

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian ini menggunakan subyek tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur *Wistar* yang berusia 2 bulan berjumlah 30 ekor. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3), dan kelompok perlakuan 4 (P4) dengan masing-masing terdiri dari 6 ekor. Selama berlangsungnya penelitian, tidak terdapat satu ekor tikuspun yang mati sehingga tereliminasi seluruh tikus.

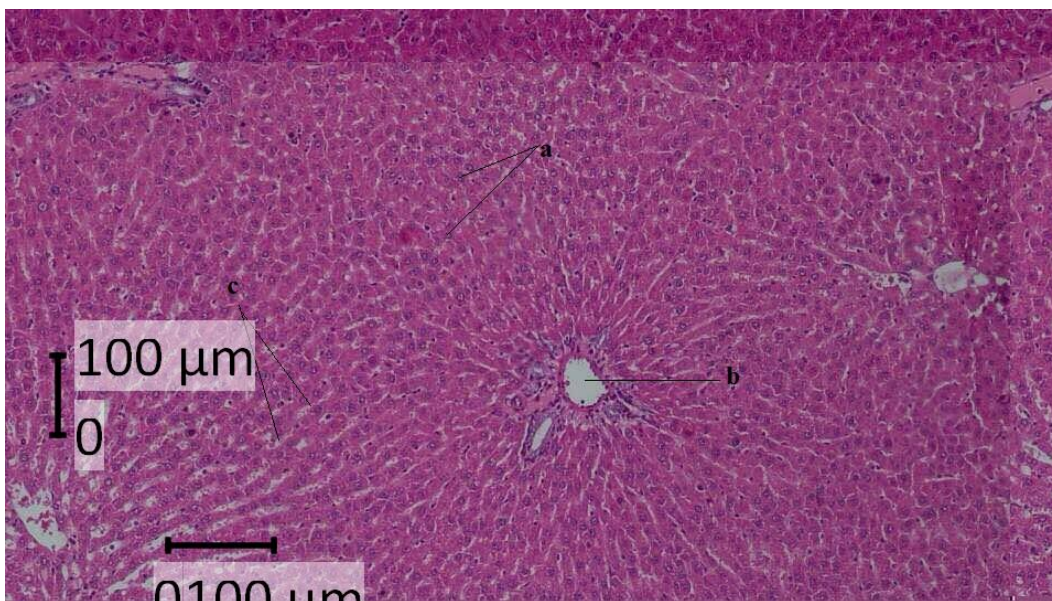
Kelompok kontrol (K) tetap dibiarkan tanpa perlakuan, kelompok perlakuan 1 (P1) didedahkan obat nyamuk *one push* selama 5 menit, kelompok perlakuan 2 (P2) didedahkan obat nyamuk *one push* selama 10 menit, kelompok perlakuan 3 (P3) didedahkan dipaparkan obat nyamuk *spray* selama 5 menit, dan kelompok perlakuan 4 (P4) didedahkan obat nyamuk *spray* 10 menit. Perlakuan dilakukan selama 60 hari

Hari ke 61 setelah pemaparan dilakukan pembedahan dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ. Setelah dilakukan pembedahan hepar dimasukan ke dalam *pot air* untuk difiksasi menggunakan formalin buffer 10 % sampai seluruh bagian organ hepar terendam. Setelah itu, hepar tersebut dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE lalu diamati dibawah mikroskop.

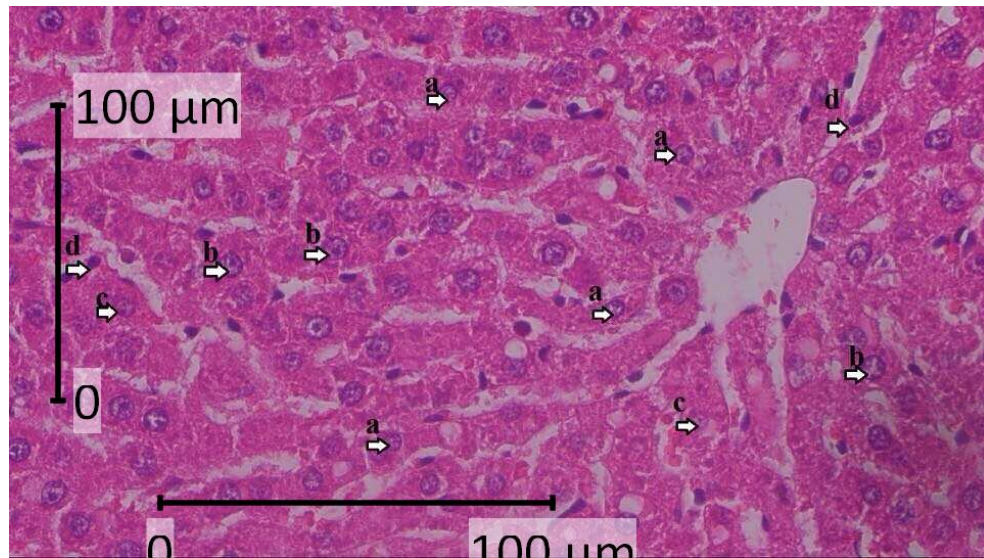
Preparat diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 10x10 kali dan 10x40 kali untuk menghitung skor kerusakan sel hepar. Masing-masing preparat diamati 5 lapang pandang dengan masing-masing lapang pandang diamati 40 sel kemudian dirata-rata. Penilaian skor kerusakan sel hepar berdasarkan skor Manja Roenigk dan dianalisis secara kuantitatif.

B. Hasil Penelitian

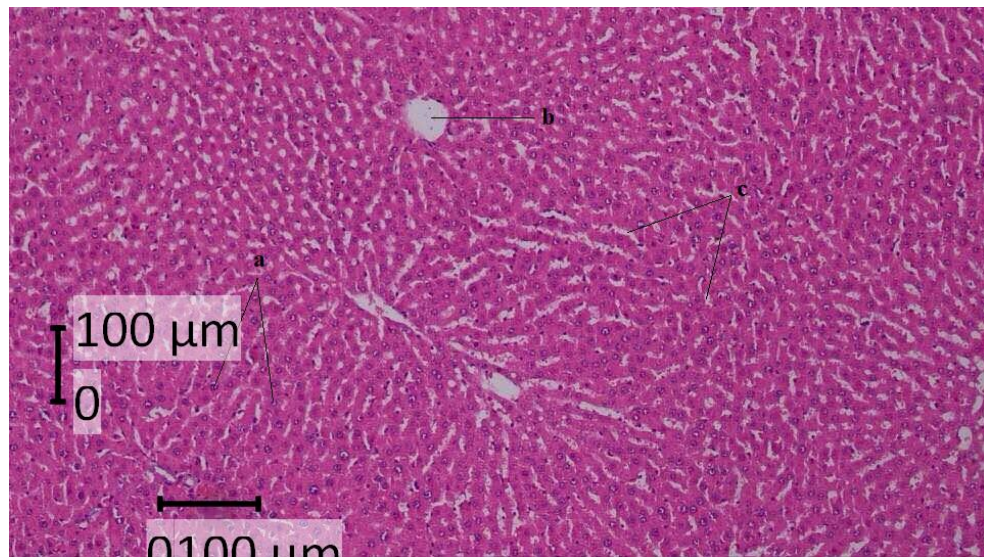
Hasil pengamatan mikroskop yang mewakili masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat dapat dilihat pada gambar dan tabel.



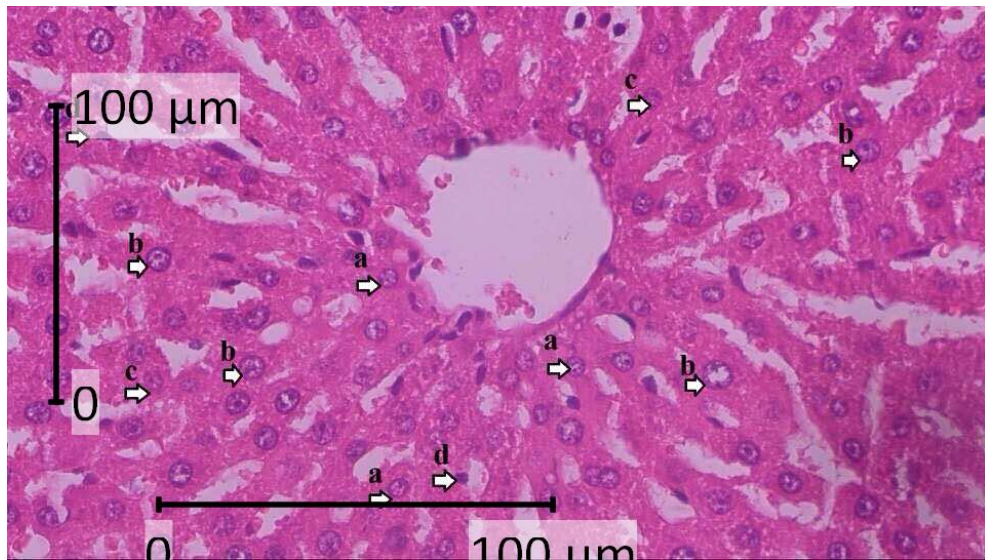
Gambar 6. Gambar histologi hepar kelompok kontrol (HE, 100x)
Keterangan: (a) sel-sel hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid



Gambar 7. Gambar histologi hepar kelompok kontrol (HE, 400x)
Keterangan: (a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatosa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, (d) menunjukkan sel hepar yang nekrosis dengan skor 4.

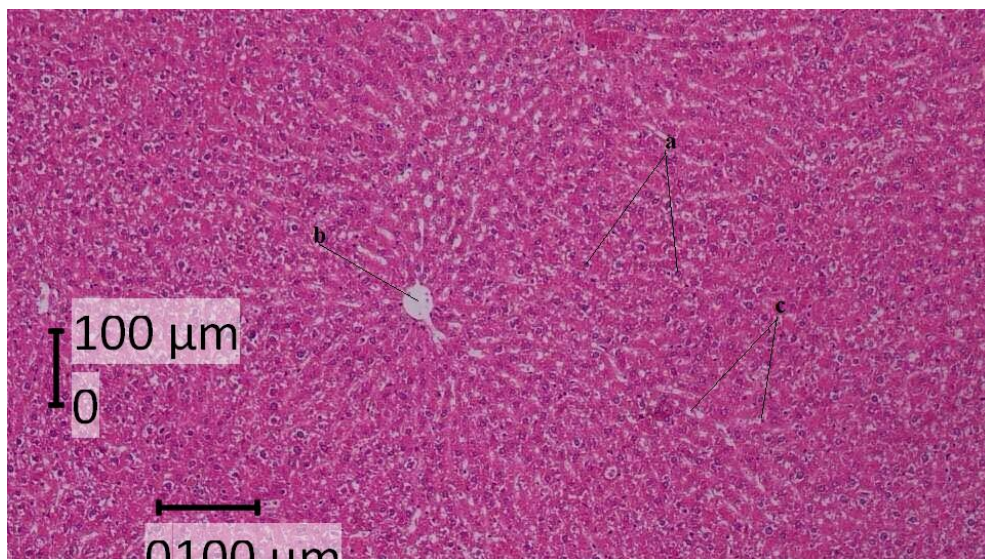


Gambar 8. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *one push* 5 menit (HE, 100x).
Keterangan: (a) sel-sel hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid



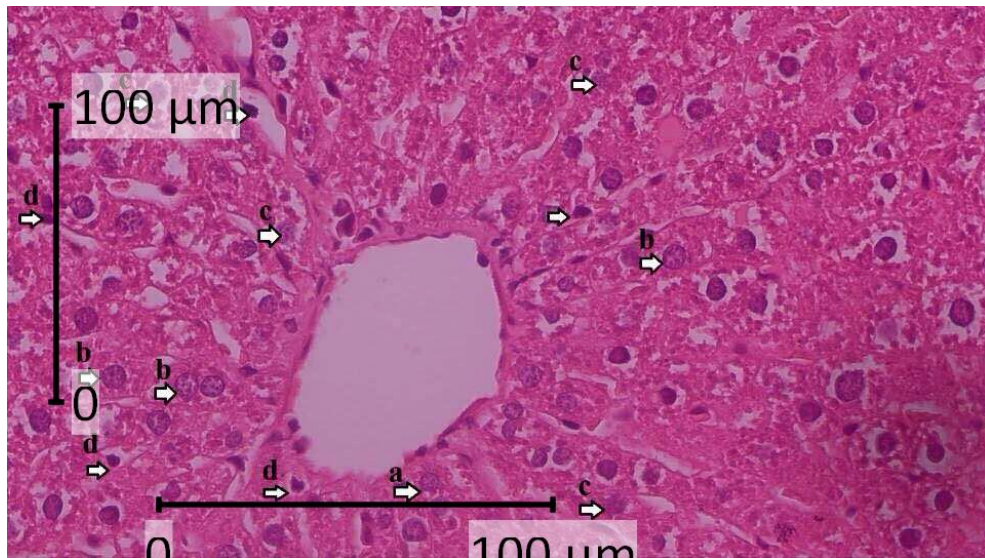
Gambar 9. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *one push* 5 menit (HE, 400x).

Keterangan: (a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, (d) menunjukkan sel hepar yang nekrosis dengan skor 4.



Gambar 10. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *one push* 10 menit (HE, 100x).

Keterangan: (a) sel-sel hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid



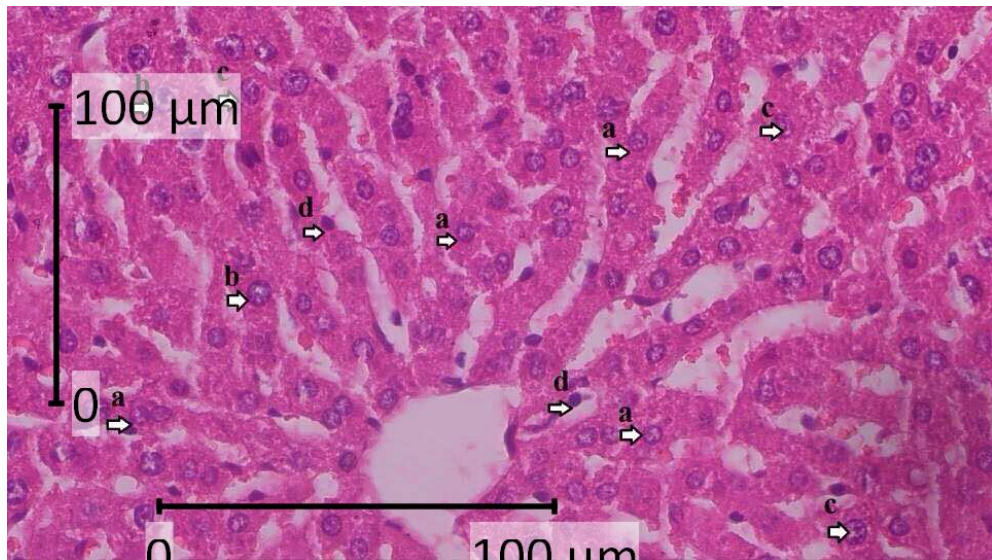
Gambar 11. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *one push* 10 menit (HE, 400x).

Keterangan: (a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, (d) menunjukkan sel hepar yang nekrosis dengan skor 4.



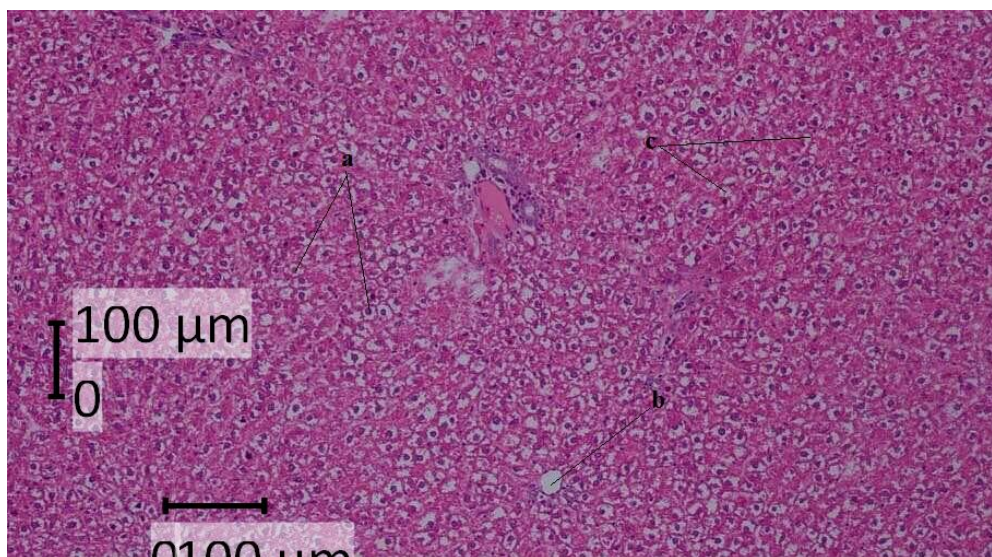
Gambar 12. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* 5 menit (HE, 100x).

Keterangan: (a) sel-sel hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid



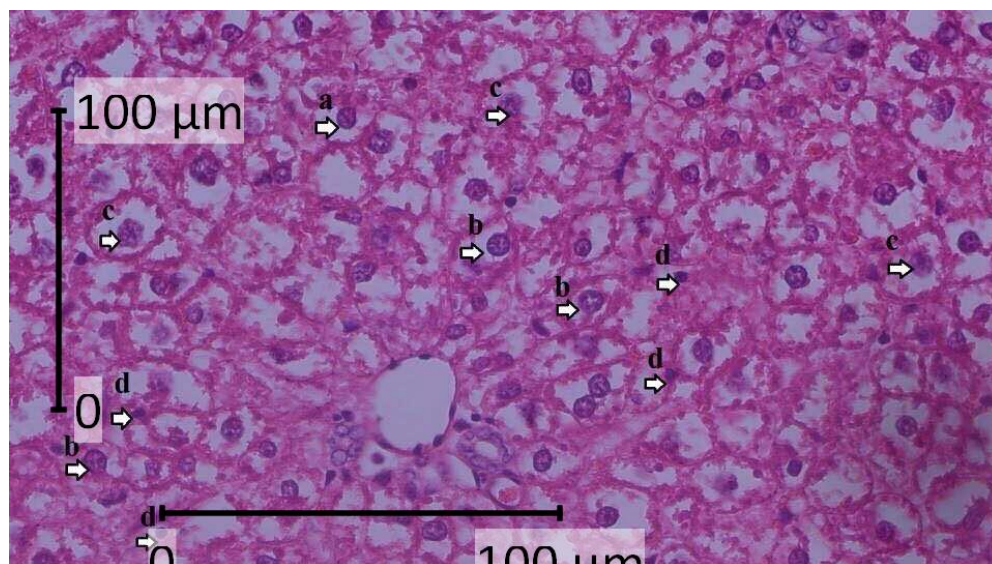
Gambar 13. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* 5 menit (HE, 400x)

Keterangan: (a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatosa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, (d) menunjukkan sel hepar yang nekrosis dengan skor 4.



Gambar 14. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* 10 menit (HE, 100x).

Keterangan: (a) sel-sel hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid



Gambar 15. Gambar histologi hepar kelompok perlakuan obat nyamuk *spray* 10 menit (HE, 400x).

Keterangan: (a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, (d) menunjukkan sel hepar yang nekrosis dengan skor 4.

Pengamatan di bawah mikroskop pada 5 lapang pandang vena sentralis dengan pembesaran 400 kali pada setiap kelompok didapatkan data mean (\bar{X}). Dari data mean tersebut kemudian diuji sebaran datanya menggunakan Kolmogorov-Smirnov karena jumlah sampel 150 ($N=150$, $N>50$). Hasil sebaran data pada kelompok kontrol $p=0,087$ ($p>0,05$), pada kelompok perlakuan *one push* 5 menit $p=0,183$ ($p>0,05$), pada kelompok perlakuan *one push* 10 menit $p=0,00$ ($p<0,05$) pada kelompok perlakuan *spray* 5 menit $p=0,029$ ($p<0,05$), sedangkan pada kelompok perlakuan *spray* 10 menit $p=0,008$ ($p<0,05$). Hasil nilai signifikansi (p) pada kelompok kontrol dan *one push* 5 menit menunjukkan bahwa sebaran distribusi data normal sedangkan

pada kelompok *spray* 5 menit, *spray* 10 menit dan *one push* 10 menit menunjukkan bahwa sebaran distribusi data tidak normal.

Tabel 2. Tabel rerata skor kerusakan histologi hepar ($X \pm SD$) *Rattus norvegicus* pada kelompok penelitian setelah diberi pendedahan obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push*.

Kelompok	Nilai skor kerusakan histologi hepar ($X \pm SD$)
Kontrol (K)	277,37 \pm 7,485 ^a
<i>One Push</i> 5 menit (P ₁)	306,07 \pm 16,366 ^a
<i>One push</i> 10 menit (P ₂)	307,68 \pm 31,125 ^b
<i>Spray</i> 5 menit (P ₃)	297,20 \pm 12,629 ^b
<i>Spray</i> 10 menit (P ₄)	314,18 \pm 27,354 ^b

Keterangan: ^{ab} huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada uji statistik Kruskal-Wallis dengan tingkat signifikan 95%.

Hasil tes sebaran data dari kelompok K dan P1 adalah normal, sementara kelompok P2, P3, P4 sebaran datanya tidak normal, sehingga pengolahan data dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik menggunakan Kruskal-Wallis. Uji statistik Kruskal Wallis menunjukkan nilai $p=0.515$ ($p>0,05$), yang berarti menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hasil ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan nilai yang signifikan diantara kelima kelompok yang dibandingkan.

C. Pembahasan

Gambaran histologi hepar tikus putih *Rattus norvegicus* yang diinduksi oleh obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push* ditentukan dengan skor kerusakan sel hepar. Hasil analisis data skor kerusakan histologi hepar dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* pada kelima kelompok penelitian menunjukkan nilai $p=0.515$ ($p>0,05$), yang berarti menunjukkan hasil yang

tidak signifikan. Hasil ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan nilai yang signifikan diantara kelima kelompok penelitian.

Data yang diperoleh di atas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi perlakuan obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push*. Gambaran kerusakan sel hepar pada kelompok kontrol (K) yaitu degenerasi parenkimatososa dan degenerasi hidropik. Hal ini mungkin terjadi karena faktor eksternal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti kondisi kandang yang kurang ideal faktor stress tikus, pengaruh zat atau penyakit lain dan faktor internal seperti daya tahan tikus (Desprinita, 2010). Gambaran histologi sel hepar pada kelompok K memberikan hasil rata-rata 277,37, dimana hasil rata-rata tersebut dianggap normal karena akan dijadikan pembanding bagi kelompok lain.

Pada penelitian yang dilakukan didapatkan bahwa pemaparan obat nyamuk *spray* dan obat nyamuk *one push* pada tikus putih *Rattus norvegicus* secara inhalasi selama 60 hari terjadi degenerasi sel hepar yaitu degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Degenerasi parenkimatososa merupakan degenerasi yang paling ringan, terjadi pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma dengan munculnya granul-granul dalam sitoplasma karena terdapat endapan protein. Sel yang terkena jejas tidak dapat mengeliminasi air sehingga tertimbun di dalam sel dan sel mengalami pembengkakan (Kumar *et al.*, 2010). Degenerasi hidropik merupakan derajat kerusakan yang lebih berat, sitoplasma pucat dan mengalami vakuolisasi, sel

hepar tampak bervakuola yang berisi air dalam sitoplasma yang tidak mengandung lemak dan glikogen (Tamad *et al.*, 2011). Sel yang nekrosis merupakan sel yang telah mengalami cedera kemudian dapat mengalami robekan membran plasma dan perubahan inti sehingga sel menjadi mati (Rafita, 2015)

Perubahan sel hepar yang terjadi pada kelompok P1 memberikan hasil rata-rata 306,07 dan perubahan sel hepar yang terjadi pada kelompok P2 memberikan hasil rata-rata kerusakan sel hepar sebesar 307,68 artinya terjadi kerusakan sel bila dibandingkan dengan kelompok K. Pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan kerusakan yang lebih parah, hal ini mungkin dikarenakan diberikan perlakuan pendedahan menggunakan obat nyamuk *one push* yang mengandung zat transfultrin sebanyak 21,3% sedangkan berdasarkan keputusan Menteri Pertanian No.401/Kpts/Sr140/6/2004 tentang pendaftaran pestisida untuk ekspor, telah diijinkan penggunaan pestisida dengan kadar kandungan bahan aktif transfultrin sebesar 0.04% (Raini, 2009). Artinya zat *tansfultrin* yang terkandung dalam *one push* telah melebihi kadar yang telah ditentukan. Hepar merupakan organ yang pertama dicapai oleh zat-zat toksik melalui aliran darah setelah diabsorpsi oleh epitel usus dan dibawa oleh vena porta menuju hepar. Adanya zat toksik dalam parenkim hepar dapat menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis dalam sel hepar. Hepar adalah organ yang sangat sensitif terhadap adanya zat toksik, hal ini berhubungan dengan fungsi metabolik di dalam sel hepar (Niendya, *et al.*, 2011).

Perubahan sel hepar yang terjadi pada kelompok P3 memberikan hasil rata-rata merusakkan sel hepar sebesar 297,20 dan perubahan sel hepar yang terjadi pada kelompok P4 memberikan hasil rata-rata merusakkan sel hepar sebesar 314,18 artinya terjadi kerusakan sel bila dibandingkan dengan kelompok K. Salah satu kandungan zat toksiknya adalah *allethrin*. Setelah zat toksik *allethrin* masuk saluran pernafasan, *allethrin* menuju ke peredaran darah dan menyebar ke seluruh tubuh bersama darah lalu menuju hati, mengalami detoksifikasi dan menghasilkan metabolit yang berperan sebagai radikal bebas (Ogg *et al.* 2009).

Allethrin dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang di karenakan metabolit potensial toksik dan bersifat radikal bebas. Stress oksidatif dapat menyebabkan sel nekrosis. Radikal bebas tersebut terbentuk di dalam tubuh akibat efek samping dari metabolisme atau karena tubuh terpapar radikal bebas melalui pernafasan (Wresdiyati, 2003). Zat toksik yang masuk melalui saluran nafas dapat menyebabkan gangguan metabolisme sel yang didahului oleh berkurangnya oksigen karena pengaruh senyawa toksik ke dalam tubuh. Degenerasi sel hepar dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan toksik atau metabolit lain. Hepar merupakan tempat metabolisme dan detoksifikasi. Kerusakan sel hepar mengakibatkan proses detoksifikasi menjadi terhambat sehingga sel hepar belum selesai bekerja mendetoksifikasi akan terkena paparan zat toksik dan terakumulasi dalam sel hepar. Beberapa gejala yang muncul akibat toksisitas adalah asma, reaksi anafilaksis yang disertai rusaknya pembuluh darah. Paparan pyrethroid secara oral pada tikus

putih mengakibatkan perubahan patologis pada sel hepar (Desprinita, *et al.*, 2010).

Dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Elvi Susanti dengan judul Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi Insektisida Piretroid, menunjukkan bahwa pemberian insektisida piretroid menyebabkan kerusakan sel hati tikus berupa degenerasi lemak dan nekrosis. Degenerasi lemak dapat terjadi karena terbentuknya radikal bebas yang merusak membran lipid yang disertai pembentukan peroksidasi lipid yang akan menyebabkan kerusakan sel.

Dosis rendah dari *pyrethroid* menyebabkan disorganisasi sedang dari lamina hepatik dan dosis lebih tinggi menyebabkan nekrosis dari sel hepatik dengan nuklei piknotik (Grewal, *et al.*, 2010). *Pyrethroid* mempunyai toksisitas yang rendah pada manusia, karena *pyrethroid* tidak terabsorpsi dengan baik oleh kulit. Meski demikian, bukan berarti kandungan *pyrethroid* tidak berbahaya pada manusia. Pemaparan *pyrethroid* secara terus-menerus pada ruang yang tertutup dan ventilasi yang buruk dapat menimbulkan gejala toksisitas pada manusia (Grewal, *et al.*, 2010). Paparan secara langsung melalui inhalasi dan dermal saat hewan uji diletakkan dalam kandang perlakuan akan menghirup zat toksik melalui inhalasi. Efek dermal yang ditimbulkan tidak terlalu berefek sistemik karena hewan uji memiliki bulu sebagai perlindungan sehingga zat toksik sulit menembus kulit (Yuningtyaswari & Haryani, 2012).

Hepatotoksisitas akibat senyawa kimia merupakan komplikasi potensial yang hampir selalu ada pada setiap senyawa kimia yang diberikan karena hepar merupakan pusat disposisi metabolik dari semua obat dan bahan asing yang masuk tubuh. Hepar merupakan organ yang pertama yang dicapai oleh zat-zat toksik, merupakan tempat metabolisme dan detoksifikasi (Niendya, et al., 2011).

Pada kelompok P3 menunjukkan hasil gambaran histologi hepar yang minimal. Hal ini dimungkinkan pada kelompok P3 diberikan paparan hanya dalam waktu yang pendek dibandingkan dengan kelompok P4. Selain itu lamanya pemberian paparan juga berpengaruh, hal tersebut dikarenakan hewan uji semakin lama menghirup udara dalam kandang perlakuan yang udaranya sudah tercemar oleh zat toksik.

Pada kelompok K, tikus dibiarkan di dalam kandang perlakuan. Walaupun kelompok K tidak diberikan paparan zat aktif, tetapi menunjukkan gambaran histologi sel hepar yang kurang bagus. Hal ini dikarenakan ketika dilakukannya perlakuan terhadap kelompok lain, kandang kelompok K dikeluarkan untuk diberi makan dan minum, diletakkan dekat dengan kandang perlakuan, sehingga kemungkinan hal inilah yang menyebabkan kelompok kontrol ikut serta terkena paparan zat toksik. Selain itu, ruangan perlakuan dan perawatan yang digunakan dalam penelitian ini tidak memenuhi standar, sehingga berpeluang menyebabkan kerusakan sel hepar.

Keterbatasan yang ada dalam penelitian ini adalah tidak dilakukan second observer oleh ahli patologi anatomi sehingga memungkinkan terjadi

bias pada pengamatan. Selain itu, sebelum pengambilan sampel tidak dilakukan pemeriksaan terhadap hepar tikus, sehingga terdapat kemungkinan ketika tikus diambil sebagai sampel telah mengalami kerusakan sebelumnya. Hal ini terlihat pada kelompok kontrol juga ditemukan gambaran degenerasi parenkim, degenerasi hidropik dan nekrosis pada sel hepar sehingga penelitian serupa perlu dilakukan penutup kekurangan yang ada sehingga bisa didapatkan hasil keakuratan yang lebih tinggi.