

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian ini menggunakan subjek tikus putih *Rattus norvegicus* jantan galur wistar yang berusia dua bulan berjumlah 24 ekor. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), kelompok perlakuan dengan pemberian VCO 1 ml (P1), dan kelompok perlakuan dengan pemberian VCO 3 ml (P2) dengan masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor.

Kelompok kontrol positif (K+), kelompok VCO 1 ml (P1), dan kelompok VCO 3 ml (P2) diberi parasetamol dengan dosis 200 mg/200 gr tikus wistar selama 2 hari. Kemudian, kelompok VCO 1 ml (P1) dan kelompok VCO 3 ml (P2) diberi VCO sesuai dosis masing-masing perlakuan selama 7 hari. Sementara kelompok kontrol negatif hanya diletakkan dalam kandang saja tanpa diberi perlakuan apapun selama 9 hari.

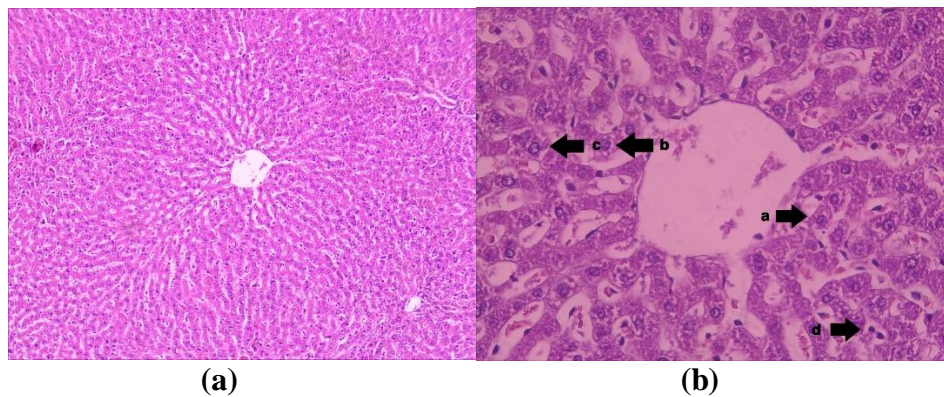
Hari ke-10 setelah pemberian perlakuan dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ. Setelah dilakukan pembedahan, hepar dimasukkan ke dalam pot air untuk difiksasi menggunakan larutan formalin buffer 10% sampai seluruh bagian organ hepar terendam. Setelah itu, hepar tersebut dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan hematoxylin-eosin (HE), lalu diamati di bawah mikroskop.

Preparat diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 10x10 kali dan 10x40 kali untuk menghitung skor kerusakan sel hepar. Masing-masing

preparat diamati 40 sel kemudian direrata. Penilaian skor kerusakan sel hepar berdasarkan skor Manja Roenigk dan dianalisis secara kuantitatif.

B. Hasil Penelitian

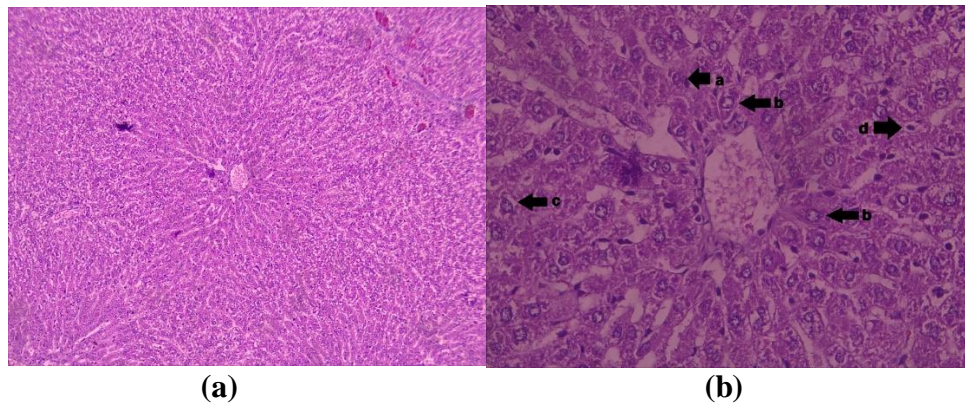
Hasil pengamatan mikroskop yang mewakili masing-masing kelompok perlakuan dan dilihat pada gambar dan tabel.



Gambar 8. (a) Gambar histopatologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok kontrol negatif (HE, 100x) (b) (HE, 400x).

Keterangan :

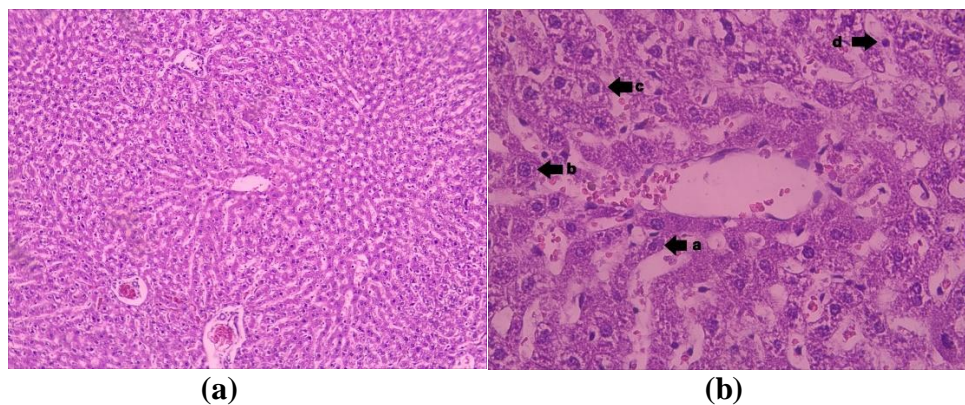
(a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, dan (d) menunjukkan sel hepar yang mengalami nekrosis dengan skor 4.



Gambar 9. (a) Gambar histopatologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok kontrol positif yang diberi parasetamol 200 mg/200 gr selama 2 hari (HE, 100x) (b) (HE, 400x)..

Keterangan :

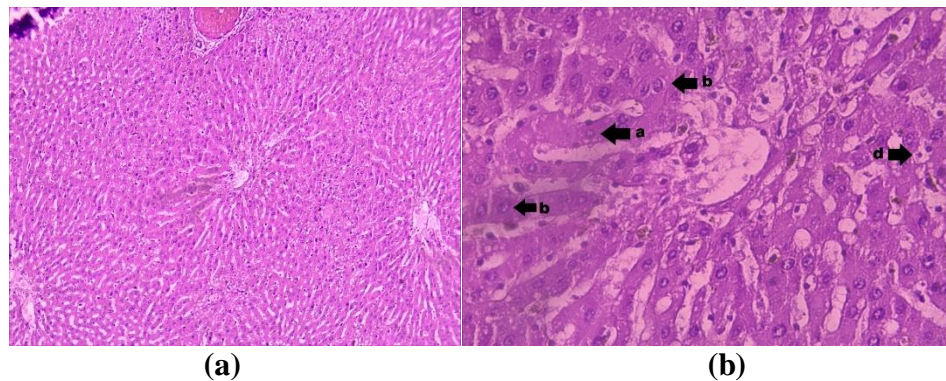
(a) menunjukkan sel normal hepar dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2, (c) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi hidropik dengan skor 3, dan (d) menunjukkan sel hepar yang mengalami nekrosis dengan skor 4.



Gambar 10. (a) Gambar histopatologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok VCO 1 ml yang diberi parasetamol 200 mg/200 gr selama 2 hari kemudian diberikan VCO 1 ml (HE, 100x) (b) (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, dan (d) menunjukkan sel hepar yang mengalami nekrosis dengan skor 4.



Gambar 11. (a) Gambar histopatologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok VCO 3 ml yang diberi parasetamol 200 mg/200 gr selama 2 hari kemudian diberikan VCO 3 ml (HE, 100x) (b) (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, dan (d) menunjukkan sel hepar yang mengalami nekrosis dengan skor 4.

Pengamatan di bawah mikroskop pada 5 lapang pandang mengelilingi vena sentralis hepar dengan perbesaran 400 kali pada setiap kelompok didapatkan data rerata. Data rerata tersebut kemudian diuji statistik SPSS dan didapatkan hasil deskriptif sebagai berikut :

Tabel 5. Tabel deskriptif skor gambaran histopatologi hepar pada tikus wistar

Kelompok	Jumlah	Rerata	Standar Deviasi	Nilai Minimum	Nilai Maksimum
Kontrol Negatif	6	1,285	0,049	1,230	1,370
Kontrol Positif	6	2,748	0,061	2,640	2,815
VCO 1 ml	6	2,737	0,054	2,650	2,815
VCO 3 ml	6	2,162	0,104	2,055	2,325

Berdasarkan tabel di atas didapatkan rerata skor histopatologi hepar paling rendah terdapat pada kelompok kontrol negatif (K-) dengan skor $1,285 \pm 0,049$ dan rerata skor histopatologi hepar paling tinggi terdapat pada

kelompok kontrol positif (K+) dengan skor $2,748 \pm 0,061$. Kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui normalitas distribusi data. Didapatkan hasil $p > 0,05$ yang membuktikan bahwa distribusi data adalah normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui homogenitas varian-varian dari sampel menggunakan *Levene test*. Didapatkan hasil $p = 0,251$ ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa keempat kelompok memiliki varian populasi sampel yang homogen sehingga memenuhi syarat untuk dilakukannya uji statistik menggunakan *One-Way ANOVA*. Setelah itu didapatkan hasil nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang memiliki makna bahwa rerata skor histopatologi hepar dari keempat kelompok tersebut memang berbeda. Untuk mengetahui perbedaan rerata skor histopatologi hepar antar kelompok, digunakan uji analisis *Tukey* dalam *post hoc test*.

Uji *post hoc* Tukey antarkelompok K- dan K+ menunjukkan hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan skor gambaran histopatologi hepar yang signifikan.

Kelompok K- dan P1 menunjukkan hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan skor gambaran histopatologi hepar yang signifikan.

Kelompok K- dan P2 menunjukkan hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan skor gambaran histopatologi hepar yang signifikan.

Kelompok K+ dan P1 menunjukkan hasil $p=0,993$ ($p>0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok tersebut tidak memiliki perbedaan skor gambaran histopatologi hepar yang signifikan.

Kelompok K+ dan P2 menunjukkan hasil $p=0,000$ ($p<0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan skor gambaran histopatologi hepar yang signifikan.

Kelompok P1 dan P2 menunjukkan hasil $p=0,000$ ($p<0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok tersebut memiliki perbedaan skor gambaran histopatologi hepar yang signifikan.

C. Pembahasan

Area kerusakan hepatosit akibat parasetamol terbesar adalah di zona sentral (zona 3) yang mengelilingi vena sentral. Hal ini disebabkan zona 3 merupakan zona yang mengandung konsentrasi CYP2E1 tertinggi di banding zona lain sehingga metabolit NABQI juga lebih banyak terakumulasi di zona sentral (Zaenuri, 2007).

Pada kondisi normal sitoplasma berwarna merah jambu agak basofilik dengan pengecatan HE. Warna basofilik didapat dari ribosomal RNA (rRNA). Pada manifestasi awal kerusakan hepar, sejumlah besar rRNA berkurang sehingga warna kebiruan pada sitoplasma menghilang dan nampak pucat. Pembengkakan retikulum endoplasma dan mitokondria membuat gambaran bercak berawan pada sitoplasma (*cloudy swelling*). Gambaran histologi menunjukkan sel dan organel membengkak dan terjadi

pelebaran kapiler pada sinusoid hepar. Hal ini disebut dengan degenerasi albuminosa yang bersifat reversibel. Bila penimbunan air terus berlanjut akan timbul vakuola-vakuola yang nampak cerah dalam sitoplasma yang disebut sebagai degenerasi vakuoler/degenerasi hidropik dan apabila jejas masih terus berlanjut akan terjadi nekrosis sel. Pada inti sel, kematian sel akan memberikan gambaran inti sebagai berikut:

1. Kariolisis, berupa hilangnya gambaran basofilik
2. Kariopiknosis, inti melisut dan terjadi peningkatan warna basofilik
3. Karioheksis, inti yang piknotik atau sebagian piknotik dan mengalami fragmentasi (Nurdiana, 2012).

Skor kerusakan hepatosit pada kelompok kontrol positif memiliki skor tertinggi diantara kelompok lainnya. Hasil gambaran sel hepar pada kelompok kontrol positif menunjukkan terjadinya degenerasi dan nekrosis. Kerusakan pada sel hepar ini disebabkan oleh efek toksik dari parasetamol yang menghasilkan metabolit NABQI yang terakumulasi di zona sentral (Zaenuri, 2007).

Skor kerusakan hepatosit pada kelompok kontrol negatif memiliki skor terendah diantara kelompok lainnya dikarenakan pada kelompok kontrol negatif tidak diberikan perlakuan apapun. Kemudian pada kelompok perlakuan yang diberikan parasetamol didapatkan skor kerusakan hepatosit terendah pada kelompok VCO 3 ml.

VCO merupakan ekstrak minyak kelapa murni yang diolah secara alami, tanpa menggunakan pemanasan dan bahan pengawet (Selangor dkk,

2012). Kandungan asam lemak utama dalam VCO adalah asam laurat yang termasuk MCFA, dimana MCFA dapat diserap usus secara cepat dan tanpa enzim lipase pankreas. Setelah itu MCFA tidak dikemas dalam bentuk lipoprotein sebagaimana lemak pada umumnya, melainkan langsung dibawa ke hepar melalui vena porta (Dayrit, 2013). VCO juga memiliki senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi dan immunomodulator pada hepar. Senyawa polifenol tersebut berperan sebagai pengganti GSH sebagai antioksidan untuk mencegah oksidasi GSH menjadi GSSH. GSH merupakan antioksidan alami pada hepar yang jumlahnya semakin berkurang saat terjadi kerusakan hepar akibat akumulasi NABQI (Zakaria dkk, 2011).

Pada penelitian ini, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok VCO 1 ml. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Zakaria (2011) karena pada dosis 1 ml efek hepatoprotektif tidak didapatkan karena kandungan asam lemak rantai sedang (*medium chain fatty acid/MCFA*) hampir seluruhnya langsung dimetabolisme oleh hepar sehingga tidak memberikan efek pada hepatosit.

Sedangkan pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan VCO 3 ml didapatkan perbedaan yang bermakna. Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Manatar (2013) karena pada dosis 3 ml aktivitas regenerasi pada hepatosit didapatkan sebagai kompensasi jaringan terhadap cedera ditambah oleh aktivitas polifenol dan tokoferol (Vitamin E) yang berperan menghambat stres oksidatif lebih lanjut dengan menghambat preoksidasi

lipid oleh radikal bebas yang dibentuk oleh senyawa NABQI. Selain itu senyawa tersebut juga mempertahankan integritas membran sel dengan menghambat aktivitas nitrit oksida endotel.

Pada penelitian ini, perubahan histopatologi hepar pada kelompok VCO 3 ml menunjukkan berkurangnya kerusakan hepatosit walau belum mencapai gambaran normal. Hal ini dapat disebabkan oleh berbagai hal seperti rentang waktu pemberian yang kurang panjang, dosis yang kurang optimal atau adanya kelainan hepar yang tidak terdeteksi sebelum perlakuan.