

MODUL II BLOK 20
MEDICAL RESEARCH
PENELITIAN DENGAN HEWAN COBA

**Dr. Diana Krisanti Jasaputra, dr., M Kes.,
dr. Jeanny Ervie Ladi, M Kes. PA,
Dr Meilinah Hidayat, dr., M Kes.,
Dr. Rita Tjokropranoto, dr., M Kes.**

Referensi

- Yurista, S.R. Ferdian, R. A. Sargowo, D. Principles of the 3Rs and ARRIVE Guidelines in Animal Research. Jurnal Kardiologi Indonesia. 2016; 37 : 156-163
- Wahtuwardani, Noor, S.M. Bakrie, B. Etika Kesejahteraan Hewan dalam Penelitian dan Pengujian: Implementasi dan Kendalanya. WARTAZOA. 2020; 30 (4):. 211-220

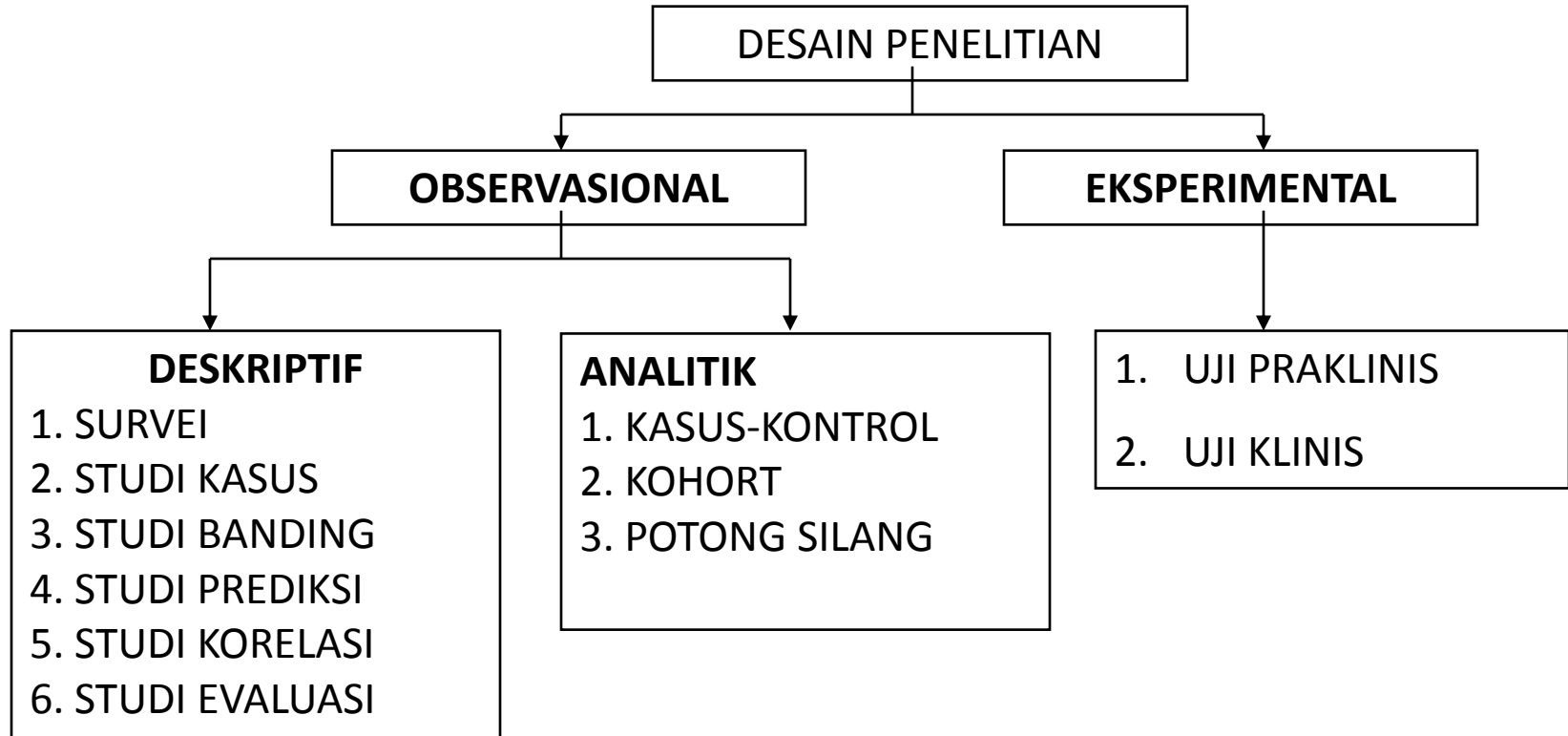
Skenario

- Seorang mahasiswa Fakultas Kedokteran semester 5 sedang mempersiapkan Karya Tulis Ilmiahnya sebagai prasyarat untuk kelulusan Sarjana Keokteran. Ketika mahasiswa ini mencari referensi untuk penyusunan Karya Tulis Ilmiah, ia tertarik pada satu artikel yang berjudul “Pengaruh Bee Pollen Terhadap Kadar SGOT, SGPT dan Gambaran Histopatologis Hepar pada Tikus yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak.”

Dalam mempelajari artikel tersebut, ada beberapa pertanyaan yang perlu dijawab

1. Apa desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini?
2. Apa tujuan penelitian menggunakan hewan coba?
3. Apa saja jenis penelitian yang menggunakan hewan coba?
4. Etik Penelitian yang menggunakan hewan coba perlu memperhatikan Prinsip 3 R, jelaskan prinsip 3 R!
5. Kaji jurnal yang diambil dari Journal Medicine and Health (Jurnal yang diterbitkan oleh FK UKM) dengan alamat <https://journal.maranatha.edu/index.php/jmh/article/view/2040/1504>
6. Buatlah *slide power point* untuk mempresentasikan penelitian tersebut !

Klasifikasi rancangan / desain penelitian



Tujuan Penelitian menggunakan Hewan Coba

- Uji Efektivitas sebelum diujikan ke manusia
- Uji toksisitas untuk memperoleh data keamanan

Prinsip 3R menurut Russell dan Burch
adalah sebagai berikut

Replacement

- Sering diartikan sebagai penggunaan sistem tidak-hidup (mati) sebagai alternatif, misalnya, sebuah model komputer atau manekin.
- Hal ini juga dapat berarti penggantian vertebrata menjadi invertebrata.
- Ini juga mencakup penggunaan kultur sel dan jaringan

Reduction

- *Reduction* berarti menurunkan jumlah hewan coba yang digunakan tanpa mengurangi informasi yang berguna.
- Hal ini mungkin dicapai dengan mengurangi jumlah variabel melalui desain eksperimental yang baik, menggunakan statistik yang tepat, menggunakan genetik hewan yang homogen, dan memastikan bahwa kondisi eksperimen terkontrol dengan baik

Refinement

- *Refinement* berarti perubahan dalam beberapa aspek perlakuan yang berpotensi menimbulkan rasa sakit atau stres jangka panjang, memperlakukan hewan coba secara manusiawi (humane), dan memelihara hewan coba dengan baik sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba hingga akhir studi (*animal welfare*)

Prinsip 5F (Freedom) yang dikemukakan pada tahun 1979 oleh Farm Animal Welfare Council di Inggris untuk menjamin kesejahteraan hidup hewan coba (*animal welfare*)

Prinsip 5 F

1. *Freedom of hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus).
2. *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman).
3. *Freedom of pain, injury or disease* (bebas dari rasa nyeri, trauma, dan penyakit).
4. *Freedom to fear and distress* (bebas dari ketakutan dan stres jangka panjang).
5. *Freedom to express natural behaviour* (bebas mengekspresikan tingkah laku alami, diberikan ruang dan fasilitas yang sesuai)

Pengaruh Bee Pollen Terhadap Kadar SGOT, SGPT dan Gambaran Histopatologis Hepar pada Tikus yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak

Sijani Prahastuti*, **Jeanny E Ladi****, **Kartika Dewi*****, **Felicia Albertina******,
Muhammad K Imam

*Department of Biochemistry Faculty of Medicine Universitas Kristen Maranatha

**Department of Histology Faculty of Medicine Universitas Kristen Maranatha

***Departement of Biology Faculty of Medicine Universitas Kristen Maranatha

****Faculty of Medicine Universitas Kristen Maranatha

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Pendahuluan

- Dislipidemia berhubungan dengan *Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)*
- Kondisi NAFLD merupakan spektrum kelainan hati dengan gambaran khas berupa steatosis (perlemakan) makrovesikular yang muncul pada pasien yang tidak mengonsumsi alkohol dalam jumlah yang dianggap berbahaya bagi hati yaitu 20 gram etanol per minggu.

- Kondisi NAFLD menyebabkan kerusakan sel hati sehingga menyebabkan peningkatan kadar enzim hati seperti SGOT dan SGPT.
- Penderita NAFLD diperkirakan sebesar 30% dari seluruh populasi urban di Indonesia

- Terapi NAFLD didasarkan pada modifikasi gaya hidup yang bertujuan untuk mengurangi konsentrasi lipid serum.
- Pasien dapat diberikan obat agen hipolipidemik, terutama golongan *HMG-CoA reductase inhibitor* seperti statin

- masyarakat banyak menggunakan *Bee Pollen* sebagai suplemen kesehatan.
- *Bee Pollen* merupakan hasil produk lebah madu yang didapat dari pengendapan sari-sari bunga pada kaki lebah madu dan dijatuhkan di sekitar sarang lebah

- Vitamin C, E dan A dalam *Bee Pollen* menurunkan LDL dalam darah dan mencegah radikal bebas melalui penghambatan peroksidasi lipid dari asam lemak tak jenuh dalam membran sel.
- Flavonoid memiliki mekanisme kerja seperti statin yaitu menghambat kerja enzim *HMG-CoA reductase* yang bekerja di hepar yang menyebabkan kegagalan perubahan *acetyl-CoA* menjadi *mevalonate* yang merupakan prekursor kolesterol darah seperti LDL, VLDL dan trigliserida.

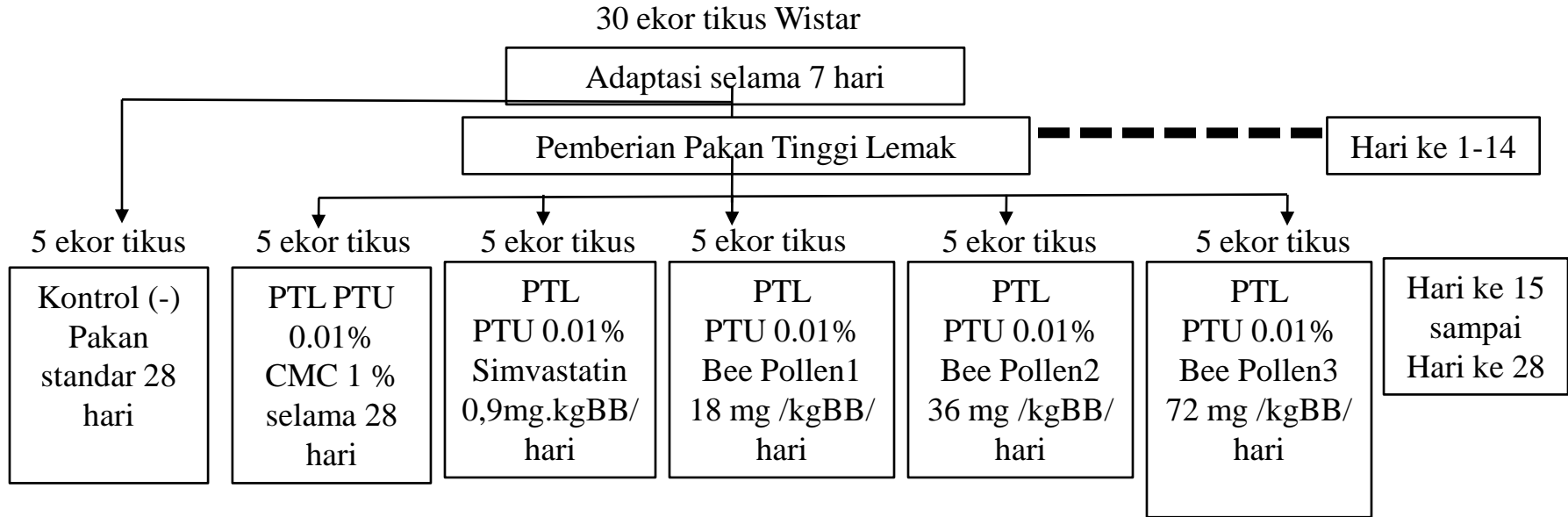
- Flavonoid juga mempunyai efek anti inflamasi dengan menginhibisi aktivitas siklooksigenase dan lipooksigenase yang berperan dalam perubahan asam arakidonat menjadi sitokin seperti prostaglandin dan leukotrien yang menyebabkan inflamasi pada jaringan.

Tujuan

- Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis efek *Bee Pollen* terhadap kadar SGOT, SGPT dan efeknya apakah setara dengan simvastatin serta apakah dapat memperbaiki gambaran histopatologis hepar pada tikus yang diinduksi pakan tinggi lemak.

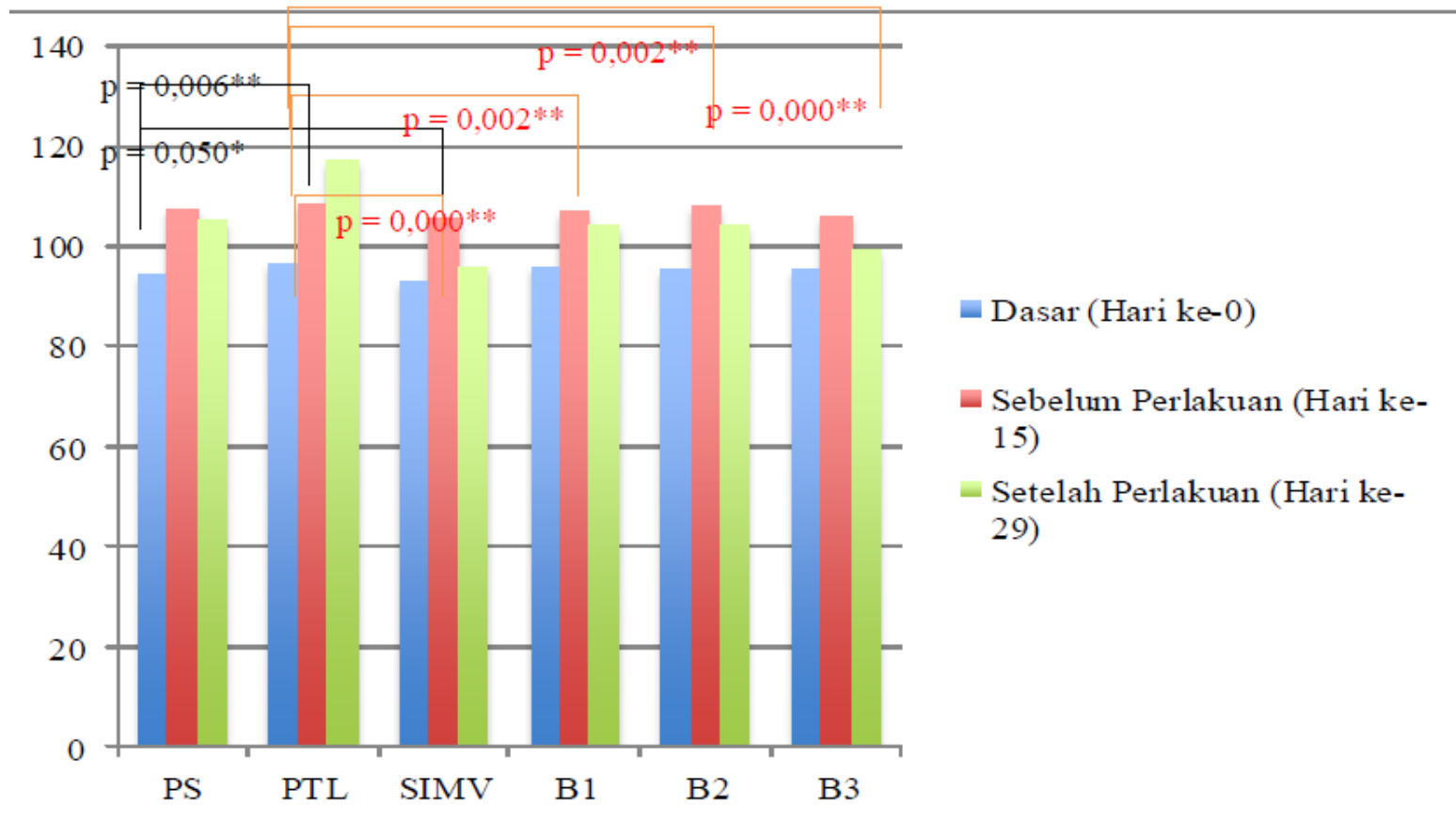
Metode

- Penelitian ini dilakukan menggunakan *Bee Pollen* tablet 520 mg, pakan tinggi lemak (PTL), pakan standar, *aquadest*, *CMC* (*Carboxymethyl Cellulose*) 0,5%, Propiltiouracil (PTU) 0,01%, simvastatin.



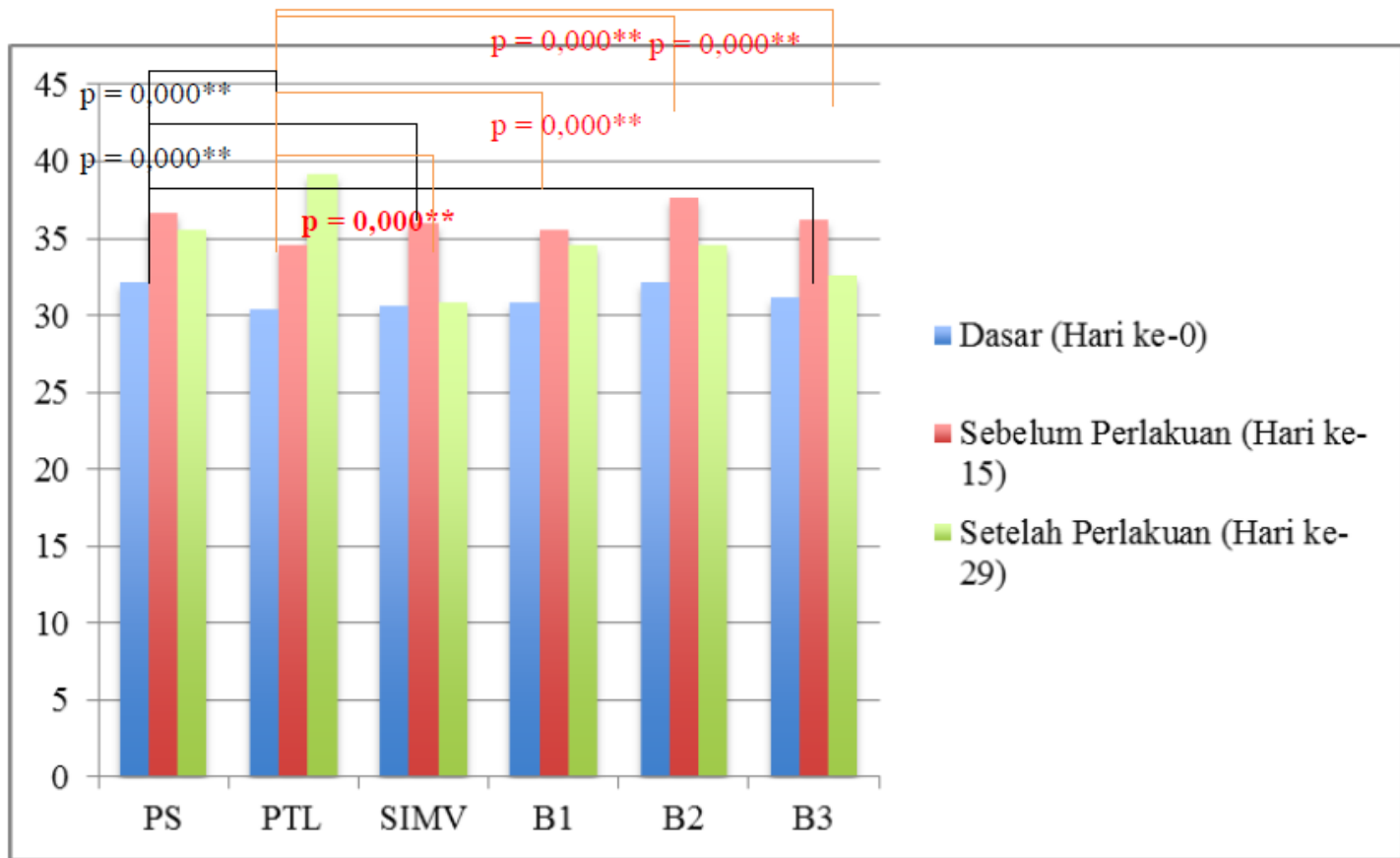
Pemeriksaan SGOT dan SGPT diperiksa hari ke 0, 15,29
 Tikus dikorbankan untuk pemeriksaan prepat histologi hati.

Hasil Penelitian



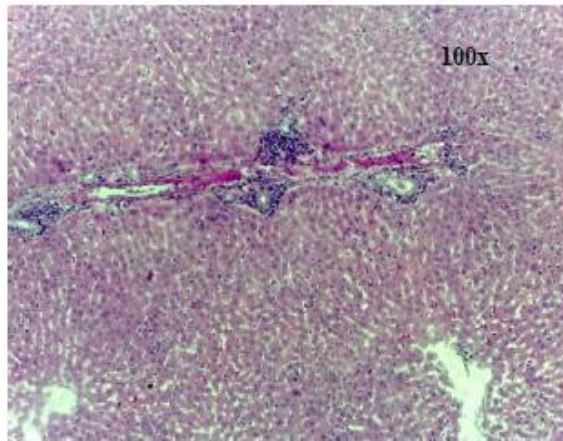
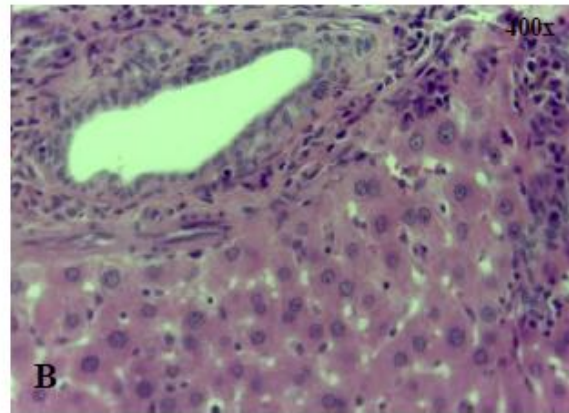
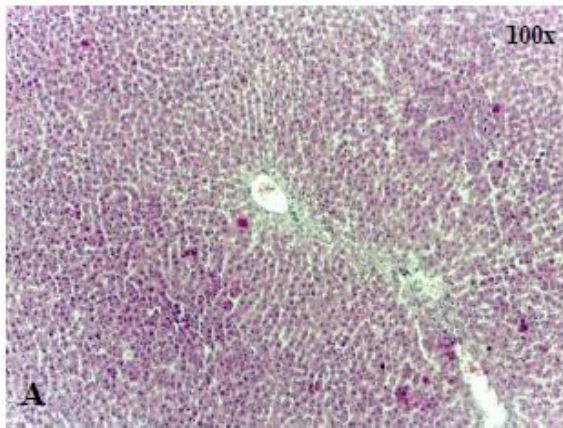
Gambar 1 Grafik Rerata SGOT Sebelum dan Sesudah Perlakuan

- Kadar SGOT pada semua kelompok mengalami penurunan setelah perlakuan kecuali kelompok PTL.
- Penurunan kadar SGOT terbanyak pada kelompok SIMV, diikuti oleh kelompok B3, B2, B1, dan PS.
- Hasil analisis uji *ANOVA* satu arah rerata setelah perlakuan ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan terdapat minimal satu pasang perlakuan yang berbeda antara keenam kelompok perlakuan.
- Hasil uji post hoc Tukey HSD antara SIMV, B1, B2, B3 dengan PTL terdapat perbedaan sangat bermakna ($p < 0,01$).
- Hal ini menunjukkan pemberian simvastatin dan Bee Pollen dapat menurunkan kadar SGOT.
- Antara kelompok SIMV dengan B1, B2, B3 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$).
- Hal ini menunjukkan potensi simvastatin setara dengan Bee Pollen dosis 18, 36, 72 mg/kgBB/hari dalam menurunkan kadar SGOT.



Gambar 2 Grafik Rerata SGPT Sebelum dan Sesudah Perlakuan

- Kadar SGPT pada semua kelompok mengalami penurunan setelah perlakuan kecuali kelompok PTL.
- Penurunan kadar SGPT terbesar pada kelompok SIMV, diikuti oleh kelompok B3, B2, B1, dan PS.
- Hasil analisis uji *ANOVA* satu arah rerata setelah perlakuan ($p < 0,01$), hal ini menunjukkan terdapat minimal satu pasang perlakuan yang berbeda antara keenam kelompok perlakuan.
- Hasil uji *post hoc* Tukey HSD antara kelompok SIMV, B1, B2, B3 dengan PTL terdapat perbedaan sangat bermakna ($p < 0,01$).
- Hal ini menunjukkan pemberian simvastatin dan Bee Pollen menurunkan kadar SGPT.
- Antara kelompok SIMV dengan B1, B2 terdapat perbedaan sangat bermakna ($p < 0,01$).
- Hal ini menunjukkan potensi simvastatin tidak setara dengan Bee Pollen dosis 18 dan 36 mg/kgBB/hari dalam menurunkan kadar SGPT.
- Antara kelompok SIMV dengan kelompok B3 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$).
- Hal ini menunjukkan simvastatin setara dengan Bee Pollen dosis 72 mg/kgBB/hari dalam menurunkan kadar SGPT.



Gambar 3. Gambaran histologis tikus wistar yang diinduksi pakan tinggi lemak (PTL). A. Skor 1 Bengkak Keruh (Pembesaran 100x), B. Skor 2 Inflamasi Portal (Pembesaran 400x), C. Skor 1 Bridging Fibrosis (Pembesaran 100x), D. Skor 1 Periportal Fibrosis (Pembesaran 400x).

- Pada hasil uji Kruskal-Wallis terhadap distribusi sel bengkak keruh setelah perlakuan didapatkan nilai $p < 0,01$.
- Hal ini menunjukkan terdapat minimal satu pasang perlakuan yang berbeda antara ke enam kelompok perlakuan.
- Hasil uji *Mann Whitney U* terhadap bengkak keruh antara kelompok SIMV, B3 dengan PTL terdapat perbedaan sangat bermakna ($p < 0.01$), dan antara B1, B2 dengan PTL terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$).
- Hal ini menunjukkan pemberian simvastatin dan *Bee Pollen* dapat memperbaiki bengkak keruh.
- Antara kelompok SIMV dengan B1, B2, B3 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$).
- Hal ini menunjukkan simvastatin setara dengan *Bee Pollen* dosis 18, 36, 72 mg/kgBB/hari dalam memperbaiki bengkak keruh.

- Uji Kruskal-Wallis terhadap distribusi inflamasi portal setelah perlakuan memberikan nilai $p < 0,01$.
- Hasil uji Mann Whitney U terhadap inflamasi portal antara SIMV, B3 terhadap PTL terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$), antara B1, B2 dengan PTL terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$).
- Hal ini menunjukkan pemberian simvastatin dan *Bee Pollen* dapat memperbaiki inflamasi portal.
- Antara kelompok SIMV dengan B1, B2 terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$), antara kelompok SIMV dengan B3 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$).
- Hal ini menunjukkan simvastatin setara dengan *Bee Pollen* dosis 72 mg/kgBB/hari dalam memperbaiki inflamasi portal

- Uji Kruskal-Wallis terhadap distribusi bridging fibrosis setelah perlakuan menunjukkan nilai $p < 0,01$.
- Hasil uji Mann Whitney U dari bridging fibrosis antara SIMV, B3 terhadap PTL menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$), antara B1, B2 dengan PTL menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$).
- Hal ini membuktikan pemberian simvastatin dan *Bee Pollen* dapat memperbaiki bridging fibrosis.
- Antara kelompok SIMV dengan B1 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), antara kelompok SIMV dengan B2, B3 tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$).
- Hal ini membuktikan potensi simvastatin setara dengan *Bee Pollen* dosis 36, 72 mg/kgBB/hari dalam memperbaiki *bridging fibrosis*

- Uji Kruskal-Wallis terhadap distribusi periportal fibrosis setelah perlakuan menghasilkan nilai $p < 0,01$.
- Hasil uji Mann Whitney U terhadap periportal fibrosis antara SIMV, B3 terhadap PTL menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$), antara B1, B2 dengan PTL menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$).
- Hal ini membuktikan pemberian simvastatin dan BeePollen dapat memperbaiki periportal fibrosis.
- Antara kelompok SIMV dengan B1 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), antara kelompok SIMV dengan B2, B3 tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$).
- Hal ini membuktikan potensi simvastatin setara dengan *Bee Pollen* dosis 36 dan 72 mg/kgBB/hari dalam memperbaiki periportal fibrosis .

Pembahasan

- Hasil penelitian ini menunjukkan *Bee Pollen* dapat menurunkan kadar SGOT, SGPT dan memperbaiki gambaran histopatologis hepar yang mengalami kerusakan (steatohepatitis).
- Hal ini dikarenakan *Bee Pollen* mengandung Vitamin C, E, A, flavonoid, asam lemak monounsaturated.
- Vitamin C, E dan A dalam *Bee Pollen* menurunkan LDL dan mencegah radikal bebas melalui penghambatan peroksidasi lipid dari asam lemak tak jenuh dalam membran sel dan membantu pemulihan sel yang rusak akibat stres oksidatif seperti sel hepar pada NAFLD.
- Flavonoid menurunkan kadar trigliserida dengan menghambat kerja enzim *HMG-CoA reductase* sehingga terjadi penghambatan *acetyl-CoA* menjadi mevalonate yang merupakan prekursor LDL, VLDL dan trigliserida.
- Flavonoid mempunyai efek anti inflamasi dengan menginhibisi aktivitas siklooksigenase dan lipooksigenase yang berperan dalam perubahan asam arakidonat menjadi sitokin seperti prostaglandin dan leukotrien yang menyebabkan inflamasi pada jaringan

- Asam lemak *monounsaturated* mempunyai efek hipolipidemik dan dapat menurunkan kadar LDL tanpa memengaruhi HDL darah sehingga membantu mengurangi risiko steatohepatitis

Simpulan

- *Bee Pollen* menurunkan kadar SGOT dan SGPT serta dapat memperbaiki gambaran histopatologis hepar tikus Wistar jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak.

Terima Kasih