

ANALISIS KUANTITATIF β -KAROTEN DAN UJI AKTIVITAS KAROTENOID DALAM ALGA COKLAT *TURBINARIA DECURRENS*

Fransisca Biranti¹⁾, Muhammad Nursid²⁾, Bambang Cahyono¹⁾

¹⁾ Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia MIPA Universitas Diponegoro Jl. Prof. Sudarto, Tembalang Semarang 50275, Telp/Faks 62(024)76480824, E-mail : bbc_cahyono@yahoo.com

²⁾ Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Jl. K.S. Tubun Petamburan VI Jakarta 10260, E-mail : mnursid@yahoo.co.id

ABSTRACT---One of the Indonesian marine natural resources, brown alga of *Turbinaria decurrens*, used in pharmacy in order of carotenoid pigment as antioxidant. We interested in analysis β -caroten in *Turbinaria decurrens* and antioxidant and anti-tumor activity. The method that is use to divide carotenoid is the hierarchy maseration method using n-hexane, ethyl acetate and methanol and then using chromatography column. To analyze the qualitative carotenoid uses HPLC by C_{18} column and eluen methanol-acetonitrile (3:1). Meanwhile, the test of bioactivity carotene uses radical DPPH (11-difenil-2-pikrilhidrazil) to test of antioxidant and sitotoksik assay with MTT [3,(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] for HeLa tumor cells to test of anti-tumor. The result of this research is β -caroten that is in extract has 0.00387%. Moreover, bioactivity test shows that β -caroten fraction does not active to neutralize of DPPH free radical than ascorbic acid, but it shows the activity to kill HeLa tumor cells.

Keywords : *Turbinaria decurrens*, Carotenoid, Antioksidan, Antitumor

PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam dunia kesehatan mengingat kemampuannya dalam menghambat pembentukan radikal bebas (Ladas dkk., 2004), dalam menghambat oksidasi asam nukleat, protein, lemak, DNA sehingga dapat mengurangi berbagai penyakit degeneratif serta mencegah penyakit tumor (McGee dkk., 2006).

Penelitian yang mengarah pada penemuan senyawa antioksidan yang dapat menghambat tumor akhir-akhir ini merupakan topic menarik untuk dikembangkan, sebagai contoh analisis mengenai efek dari biota laut, seperti spons *Petrosia cf. Nigricans* (Nursid dkk., 2006), spons *Sarcophyton glaucum* (Zakaria, 2006) dan alga coklat seperti *Turbinaria conoides* (Sheu dkk., 1999) disinyalir merupakan bahan yang dapat digunakan untuk keperluan tersebut.

Alga coklat dari spesies *Turbinaria* merupakan salah satu bahan yang banyak ditemukan di Indonesia, terutama di daerah rata-rata terumbu bagian luar seperti daerah

pantai Binangeun Banten dan hampir di seluruh pantai yang banyak terkena ombak langsung (Atmadja, 1996). Hasil penelitian terakhir menyatakan bahwa alga coklat *Turbinaria* sp. memiliki aktivitas terhadap sel tumor (Wikanta dkk., 2006). Menurut penelitian Chasanah dkk. (2007), diduga senyawa yang berperan besar dalam aktivitas tersebut berasal dari golongan pigmen karotenoid yang teroksidasi dalam strukturnya, yaitu fucosantin. Selain senyawa ini, alga coklat secara umum juga mengandung senyawa violaksantin, flavosantin serta neosantin a dan b, sedangkan kelompok karotenoid yang umum ditemukan dalam alga ini adalah β -karoten, yakni karotenoid yang tidak memiliki atom oksigen dalam strukturnya (Blunt dkk., 2006). Golongan senyawa ini sudah dikenal memiliki aktivitas antitumor yang baik (Clevidence dkk., 1997).

Hingga saat ini, suatu penelitian yang sistematis mengenai kandungan β -karoten dalam alga coklat *Turbinaria decurrens* yang tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan. Penelitian dimulai dengan isolasi dan

fraksinasi untuk mendapatkan karotenoid, diikuti dengan standarisasi dan diakhiri dengan analisis pemanfaatan sebagai antioksidan dan anti tumor.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi. Sampel *Turbinaria decurrens* sebanyak 17,4 kg, dimaserasi bertingkat (sampai seluruh jaringan terendam) dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol kualitas p.a. Filtrat disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman, kemudian pelarut diuapkan kembali dengan menggunakan *rotary evaporator* dan sisa pelarut yang mungkin tertinggal diuapkan dengan *Labconco Freeze dry*. Ekstrak yang diperoleh ditimbang dengan menggunakan neraca analitik, sehingga diperoleh ekstrak kasar *n*-heksana, etil asetat dan metanol (Allen, 2003).

Ketiga ekstrak diuji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan bahan pengemban *Aluminium Sheets Silica Gel Merck*, standar β -karoten, dalam eluen *n*-heksana-etil asetat (1/1). Ekstrak yang memiliki harga Rf sama dengan standar, difraksinasi dengan kolom kromatografi silika gel 2 x 30 cm dengan sistem gradient eluen *n*-heksana diikuti etil asetat dan kemudian metanol. Eluat yang diperoleh ditampung sehingga diperoleh 45 eluat. Semua eluat tersebut kemudian diuji KLT kembali dengan eluen *n*-heksana-etil asetat (1/1), untuk menggabungkan hasil eluat berdasarkan harga Rf-nya. Eluat yang memiliki spot sama dikelompokkan menjadi satu fraksi.

Fraksi yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dan sisa pelarut yang mungkin tersisa diuapkan dengan *Labconco Freeze dry* kemudian ditimbang (Wikanta dkk., 2006).

Analisis Kuantitatif. Fraksi yang diperoleh, diuji dengan KLT menggunakan eluen *n*-heksana-etil asetat (20:1) dengan standar β -karoten, fraksi yang memiliki Rf sama dengan standar dielusi dengan HPLC Shimadzu, kolom Princeton Omni C₁₈, detector UV-VIS *Photodiode Array*, dengan fasa gerak metanol-asetonitril (3/1) pada *flow* 0,5 μ L/menit. Kromatogram fraksi

dibandingkan dengan kromatogram standar β -karoten, dengan konsentrasi masing-masing 25, 50, 100, 250 dan 500 ppm. Data yang diperoleh adalah waktu retensi dan luas area standar, yang kemudian diplotkan menjadi kurva standar konsentrasi versus luas area. Dari kurva tersebut maka luas area fraksi diplotkan, sehingga diperoleh hasil konsentrasi (Zhao, 2004).

Uji Aktivitas Antioksidan. Pengujian dilakukan pada fraksi (ekstrak) dengan menggunakan DPPH pada *microplate 96 well*. Ekstrak dibuat dalam 5 seri konsentrasi 25, 50, 100, 500, 1000 μ g/mL dalam larutan metanol p.a, masing-masing 2 kali ulangan. Sebanyak 160 μ L ekstrak dari setiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam *microplate*, kemudian ditambahkan 40 μ L larutan DPPH pada setiap seri konsentrasi. Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan 3,2 mg DPPH dalam 10 mL metanol p.a. Sebagai kontrol positif di gunakan asam askorbat (vitamin C) dengan seri konsentrasi dan volume yang sama dengan perlakuan ekstrak. Sebagai blanko digunakan metanol p.a sebanyak 200 μ L. Kontrol negatif (tanpa perlakuan ekstrak) dibuat dengan cara menambahkan 160 μ L metanol p.a pada 40 μ L DPPH, dan sebagai kontrol ekstrak, sebanyak 160 μ L ekstrak ditambahkan 40 μ L metanol p.a. *Microplate* kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan tempat yang gelap selama 30 menit. Setelah 30 menit absorbansi dari tiap sumuran dibaca dengan *dynex microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm. Persentase hambatan radikal bebas ditentukan dengan rumus:

$$\%Inhibisi = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100\%$$

Ket: A: Absorbansi kontrol negatif (metanol + DPPH), B : Absorbansi blanko (metanol), C: Absorbansi perlakuan (Ekstrak+DPPH), D : Absorbansi kontrol ekstrak (Ekstrak+metanol).

Data persentase penghambatan digunakan untuk mencari nilai *Inhibition Concentration 50* (IC₅₀) dalam μ g/mL. Nilai IC₅₀ ditentukan dengan analisis probit (Tamat, 2007).

Uji Aktivitas Antitumor.

Uji sitotoksik menggunakan MTT pada sel tumor HeLa *phasage* 30. Pencairan sel (*cell thawing*) dilakukan dengan cara mengeluarkan tabung berisi sel dari tangki nitrogen cair dan dibanamkan dalam *waterbatch* bersuhu 37°C. Seluruh cairan sel dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan ditambahkan 5mL medium RPMI 1640, kemudian disentrifus dalam kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Setelah itu supernatan dibuang dan pellet yang diperoleh disuspensikan dalam 6 mL RPMI suspensi sel dipipet dan dimasukkan kedalam labu kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ pada 37°C. Sel yang telah berumur 24 jam dikultur dalam medium RPMI 1640, FBS 10%, *Fungision* 0,5% dan penisilin-streptomisin 2%.

Ekstrak dibuat dengan seri konsentrasi 12,5, 25, 50 dan 100 µg/mL dalam media RPMI dengan 3 kali ulangan. Sel dimasukkan ke dalam *microplate* 96 well sebanyak 100 µL setara dengan 10⁵ sel/100 µL. Kemudian sel diinkubasi selama 24 jam pada 37°C dengan aliran CO₂ 5 mL/menit sampai sel menempel dengan baik. Setelah 24 jam sebanyak 100 µL sampel ditambahkan pada tiap *well*. Dalam pengujian ini digunakan 3 kontrol, yaitu kontrol sel (100 µL sel + 100 µL media), kontrol media (200 µL media) dan kontrol sampel (100 µL sampel + 100 µL media). *Microplate* diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Setelah 24 jam ditambahkan MTT sebanyak 10µL ke dalam tiap *well*. *Microplate* diinkubasi kembali selama 4 jam, kemudian reaksi MTT dihentikan dengan cara menambahkan 100 µL SDS 10%. *Microplate* diinkubasikan kembali selama 12 jam pada suhu kamar dan dalam keadaan gelap. Setelah 12 jam, kondisi sel di cek dengan mikroskop *inverted phase-contrast* (Rajesh and Gupta, 2007).

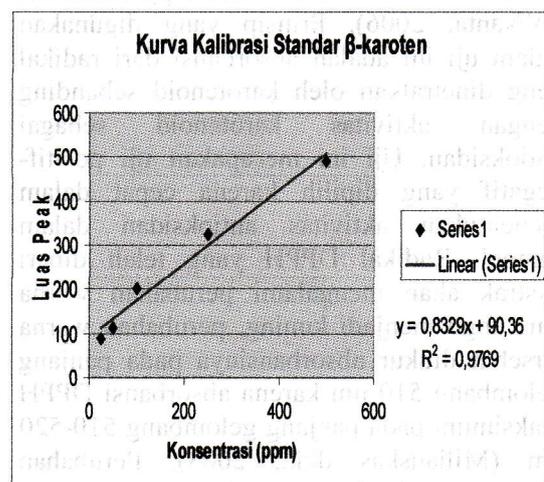
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, kstrak kasar dari *Turbinaria decurrens* telah diperoleh melalui ekstraksi kasar *n-heksana*, *etil asetat* dan *metanol*. Analisis ketiga ekstrak tersebut dengan KLT menunjukkan bahwa ekstrak kasar etil asetat memiliki spot sama dengan standar, jadi karotenoid diduga lebih larut

dalam etil asetat daripada kedua pelarut lain yang diaplikasikan, sehingga untuk proses pengujian selanjutnya hanya menggunakan ekstrak kasar etil asetat.

Fraksinasi ekstrak kasar etil asetat dengan kromatografi kolom. diperoleh hasil 45 eluat, yang selanjutnya digabung kembali didasarkan pada kesamaan harga Rf pada KLT sehingga diperoleh 9 fraksi. Kesembilan fraksi diuji KLT kembali dengan standar β-karoten dalam eluen *n-heksana-etil asetat* 1:1. Dari spot-spot yang terdapat pada KLT diperoleh hasil fraksi 1 memiliki spot dengan harga Rf yang sama dengan standar. Dilihat dari sifat fisik fraksi 1 yang berwarna merah kekuningan, maka dugaan karotenoid berada dalam fraksi tersebut selaras dengan literatur yang menyatakan bahwa karotenoid merupakan pigmen berwarna warna kuning, oranye dan merah (Gross, 1991).

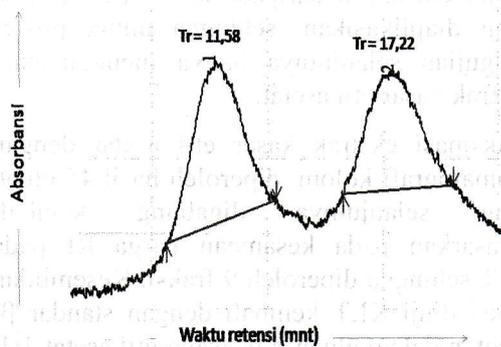
Senyawa β-karoten dalam fraksi 1 ditentukan kadarnya dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi atau HPLC dengan standar eksternal (Zhao, 2004). Untuk mendapatkan kadar β-karoten, data kromatogram standar diplotkan pada kurva kalibrasi sebagai berikut:



Gambar 1.

Kurva kalibrasi standar β-karoten

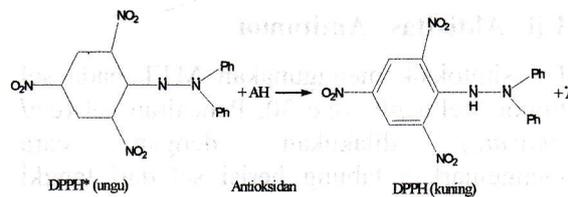
Langkah selanjutnya ekstrak karoten dalam fraksi 1 diinjek ke dalam HPLC dengan kondisi yang sama dengan standar, hasilnya kromatogram berikut:



Gambar 2. Kromatogram Fraksi 1 Ekstrak Etil asetat *Turbinaria decurrens*

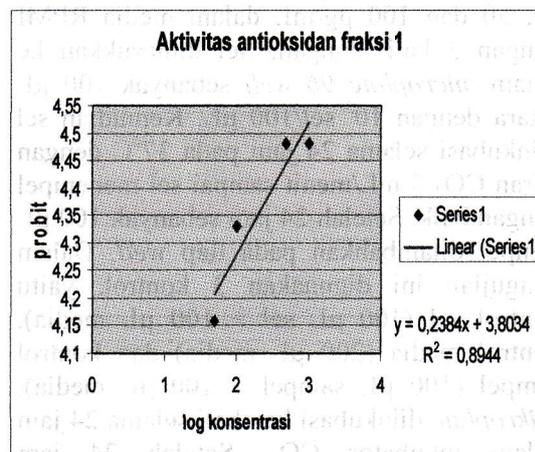
Dari kromatogram maka disimpulkan terdapat 2 senyawa karotenoid yang terdeteksi pada panjang gelombang 440nm. Ditinjau dari waktu retensinya, maka area yang mendekati standar adalah puncak 2. Dengan memplotkan pada persamaan linier dari kurva standar β -karoten, diperoleh hasil kadar β -karoten dalam ekstrak etil asetat sebesar 38,7%.

Aktivitas antioksidan karotenoid ditentukan dengan penetrulan radikal bebas DPPH atau 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (Wikanta, 2006). Prinsip yang digunakan dalam uji ini adalah absorbansi dari radikal yang dinetralkan oleh karotenoid sebanding dengan aktivitas karotenoid sebagai antioksidan. Uji ini merupakan uji positif-negatif yang dipilih karena cepat dalam menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel. Radikal DPPH yang telah diberi ekstrak akan mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning, perubahan warna tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 nm karena absorbansi DPPH maksimum pada panjang gelombang 510-520 nm (Miliauskas dkk., 2003). Perubahan warna terjadi karena ada reaksi antara molekul 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH*) dengan atom H yang dilepaskan oleh molekul komponen bahan uji (senyawa antioksidan) sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilin (DPPH) yang berwarna kuning.



Gambar 3. Reaksi penetrulan radikal DPPH

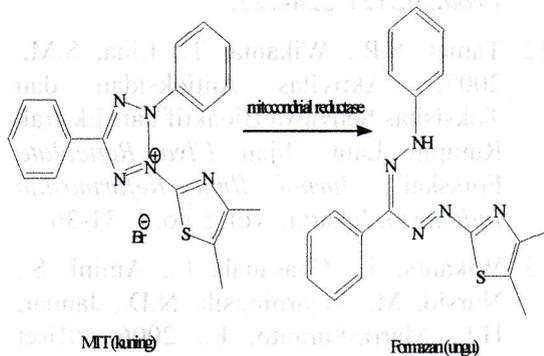
Nilai absorbansi dikonversi menjadi nilai inhibisi (hambatan). Besarnya nilai persen inhibisi digunakan sebagai data untuk menghitung nilai IC_{50} , yang ditentukan dengan menggunakan analisis probit. Probit merupakan metode statistik yang digunakan untuk menentukan hubungan antara dosis (stimultan) dan respon yang dihasilkan. Hasilnya kemudian diplotkan kedalam grafik kurva linier log konsentrasi versus probit (gambar 4.).



Gambar 4. Kurva linier log konsentrasi VS probit fraksi 1 ekstrak etil asetat sampel *Turbinaria decurrens*

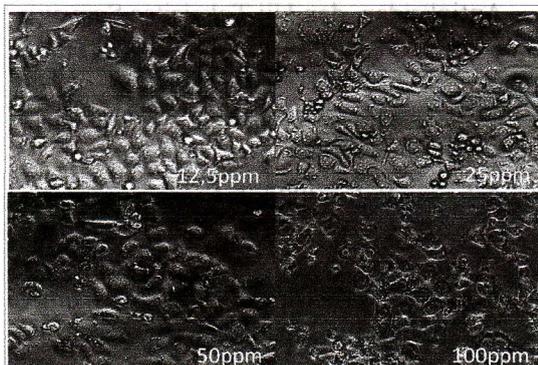
Dari persamaan linier $y = 0,2384x + 3,8034$, maka diperoleh IC_{50} dari karotenoid sebesar 104543,08 ppm. Sebagai pembanding aktivitas antioksidan, digunakan asam askorbat dengan hasil nilai IC_{50} 53,39 ppm. Aktivitas antioksidan karotenoid dalam alga coklat *Turbinaria decurrens* sebesar 0,05% aktivitas asam askorbat.

Uji aktivitas antitumor dilakukan dengan uji sitotoksik dengan menggunakan sel tumor lestari HeLa. Prinsip dari metode MTT adalah reaksi reduksi seluler yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT yang berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna biru keunguan (Gambar 5). Enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel hidup mampu memecah MTT menjadi kristal formazan (Atkin, 1983). Reaksi tersebut melibatkan piridin nukleotida kofaktor NADH dan NADPH yang hanya dikatalisis oleh sel hidup, sehingga jumlah formazan yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang hidup (Zachary, 2003). Semakin banyak sel yang hidup, semakin banyak kristal formazan yang terbentuk.



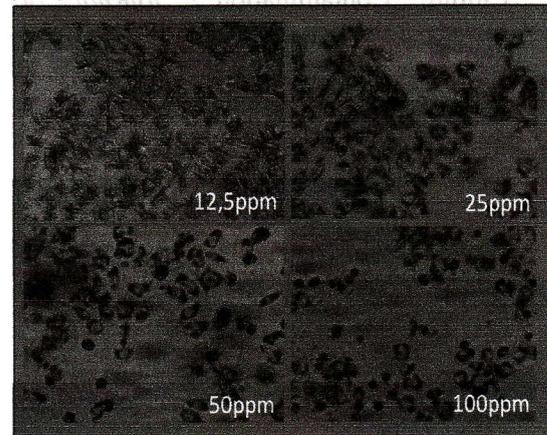
Gambar 5. Reaksi pemecahan MTT menjadi kristal formazan

Sel HeLa merupakan sel tumor *epithelial* pada organ *cervical carcinoma* manusia. Setelah penambahan β -karoten pada sel HeLa, terlihat bentuk morfologi sel pada gambar 6



Gambar 6. Bentuk morfologi sel lestari HeLa setelah penambahan β -karoten

Dari gambar mikroskopik sel lestari HeLa, setelah penambahan ekstrak struktur morfologi sel semakin berubah sebanding dengan kenaikan dosis yang ditambahkan. Aktivitas sitotoksik pada fraksi β -karoten diperkuat dengan gambaran kristal formazan yang disajikan pada gambar berikut:



Gambar 7. Kristal Formazan yang terbentuk setelah penambahan MTT

Dari gambar 7 terlihat hasil kristal formazan yang terbentuk semakin berkurang sebanding dengan kenaikan dosis ekstrak yang ditambahkan pada sel. Jadi β -karoten memiliki aktivitas sitotoksik pada sel tumor HeLa pada konsentrasi 50-100 ppm.

SIMPULAN

Kadar β -karoten dalam alga coklat *Turbinaria decurrens* yang diambil dari daerah pasang surut pantai Binuangun, Banten pada bulan Februari 2008, sebesar 38,7ppm dari ekstrak *Turbinaria decurrens*. Dalam penelitian ini karotenoid yang diisolasi dari *Turbinaria decurrens* tidak menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH tetapi menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel tumor HeLa.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan yang telah mendanai serta menyediakan seluruh alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Allen, S.D., Rusnack, Michael, R., 2003, "Process for Extracting Carotenoids from Fruits and Vegetable Processing Waste", *US Patent*, USA, No.7138152.
2. Atkin, B.M., 1983, "Preventing Cell Culture Contamination", *Journal of Forma Scientific*, No. 1-800-848-3080, 2-6.
3. Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo, Rachmaniar, 1996, "Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia", Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta, 56-57, 75-77.
4. Blunt, J.W., Brent R.C., Murray, H.G.M., Peter, T.N., Michele, R.P., 2006, "Marine Natural Products", *The Royal Society of Chemistry J. Nat. Prod.*, (23), 26-78.
5. Chasanah, E., Wikanta, T., Sri A., Fajarningsih, N.D., Marraskuranto, E., Nursid, M., Januar, H.I., 2007, "Riset Isolasi Dan Uji Farmakologi Senyawa Bioaktif dari Biota Laut", Laporan Teknis Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan perikanan, Badan Riset Kelautan dan perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
6. Clevidence, B.A., Khachik, F., Brown, E.D., Nair, P.P., Wiley, E.R., Prior, R.I., Cao, G., Morel, D.W., Stone, W., Kramer, T.R., 1997, "Human Consumption of Carotenoid-Rich Vegetables", AOCS Press, Champaign, Illinois.
7. Gross, J., 1991, "Pigments In Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids", Van Nostrand Reinhold, New York, 90-91,101-105.
8. McGee, S.A., Sharee, A.W., Janet, D.P., 2006, "What Advanced Practice About Free Radicals", *The Internet Journal of Advance Nursing Practise*, Kansas, Vol.6 No.1, 1-9.
9. Nursid, M., Wikanta, T., Fajarningsih, N.D., Marraskuranto, E., 2006, "Aktivitas Sitotoksik, Induksi Apoptosis dan Ekspresi Gen p53 Fraksi Metanol Spons *Petrosia cf. nigricans* Terhadap Sel Tumor HeLa", *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, Vol.1, No. 2, Desember, 103-110.
10. Rajesh, S. and Gupta, A.K., 2007, "Antimicrobial and Antitumor Activity of The Fractionated Extracts of Kalimuli (*Curculigo orchoides*)", *IntJ Green Pharm Research Article Departement of Chemistry Agra College, Agra-Yttar Pradesh, India*,2: 34-6.
11. Sheu, J.H., Wang, G.H., Sung, P.J., and Duh, C.Y., 1999, "New Cytotoxic Oxygenated Fucosterol from the Brown Algae *Turbinaria conoides*", *J.Nat. Prod.*, 62 (2), 224-227.
12. Tamat, S.R., Wikanta, T., Lina, S.M., 2007, "Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva Reticulata* Forsskal", *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Jakarta, vol. 5 no. 1, 31-36.
13. Wikanta, T., Chasanah, E., Amini, S., Nursid, M., Fajarningsih, N.D., Januar, H.I., Marraskuranto, E., 2006, "Riset Isolasi dan Uji Farmakologi Senyawa Bioaktif dari Biota Laut", *Laporan Teknis Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta,3, 9-13, 32-36.
14. Wikanta, T., Tamat, S.R., Magdalena, S.M., 2006, "Identifikasi, Uji Antioksidan, dan Uji Toksisitas Senyawa Bioaktif dalam *Caulerpa sertularioides* (Vahl.) C. Agard", *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Jakarta, JIFI vol. 4 no.1, 25-32.
15. Zakaria, Y.A., 2006, " Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etil Asetat Karang Lunak *Sarcophyton glaucum* (Quoy & Gaimard) terhadap Sel Lestari Tumor HeLa", Skripsi Universitas Pancasila Fakultas Farmasi, Jakarta.
16. Zhao, B., Su-Yin, T., Jia, L., Mui, H.L., Lionel, K.H.L., Shabbir, M.M., 2004, "Simultaneous Determination of Vitamin

C, E and Beta Carotene in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Photo diode Array Detection”, *Journal Medical and*

Enviromental Research Institute, DSO National Laboratories, Singapore, Vol. 7, No. 2, 200-204.

24 Isbadiyanto

Lab Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDP Semarang

ABSTRACT--The objective of the experiment was determines liver microanatomy and diet consumption in the *Mus musculus* after give of chitin. This research used completely randomized design. There were four concentration of chitin: 0 mg chitin per day; 1,3 mg chitin per day; 1,95 mg chitin per day; 2,6 mg chitin per day. Anova was used in data analysis and LSDT test in 2% level. The result of experiment indicated that the chitin was not cause alteration on liver microanatomy.

Keywords: chitin, *Mus musculus*, liver microanatomy

PENDAHULUAN

Salah satu bahan aditif yang sangat penting dalam makanan adalah lemak. Lemak adalah serat. Serat dikenal berperan dalam membantu pencernaan makanan di usus halus. Saporini (2004) menyatakan pemanfaatan kitin terbukti efektif dan aman untuk mengendalikn asupan makanan yang mengandung lemak tinggi. Henon (1992) menyatakan bahwa senyawa kitin serta turunannya merupakan bahan alami yang efektif dalam regulasi fungsi pencernaan dan metabolisme tubuh.

Kitin merupakan biopolimer yang banyak dijumpai di alam dan termasuk dalam kelompok bahan pangan serat. Kitin terdapat pada eksoskeleton arthropoda seperti insekta, cakar dan udang. Kitin dalam saluran pencernaan tidak mengalami perubahan bentuk dan tidak dapat diubah menjadi kalori. Kitin mempunyai kemampuan mengikat lemak 4-5 kali lipat dari beratnya sendiri sehingga diharapkan dapat mengurangi timbunan lemak dalam tubuh (Vahouny et al., 1983).

Hepar merupakan salah satu organ yang terpenting dalam biotransformasi yang meliputi penguangan toksisitas, penguangan potensi, serta penyerapan ekskresi. Hepar juga merupakan organ yang mempunyai kemampuan regenerasi yang tinggi. Hepar tikus yang mengalami kerusakan sampai 75% masih dapat melakukan regenerasi sel hepatosit selama satu bulan (Carniero dan Jundiera, 1992). Berdasarkan fakta tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai efek

pemberian kitin terhadap perubahan mikroanatomi hepar.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit jantan albino strain Swiss Webster umur 2 bulan, mencit diaklimatisasi selama seminggu. Hewan uji dibagi dalam 4 kelompok masing-masing kelompok 5 ekor mencit. Percobaan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), sehingga perlakuan dapat dijabarkan sebagai berikut: Kontrol diberi padades 0,2 ml, perlakuan 1,3 mg/ekor/hari dengan 0,2 ml padades, perlakuan 1,95 mg/ekor/hari kitin dengan 0,2 ml padades dan perlakuan 2,6 mg/ekor/hari kitin dengan 0,2 ml padades. Perlakuan dilakukan selama satu bulan. Pemberian kitin dilakukan secara oral.

Parameter yang diamati adalah diameter hepatosit dan berat hepar. Pembuatan preparat histologis hepar dengan menggunakan metode parafin dengan pewarnaan HE (Hematoxilin Eosin). Data diperoleh dianalisis dengan ANOVA dilanjutkan uji BNT pada taraf signifikansi 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis diameter hepatosit dan berat hepar mencit (*Mus musculus*) pada berbagai perlakuan kitin per oral menunjukkan adanya perbedaan yang tidak nyata (Tabel 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian kitin pada berbagai perlakuan yang dilakukan tidak menyebabkan terjadinya perubahan diameter sel hepatosit dan berat hepar mencit.