2	9,00	20,4	69,387%
KP3	7,20	22,2	75,510%
KP4	5,20	24,2	82,312%

Keterangan:

- KK- = Kelompok kontrol negatif, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan akuabides murni (10 ml/kg bb)
- KK+ = Kelompok kontrol positif, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan akuabides murni (10 ml/kg bb) dan disuntik dengan kolkisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP1 = Kelompok perlakuan ke-1, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33 g/kg bb dan disuntik dengan kolkisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP2 = Kelompok perlakuan ke-2, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,66 g/kg bb dan disuntik dengan kolkisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP3 = Kelompok perlakuan ke-3, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,99 g/kg bb dan disuntik dengan kolkisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP4 = Kelompok perlakuan ke-4, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 1,32 g/kg bb dan disuntik dengan kolkisin secara intraperitoneal pada hari ke-7

Ramel *dkk.* pada tahun 1986 (lihat Astuti & Kusmana 1995: 5)

menyatakan bahwa suatu senyawa diduga dapat mencegah terjadinya kanker melalui mekanisme penangkalan radikal bebas (antioksidan), menginaktivasi senyawa karsinogenik secara kimiawi maupun secara enzimatik dan menstimulasi sistem perbaikan DNA. Ekstrak kasar *H. atra* yang didapatkan dari proses ekstraksi sebelumnya merupakan campuran dari berbagai senyawa kompleks dan bukan merupakan senyawa aktif yang telah diisolasi secara terpisah. Berdasarkan pelarut ekstrak kasar yang digunakan dalam penelitian, senyawa-senyawa kimia yang diduga terdapat dalam ekstrak kasar adalah senyawa yang larut dalam air. Oleh karena itu, penurunan jumlah mikronukleus pada PCE mencit diduga

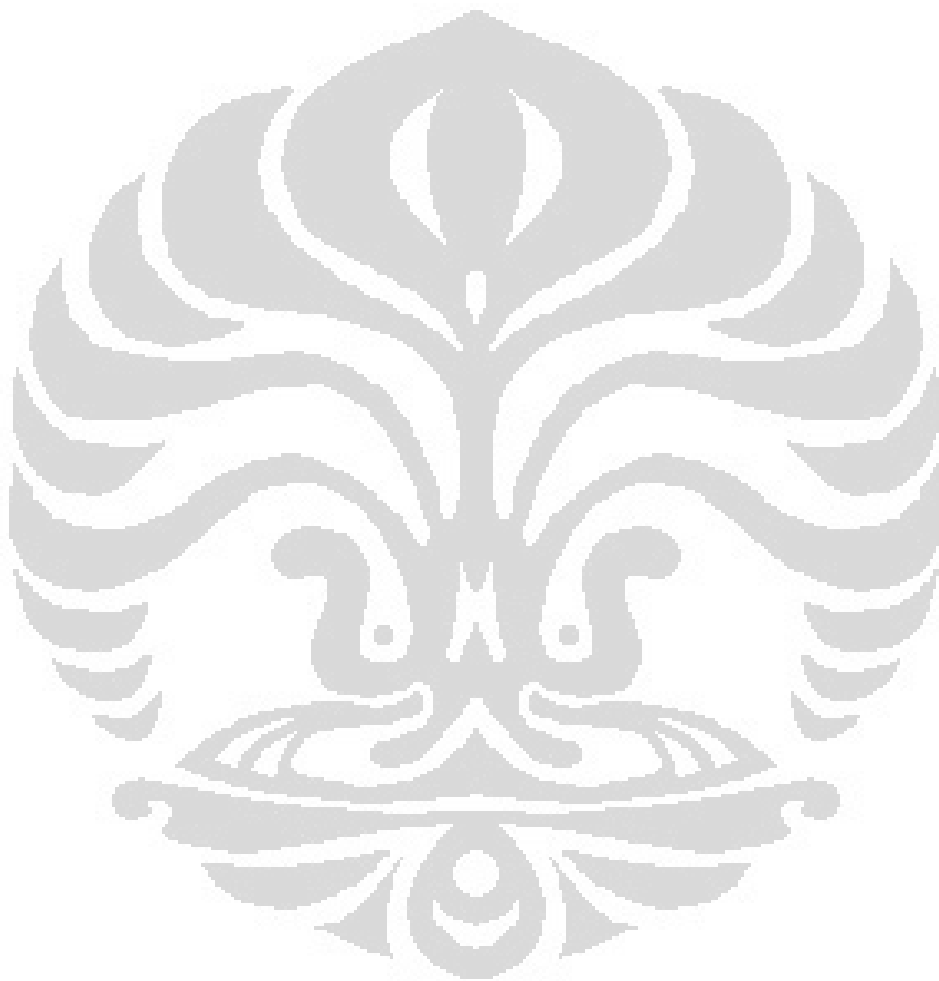
merupakan hasil interaksi dari beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak kasar *H. atra*.

Menurut Bordbar (2011: 1762), ekstrak kasar teripang dapat berfungsi sebagai imunostimulan dan antioksidan. Teripang diketahui mengandung vitamin E, vitamin C, gangliosida, lektin, kondroitin sulfat, sterol bebas, triterpen glikosida (holothurin A dan B), flavonoid, glikolipid dan lain-lain (Zou *dkk.* 2003: 1055; Zhang *dkk.* 2006: 1494). Senyawa flavonoid dan kolagen diketahui dapat menangkal radikal bebas, baik dari hasil metabolisme maupun faktor luar seperti polusi, radiasi dan paparan senyawa karsinogenik (Hawa *dkk.* 1999: 57; Wang *dkk.* 2009: 94). Berdasarkan Zakaria (2001: 171) keberadaan radikal bebas dapat ditekan dengan keberadaan antioksidan. Antioksidan mampu menekan aktivitas radikal bebas dengan cara mengikat elektron bebas pada radikal bebas yang mampu merusak DNA. Dalam hal ini, kolkisin yang diinjeksikan pada mencit dianggap sebagai radikal bebas dan ekstrak kasar *H. atra* berperan sebagai antioksidan.

Ekstrak kasar teripang dapat berfungsi sebagai imunostimulan dan imunomodulator karena teripang mengandung asam amino bebas yaitu alanin, arginin, sistein, glisin, asam glutamat, histidin, lisin, dan valin (Qi *dkk.* 2007). Glisin dapat menstimulasi pembentukan dan pelepasan interleukin 2 (IL-2) dan antibodi dari sel B, selain itu glisin juga berperan dalam merangsang terjadinya fagositosis. Glisin dan asam glutamat merupakan komponen penting dalam proses sintesis *glutathione* yang berfungsi menstimulasi aktivasi dan proliferasi sel *natural killer* (NK). Arginin dapat meningkatkan imunitas sel dengan cara meningkatkan aktivasi dan proliferasi sel T (Bordbar *dkk.* 2011: 1771).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan ekstrak kasar *H. atra* memiliki aktivitas pencegahan kanker mulai dosis 0,33 g/kg bb sampai 10,0 g/kg bb. Hal tersebut ditunjukkan oleh penurunan rata-rata jumlah mikronukleus pada kelompok perlakuan yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99 dan 1,32 g/kg bb jika dibandingkan dengan rata-rata jumlah mikronukleus pada kelompok kontrol positif (KK+). Kecenderungan rata-rata jumlah mikronukleus hingga dosis tertinggi (1,32 g/kg bb) masih terus menurun.

Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut dengan peningkatan dosis larutan ekstrak kasar *H. atra* hingga ditemukan dosis optimal.



## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa larutan ekstrak kasar *Holothuria atra* dosis 0,33; 0,66; 0,99; dan 1,32 g/kg bb telah memiliki aktivitas pencegahan kanker dengan parameter penurunan jumlah mikronukleus pada 2000 sel eritrosit polikromatik mencit.

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang bersifat pencegah kanker dan mekanisme senyawa tersebut dalam proses penghambatan pembentukan mikronukleus.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak kasar *H. atra* sebagai pencegah kanker dengan dosis yang lebih tinggi hingga menemukan dosis yang optimum.

## DAFTAR REFERENSI

- Albuntana, A. 2010. Uji toksisitas empat jenis teripang dari suku Holothuriidae dari pulau Penjaliran Timur Taman Nasional Kepulauan Seribu Jakarta menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi Universitas Indonesia, Depok: ix + 32 hlm.
- Althunibat, O.Y., R. bin Hashim, M. Taher, J.M. Daud, M.A. Ikeda & B.I. Zali. In vitro antioxidant and proliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. *European Journal of Scientific Research* **37**(3): 376--387.
- Arnold, P.W. & R.A. Birtles. 1989. *Soft sediment marine invertebrates of southeast asia and Australia: a guide to identification*. Australian Institutes of Marine Science. Australia: xvi + 272 hlm.
- Astuti, D.P. & D. Kusmana. 1995. *Evaluation of antimutagenic activity of galanga (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) in mice in vivo by the bone marrow micronuclei method*. Research Institute of Science, University of Indonesia. Depok: 8 hlm.
- Atmakusuma, D. 2011. Falsafah dan prinsip dasar pengoobatan kanker secara medik dengan obat antikanker. *Dalam* G. Soehartati, R.A. Aman, A. Rachman, A.S.D. Suriadiredja, E. Syahrudin, D.L. Tobing & A. Munandar (eds) . *Basic science of oncology*. Badan Penerbit FKUI, Jakarta: 430--439.
- Aziz, A. 1995. Beberapa catatan tentang teripang bangsa Aspidochirotida. *Oseana* **20**(4): 11--23.
- Aziz, A. 1997. Status penelitian teripang komersial di Indonesia. *Oseana* **22**(1): 9--19.
- Bakus, G.J. 1973. Toxicity in holothurians: a geographical pattern. *Biotropica* **6**(4): 229--236.
- Bandaranayake, W.M. & A.D. Rocher. 1999. Role of secondary metabolites and pigments in the epidermal tissues, ripe ovaries, viscera, gut contents and diet of the sea cucumber *Holothuria atra*. *Marine Biology* **133**: 163--169.
- Bolognesi, C. & M. Hayashi. 2011. Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis* **26**(1): 205--213.



- Bonham, K. & E.E. Held. 1963. Ecological observations on the sea cucumber *Holothuria atra* and *Holothuria leucospilota* at Rongelap Atoll, Marshall Islands. *Pacific Science* **17**: 305--314.
- Bordbar, S., F. Anwar & N. Saari. 2011. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods — a review. *Marine drugs* **9**: 1761--1805.
- Campbell, N.A., J.B. Reece & L.G. Mitchell. 2002. *Biologi*. terj. dari *Biology*, oleh R. Lestari, E.I.M. Adil & N. Anita. Penerbit Erlangga. Jakarta: xxi + 433 hlm.
- Careaga, V.P., C. Bueno, C. Muniain, L. Alche & M.S. Maier. Antiproliferative, cytotoxic and hemolytic activities of a triterpene glycoside from *Psolus patagonicus* and its desulfated analog. *Chemotherapy* **55**: 60--68.
- Darsono, P. 1998. Pengenalan secara umum tentang teripang (holothurians). *Oseana* **23**(1): 1--8.
- Darsono, P. 1999. Reproduksi A-seksual pada teripang. *Oseana* **24**(2): 1--11.
- Darsono, P. 2003. Sumberdaya teripang dan pengelolaannya. *Oseana* **28**(2): 1--9.
- Dyck, S. Van, P. Gerbaux & P. Flammang. 2010. Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumbers from Indian ocean. *Marine Drugs* **8**: 173--189.
- Elyakov, G.B., V.A. Stonik, E.V. Levina, V.P. Slanke, T.A. Kuznetsova & V.S. Levin. 1973. A comparative study of the glycoside fractions of Pacific sea cucumbers. *Perg. Press.* **44B**. 325--336.
- EPA (= Environmental Protection Agency). 10 April 1999. Colchicine. <http://www.epa.gov/enviro.html>, 29 September 2011, pk. 4.48.
- Fajarningsih, N.D., H.I. Januar, M. Nursid & T. Wikanta. Potensi antitumor ekstrak spons *Crella papilata* asal Taman Nasional Laut Kepulauan Seribu. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* **1**(1): 35--41.
- Fenech, M., M.K. Volders, A.T. Natarajam, J. Surralles, J.W. Crott, J. Parry, H. Norppa, D.A. Eastmond, J.D. Tucker & P. Thomas. 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis* **26**(1): 125--132.

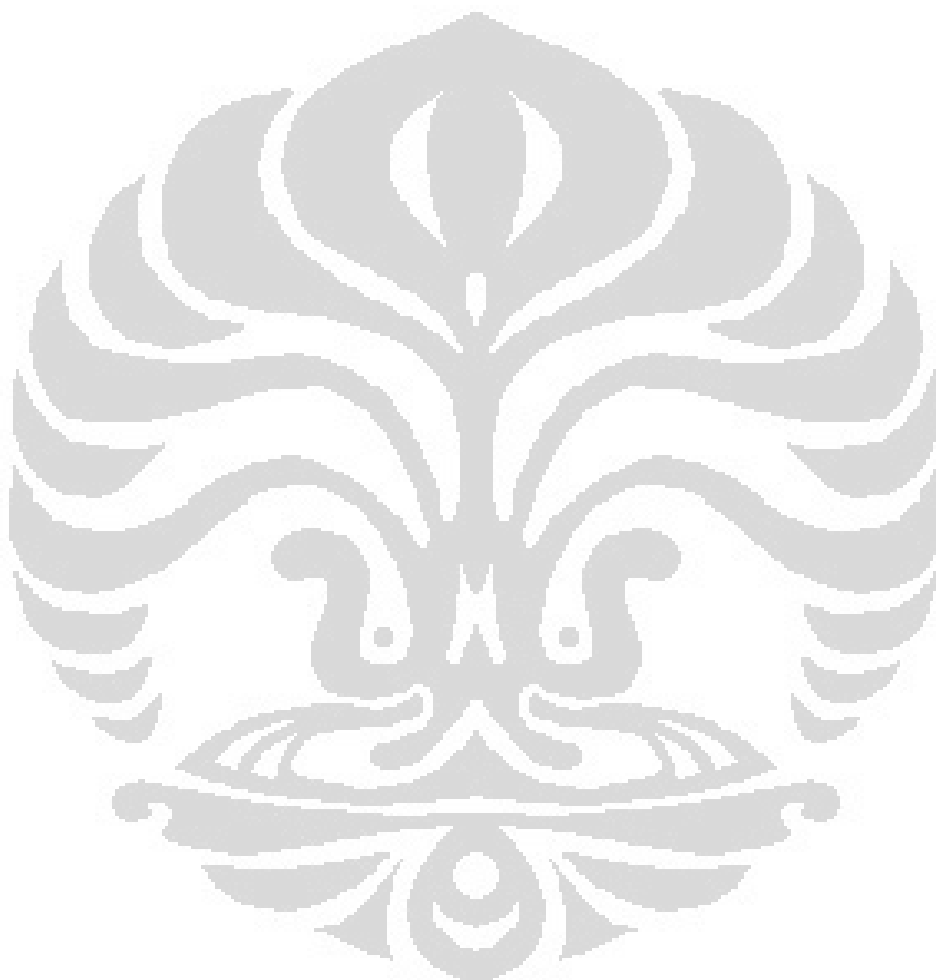
- Haryana, S.M. 2011. Mutagenesis dan transformasi. *Dalam* G. Soehartati, R.A. Aman, A. Rachman, A.S.D. Suriadiredja, E. Syahrudin, D.L. Tobing & A. Munandar (eds.) . *Basic science of oncology*. Badan Penerbit FKUI, Jakarta: 124--130.
- Hawa, I., M. Zulaikah, M. Jamaludin, Z.A.A. Abidin, M.A. Kaswandi & B.H. Ridzwan. 1999. The potential coelomic fluid in sea cucumbers as an antioxidant. *Malaysian Journal of Nutrition* **5**: 55--59.
- Hayes, J., A.T. Doherty, D.J. Adkins, K. Oldman & M.R. O'Donovan. 2009. The rat bone marrow micronucleus test—study design and statistical power. *Mutagenesis* **24**(5): 419--424.
- Heddle, J.A, M. Fenech, M. Hayashi & J.T. MacGregor. Reflections on the development of micronucleus assays. *Mutagenesis* **26**(1): 3--10
- Hutauruk, E.L. 2009. Studi keanekaragaman Echinodermata di kawasan perairan Pulau Rubiah Nanggroe Aceh Darussalam. Skripsi Universitas Sumatera Utara. Medan: x + 45 hlm.
- Junqueira, L., C.J. Carneiro & R.O. Kelly. 1997. *Histologi dasar*. Terj. Dari *Basic histology*, oleh Tambajong, J. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: xiii + 496 hlm.
- Krishna, G. & M. Hayashi. 2000. In vivo rodent microucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutation Research* **455**: 155--166.
- Kumar, R., A.K. Chaturvedi, P.K. Shukla & V. Lakshmi. 2007. Antifungal activity in triterpene glycosides from the sea cucumber *Actinopyga lecanora*. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters* **17**: 4387--4391.
- Lu, F.C. & S. Kacew. 2002. *Lu's basic toxicology: Fundamentals, target organs and risk assesment*. 4th ed. Taylor & Francis, London: xv + 386 hlm.
- Malole, M.B. & C.S.V. Pramono 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor: vii + 161 hlm.
- Marrazzini, A., C. Betti, F. Bernacchi, I. Barrai & R. Barale. 1994. 1 hlm. Micronucleus test and metaphase analysis in mice exposed to known and suspected spindle poisons.

- <http://www.mutage.oxfordjournals.org/content/916/505>. 29 September 2011, pk. 5.28.
- Mayer, A.M.S. & K.R. Gustafson. 2004. Marine pharmacology in 2003–2004: Anti-tumour and cytotoxic compounds. *European Journal of Cancer* **42**: 2241--2270.
- Nasuroh. 2003. Uji potensi mutagenik infus rimpang kunyit (*Curcuma domestica* L.) melalui uji mikronukleus sumsum tulang mencit (*Mus musculus* L.) jantan galur DDY. Skripsi Universitas Indonesia. Depok: xii + 52 hlm.
- Ngatidjan. 1991. *Petunjuk laboratorium: metode laboratorium dalam toksikologi*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta: x + 283 hlm.
- NLM (=National Library of Medicine). 2009. Colchicine. <http://www.toxnet.nlm.nih.gov.htm/>. 19 September 2011, pk. 14.23.
- Nontji, Anugerah. 2002. *Laut Nusantara*. Penerbit Djambatan, Jakarta: 368 hlm.
- Norppa, H. & G.C.M. Falck. 2003. What do human micronuclei contain?. *Mutagenesis* **18**(3): 221--233.
- Pechenik, J.A. 1996. *Biology of the invertebrates*. 3rd ed. McGraw-Hill, Boston: xvii + 555 hlm.
- Purwati, P. 2005. Teripang Indonesia: komposisi jenis dan sejarah perikanan. *Oseana* **30**(2): 11--18.
- Qi, H., X.P. Dong, L.N. Gao, L. Liu, T. Mikiro & B.W. Zhu. 2007. Purification and characterization of a cystein-like protease from the body wall of the sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Fish Physiology and Biochemistry* **33**(1): 81--188.
- Rasyid, A. 2008. Biota laut sebagai sumber obat-obatan. *Oseana* **33**(1): 11--18.
- Russell, P.J. *Fundamental of genetic*. Harper Collins Publishers, New York: xvi + 622 hlm.
- Schupp, P.J. 2000. Structure elucidation, biological activity and ecology of secondary metabolites from Micronesian marine invertebrates. Disertasi Universitas Würzburg, Würzburg: viii + 201 hlm.

- Smith, J.B. & S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta: ix + 257 hlm.
- Suminah, Sutarno & A.D. Setyawan. 2001. Induksi poliploidi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan pemberian kolkisin. *Biodiversitas* **3**(1): 174--180.
- Sumpena, Y., R. Sofyan & R. Rusilawati. 2009. Uji mutagenitas benzo( $\alpha$ )piren dengan metode mikronukleus pada sumsum tulang mencit albino (*Mus musculus*). *Cermin Dunia Kedokteran* **36**(1): 33--36.
- Suriyanto. 2010. Uji toksisitas ekstrak teripang (*Holothuria* spp.) dari Pulau Penjaliran Timur Taman Nasional Kepulauan Seribu Jakarta menggunakan *brine shrimp lethality test*. Skripsi Universitas Indonesia. Depok: xiii + 35 hlm.
- Tyrkiel, E., B. Wiadroska & J.K. Ludeicki. 1996. 1 hlm. Induction of micronuclei in erythrocytes of bone marrow and peripheral blood in laboratory mice following acute and subchronic exposure to DDT (penarimol and nuarimol). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9064736>. 20 September 2011, pk. 12.37.
- Wahnschaffe, U., A Bitsch, J. Kielhorn & I. Mangelsdorf. 2005. 14 hlm. Mutagenicity testing with transgenic mice. Part I: Comparison with the mouse bone marrow micronucleus test. <http://www.carcinogenesis.com/content/4/1/3>. 19 September 2011, pk. 14.15.
- WHO (=World Health Organization). 1988. *Penuntun laboratorium WHO untuk pemeriksaan semen manusia dan interaksi semen servik*. Ed ke-2. Terj. Dari *WHO examination of human semen and semen-cervical mucus interaction*. 2nd ed. Oleh Tadjudin. Balai Penerbit Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta: xiv + 81 hlm.
- Yusron, E. 2004. Sumberdaya teripang di perairan Tanjung Pai Padaido Biak Numfor Papua. *Makara* **8**(3): 123--127.
- Zakaria, F. R. 2001. Pangan dan pencegahan kanker. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* **12**(2): 171--177.

Zhang, S.Y., Y.H. Yi, & H.F. Tang. 2006. Cytotoxic sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Pseudocolochirus violaceus*. *Chemistry & Biodiversity* **3**: 807--817.

Zou, Z., Y. Yi, H. Wu, J. Wu, C. Liaw & K. Lee. 2003. Intercedencides a-c, three new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* Lampert. *Journal of Natural Product* **66**: 1055--1060.



Lampiran 1. Data pengamatan jumlah mikronukleus per 2000 PCE

Ulangan	Jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik mencit					
	KK-	KK+	KP1	KP2	KP3	KP4
1	2	34	15	8	5	7
2	1	29	9	8	7	6
3	1	27	12	7	11	4
4	1	25	8	10	5	5
5	2	32	14	12	8	4
$\bar{X} \pm SD$	$1,40 \pm 0,548$	$29,40 \pm 3,647$	$11,60 \pm 3,050$	$9,00 \pm 2,00$	$7,20 \pm 2,490$	$5,20 \pm 1,304$

Keterangan:

- KK- = Kelompok kontrol negatif, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan akuabides mumi (10 ml/kg bb)
- KK+ = Kelompok kontrol positif, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan akuabides mumi (10 ml/kg bb) dan disuntik kolkisin secara intrapentoneal pada hari ke-7
- KP1 = Kelompok perlakuan ke-1, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33 g/kg bb dan disuntik kolkisin secara intrapentoneal pada hari ke-7
- KP2 = Kelompok perlakuan ke-2, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,66 g/kg bb dan disuntik kolkisin secara intrapentoneal pada hari ke-7
- KP3 = Kelompok perlakuan ke-3, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,99 g/kg bb dan disuntik kolkisin secara intrapentoneal pada hari ke-7
- KP4 = Kelompok perlakuan ke-4, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 1,32 g/kg bb dan disuntik kolkisin secara intrapentoneal pada hari ke-7
- $\bar{X}$  = Rata-rata jumlah mikronukleus
- SD = Standar deviasi

Lampiran 2. Data perhitungan jumlah mikronukleus per 2000 PCE dan peringkatnya

Perlakuan Ulangan	KK-		KK+		KP1		KP2		KP3		KP4	
	Σ MN	R	Σ MN	R	Σ MN	R	Σ MN	R	Σ MN	R	Σ MN	R
1	2	4,5	34	30	15	25	8	16,5	5	9	7	13
2	1	2	29	28	9	19	8	16,5	7	13	6	11
3	1	2	27	27	12	23	7	8	11	21	4	6,5
4	1	2	25	26	8	16,5	10	20	5	9	5	9
5	2	4,5	32	29	14	24	12	22	8	16,5	4	6,5
Σ	7	15	147	140	58	107,5	45	83	36	68,5	26	46

**Keterangan:**

- KK- = Kelompok kontrol negatif, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan aquabides murni (10 ml/kg bb)
- KK+ = Kelompok kontrol positif, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan aquabides murni (10 ml/kg bb) dan disuntik dengan kolikisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP1 = Kelompok perlakuan ke-1, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,33 g/kg bb dan disuntik kolikisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP2 = Kelompok perlakuan ke-2, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,66 g/kg bb dan disuntik kolikisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP3 = Kelompok perlakuan ke-3, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 0,99 g/kg bb dan disuntik kolikisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- KP4 = Kelompok perlakuan ke-4, yaitu mencit-mencit yang dicekok dengan larutan ekstrak kasar *H. atra* dosis 1,32 g/kg bb dan disuntik kolikisin secara intraperitoneal pada hari ke-7
- R = Peningkat sampel

### Lampiran 3

#### Perhitungan dosis ekstrak *Holothuria atra* untuk *Mus musculus*

---

**Diketahui:**

Dosis pada manusia dewasa (per 70 kg bb) = 15--22,5 g

Faktor konversi dosis dari manusia ke *Mus musculus*  
(per 20 g bb) = 0,0026

Volume maksimum pencekokan untuk *Mus musculus* = 1 ml

**Dicari:**

Dosis untuk *Mus musculus*

**Perhitungan:**

Dosis ekstrak untuk *Mus musculus* =  $0,0026 \times 22500 \text{ mg}$   
= 58,5 mg/20 g bb  
= 2925 mg/kg bb  
= 2,925 g/kg bb

Dosis ekstrak untuk *Mus musculus* =  $0,0026 \times 15000 \text{ mg}$   
= 39 mg/20 g bb  
= 1950 mg/kg bb  
= 1,95 g/kg bb



## Lampiran 4

### Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 eritrosit polikromatik

---

#### Tujuan:

Untuk mengetahui apakah data jumlah mikronukleus berdistribusi normal atau tidak

#### Hipotesis:

$H_0$  : Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik berdistribusi normal

$H_a$  : Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik tidak berdistribusi normal

#### Taraf nyata:

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

#### Kriteria pengujian:

Jika  $p < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $p > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

#### Hasil perhitungan:

---

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
	Statistik	db	p
Hasil pengeluaran	.211	30	.002

---

a. Lilliefors Significance Correction

Nilai  $p = 0,02$ ; jika  $p < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

#### Kesimpulan:

Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik tidak berdistribusi normal

## Lampiran 5

### Uji homogenitas Levene terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik

---

#### **Tujuan:**

Untuk mengetahui apakah data jumlah mikronukleus bervariasi homogen atau tidak

#### **Hipotesis:**

$H_0$  : Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik berdistribusi normal

$H_a$  : Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik tidak berdistribusi normal

#### **Taraf nyata:**

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$

#### **Kriteria pengujian:**

Jika  $p < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

Jika  $p > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

#### **Hasil perhitungan:**

---

Levene Statistic	db1	db2	P
3.091	5	24	.027

---

Nilai  $p = 0,027$ ; jika  $p < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

#### **Kesimpulan:**

Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik tidak bervariasi homogen

## Lampiran 6

Uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan jumlah mikronukleus per 2000 eritrosit polikromatik menci

---

### Tujuan:

Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik antara ke-6 kelompok perlakuan

### Hipotesis:

$H_0$  : Tidak terdapat perbedaan jumlah mikronukleus antara ke-6 kelompok perlakuan

$H_a$  : Terdapat perbedaan jumlah mikronukleus antara ke-6 kelompok perlakuan

### Taraf nyata:

Nilai  $\alpha$  yang digunakan pada  $\alpha = 0,05$  dan  $db = 5$

### Kriteria pengujian:

$H_0$  diterima jika  $p > 0,05$

$H_0$  ditolak jika  $p < 0,05$

### Hasil perhitungan:

---

	$H_{hitung}$
Chi-Square	25.632
Db	5
p	.000

---

a. Kruskal Wallis Test

Nilai  $p = 0,000$ ; karena  $p < 0,05$ ; maka  $H_0$  ditolak

### Kesimpulan:

Data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik antara ke-6 kelompok berbeda nyata

## Lampiran 7

### Uji perbandingan berganda terhadap data jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik

#### Tujuan:

Untuk mengetahui perbedaan jumlah mikronukleus per 2000 sel eritrosit polikromatik antara pasangan perlakuan dosis

#### Hipotesis:

$H_0$  : Tidak ada perbedaan jumlah mikronukleus antara pasangan kelompok perakuan dosis

$H_a$  : Ada perbedaan jumlah mikronukleus antara pasangan kelompok perakuan dosis

#### Taraf nyata:

$\alpha = 0,05$

#### Hasil perhitungan:

Perbedaan nilai rata-rata				
(I)	(J)	(I-J)	Std. Error	Sig.
KK-	KK+	28.0000*	1.52315	.000
	KP1	17.8000*	1.52315	.000
	KP2	20.4000*	1.52315	.000
	KP3	22.2000*	1.52315	.000
	KP4	24.2000*	1.52315	.000
KK+	KK-	-28.0000*	1.52315	.000
	KP1	-10.2000*	1.52315	.000
	KP2	-7.6000*	1.52315	.000
	KP3	-5.8000*	1.52315	.001
	KP4	-3.8000*	1.52315	.020
KP1	KK-	-17.8000*	1.52315	.000
	KK+	10.2000*	1.52315	.000
	KP2	2.60000	1.52315	.101

### Lanjutan

	KP3	4.40000*	1.52315	.008
	KP4	6.40000*	1.52315	.000
KP2	KK-	-20.40000*	1.52315	.000
	KK+	7.60000*	1.52315	.000
	KP1	-2.60000	1.52315	.101
	KP3	1.80000	1.52315	.249
	KP4	3.80000*	1.52315	.020
KP3	KK-	-22.20000*	1.52315	.000
	KK+	5.80000*	1.52315	.001
	KP1	-4.40000*	1.52315	.008
	KP2	-1.80000	1.52315	.249
	KP4	2.00000	1.52315	.202
KP4	KK-	-24.20000*	1.52315	.000
	KK+	3.80000*	1.52315	.020
	KP1	-6.40000*	1.52315	.000
	KP2	-3.80000*	1.52315	.020
	KP3	-2.00000	1.52315	.202

Keterangan: \* = berbeda nyata

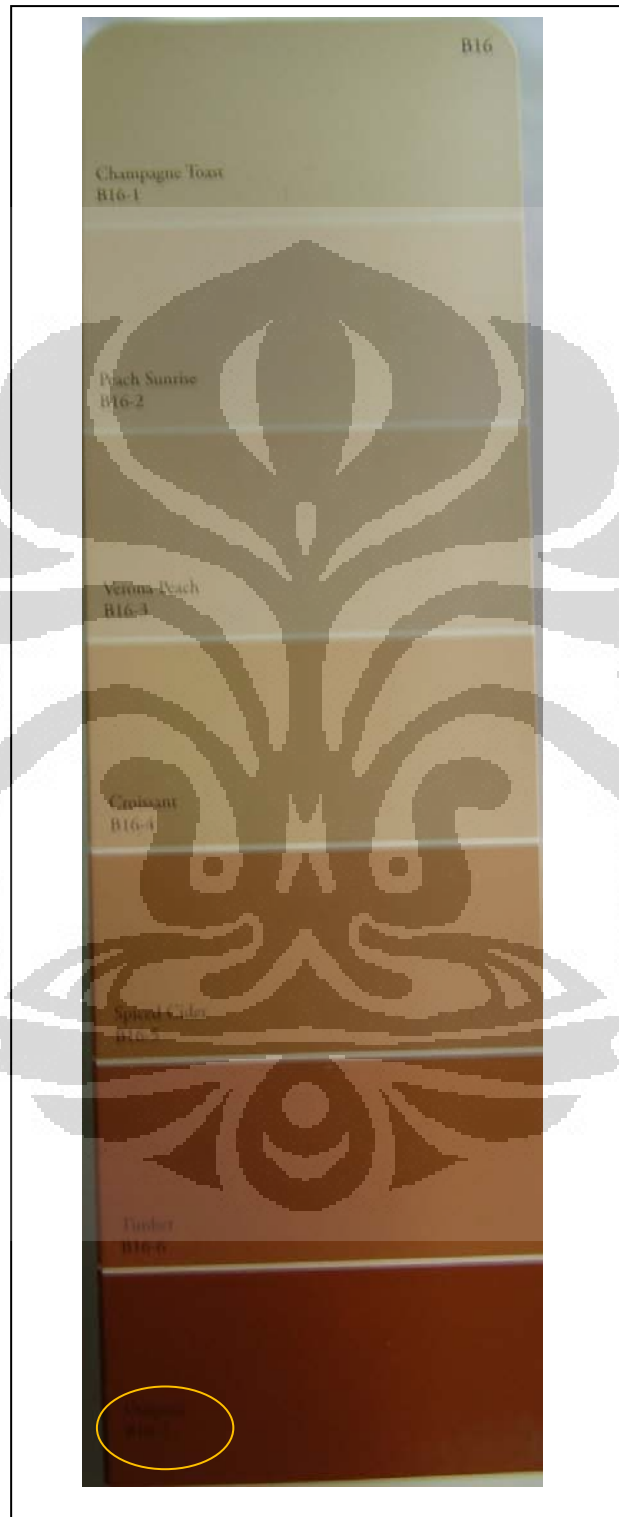
### Kesimpulan:

Terdapat perbedaan yang nyata antara pasangan kelompok perlakuan dosis 0,33; 0,66; 0,99; dan 1,32 g/kg bb dengan kelompok kontrol negatif dan positif. Terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok perlakuan ke-1 (KP1) dengan kelompok perlakuan ke-4 (KP4).

Lampiran 8

Warna ekstrak kasar berdasarkan standar warna ACE-Paint

---



Lampiran 9  
Komposisi larutan Ringer

Bahan	Jumlah (g)
NaCl	4,00
KCl	0,1
CaCl <sub>2</sub>	0,1
MgCl <sub>2</sub>	0,075
NaHCO <sub>3</sub>	0,5
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,02
Glukosa	0,5
Akuabidestilata	hingga volume-nya 500 ml

[Sumber: UPS (?): 1.]