

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian ini menggunakan subyek tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar berusia 1 bulan berjumlah 32 ekor. Sampel dikelompokkan menjadi 8 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol (K0), 1 kelompok kontrol negatif (P), 3 kelompok kontrol positif (K1, K2, K3), dan 3 kelompok perlakuan (PK1, PK2, PK3). Setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

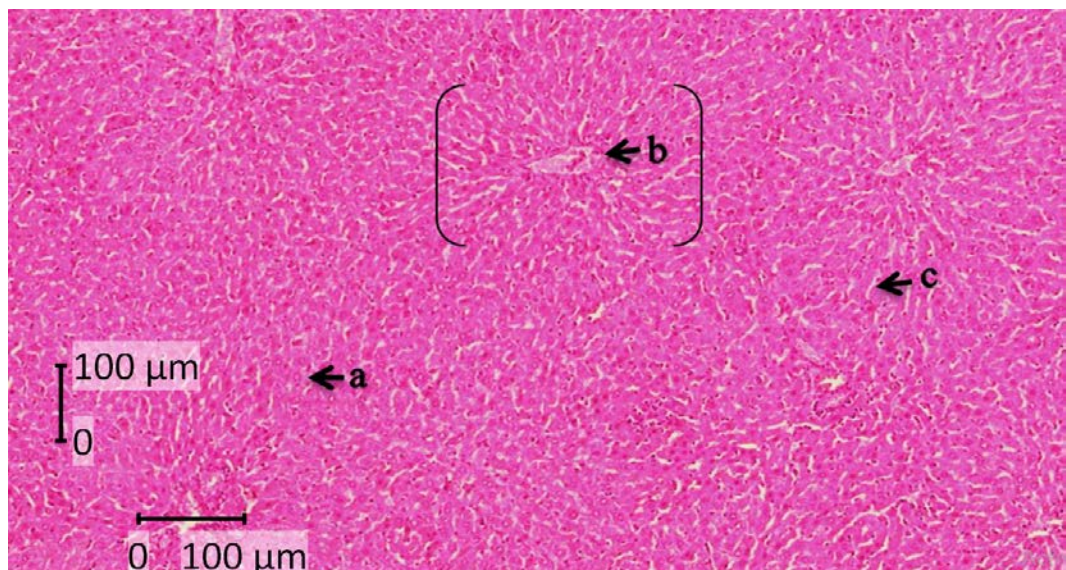
Kelompok kontrol (K0) hanya diletakkan di dalam kandang perlakuan selama 4 jam/hari tanpa diberi perlakuan apapun. Kelompok kontrol negatif (P) dipapar pewangi ruangan selama 4 jam/hari di dalam kandang perlakuan. Kelompok kontrol positif diletakkan di dalam kandang sesuai kelompoknya dan diberi serbuk kurma peroral dengan dosis 120 mg/KgBB untuk K1, 240 mg/KgBB untuk K2, serta 360 mg/KgBB untuk K3. Sementara itu, kelompok perlakuan dipapar pewangi ruangan selama 4 jam/hari lalu diberi serbuk kurma dengan dosis 120 mg/KgBB untuk PK1, 240 mg/KgBB untuk PK2, dan 360 mg/KgBB untuk PK3 di dalam kandang perlakuan. Semua perlakuan diberikan selama 30 hari.

Pembedahan semua hewan uji untuk mengambil organ hepar dilakukan pada hari ke-31. Organ hepar difiksasi dalam larutan formalin *buffer* 10% untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan

teknik parafin blok menggunakan pewarnaan Hematoksin dan Eosin (HE). Preparat diamati dengan mikroskop pada 25 sel hepar di sekitar vena centralis dengan perbesaran 40 x 10 kali pada 5 lapang pandang. Kerusakan sel hepar diberi skor berdasarkan skoring histopatologi hepar Manja Roenigk dan dianalisis secara kuantitatif.

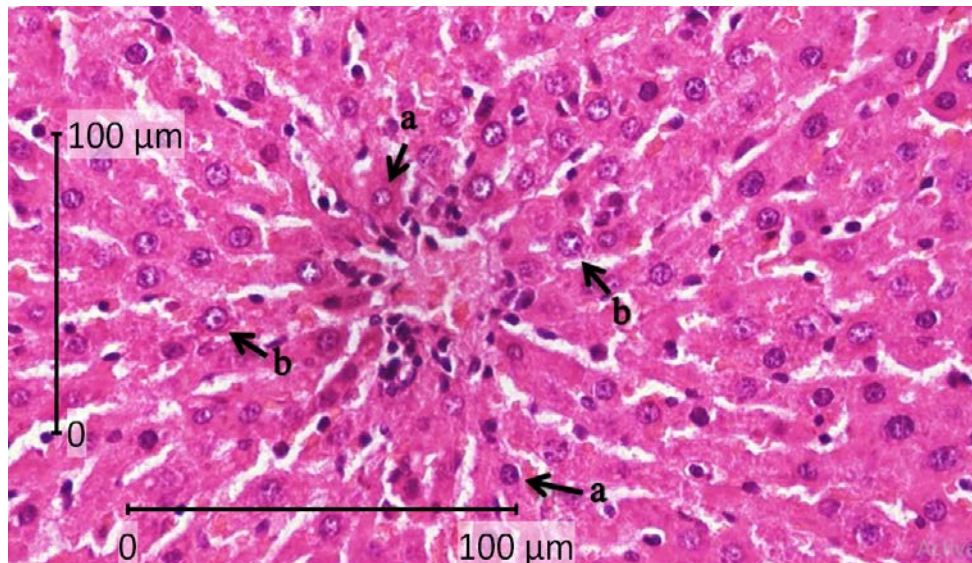
B. Hasil Penelitian

Hasil pengamatan preparat menggunakan mikroskop yang mewakili masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar berikut.



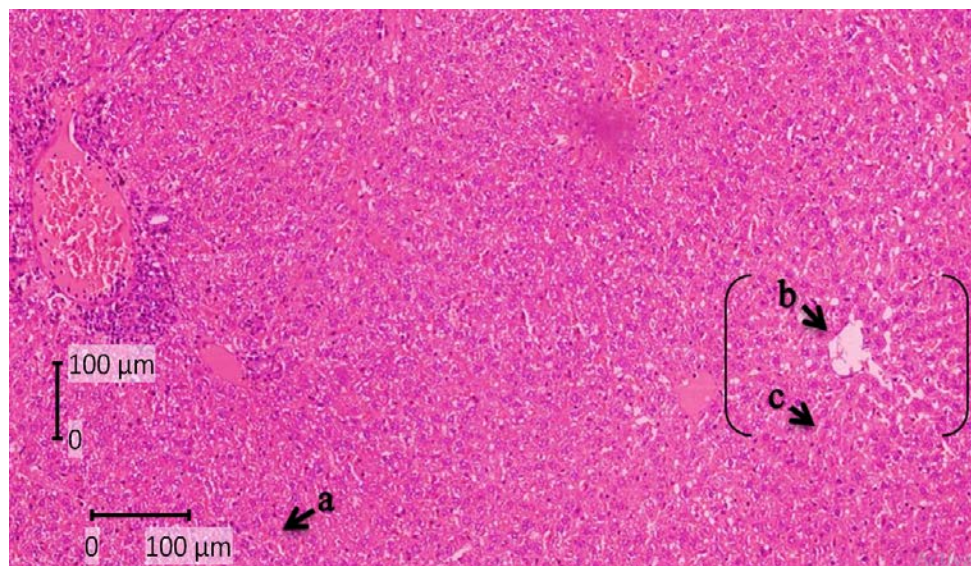
Gambar 6. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok kontrol (HE, 100x)

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



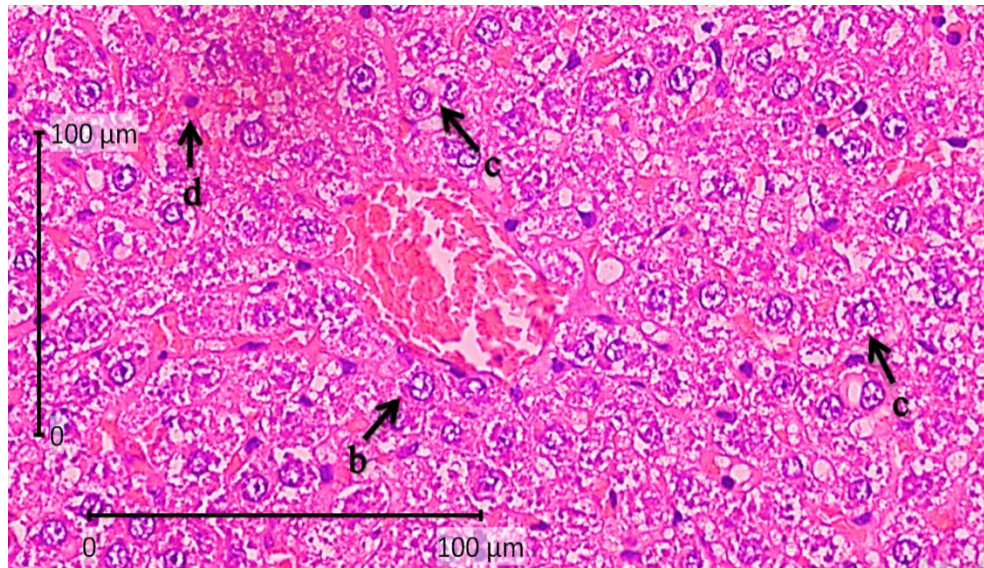
Gambar 7. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok kontrol (HE, 400x)

Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatosa dengan skor 2.



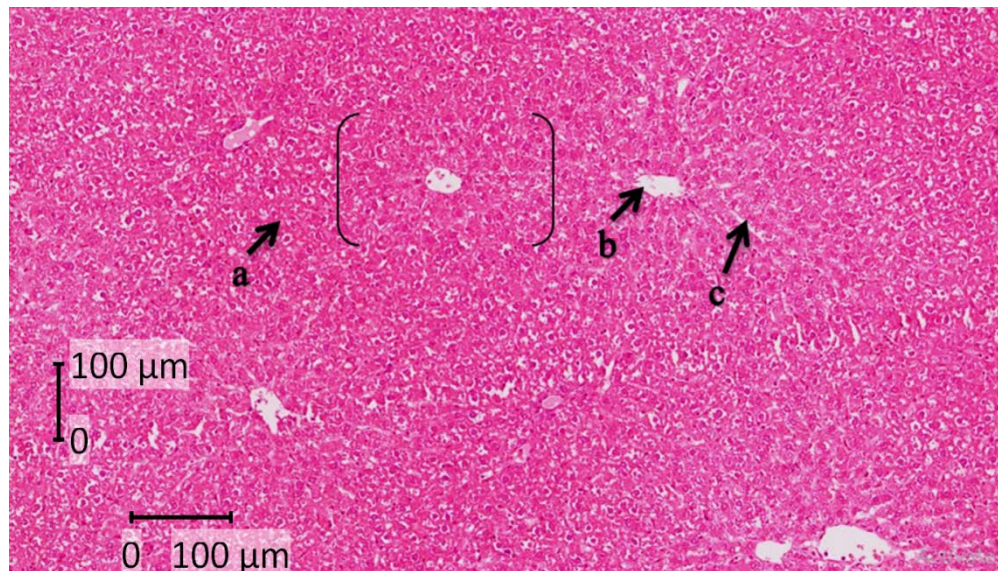
Gambar 8. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang dipapar pewangi ruangan 4 jam/hari (HE, 100X)

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



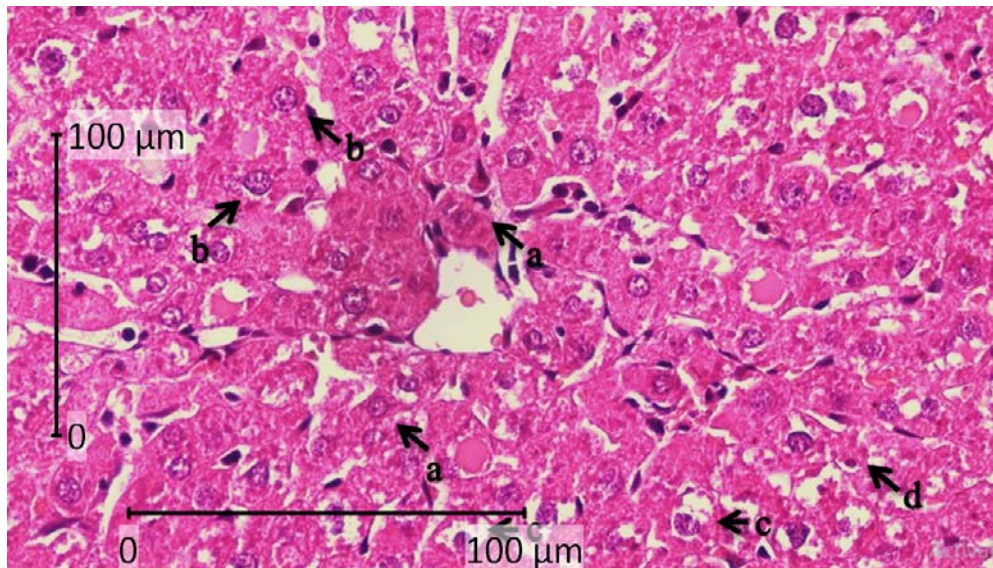
Gambar 9. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang dipapar pewangi ruangan 4 jam/hari (HE, 400X)

Keterangan : (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 mengalami nekrosis dengan skor 4.



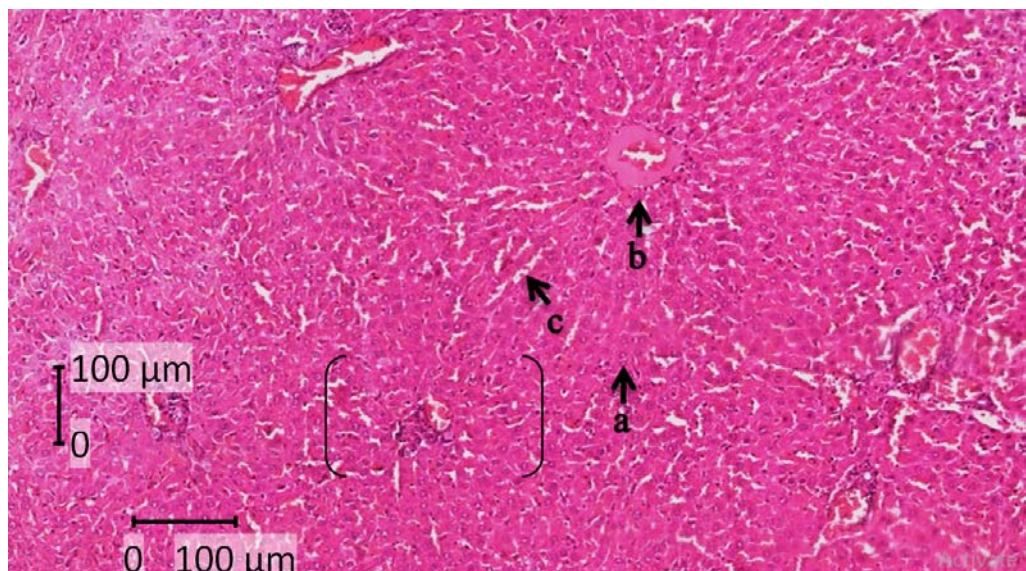
Gambar 10. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi serbuk kurma 120 mg/KgBB (HE, 100X)

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



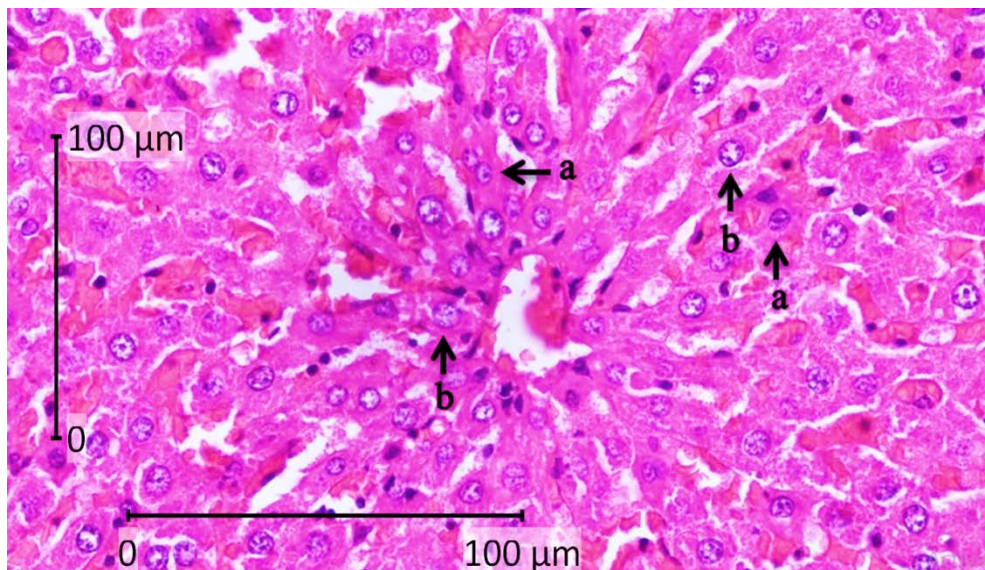
Gambar 11. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi serbuk kurma 120 mg/KgBB (HE, 400X)

Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal 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 mengalami nekrosis dengan skor 4.

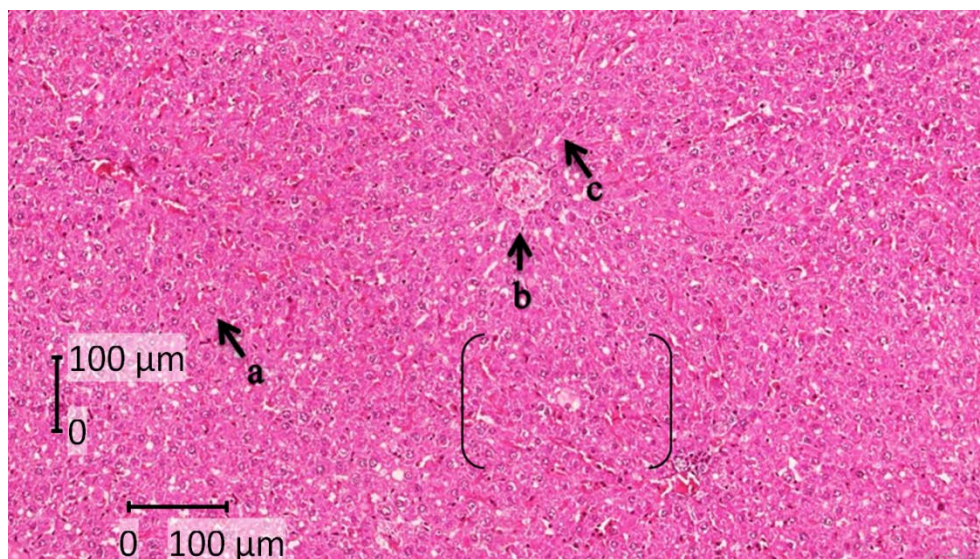


Gambar 12. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi serbuk kurma 240 mg/KgBB (HE, 100X)

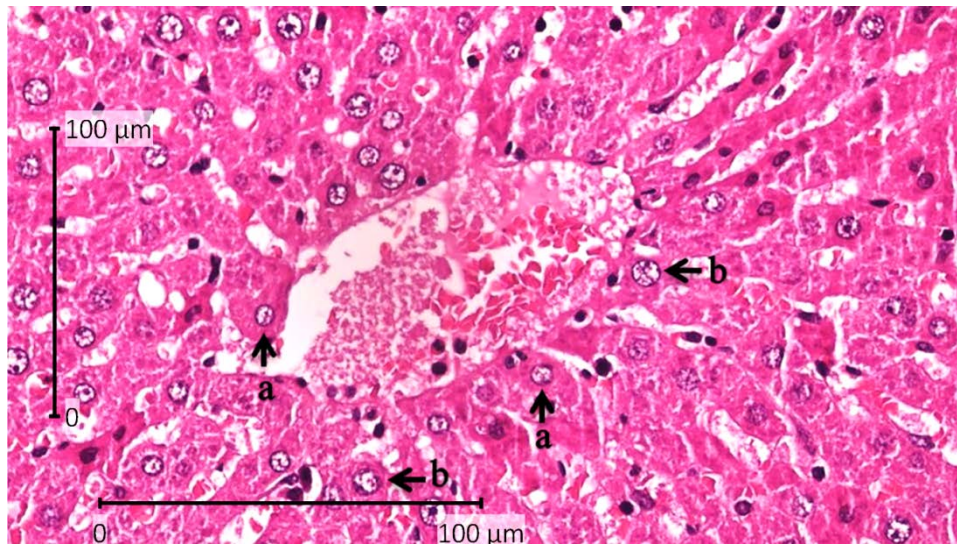
Keterangan : (a) hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid.



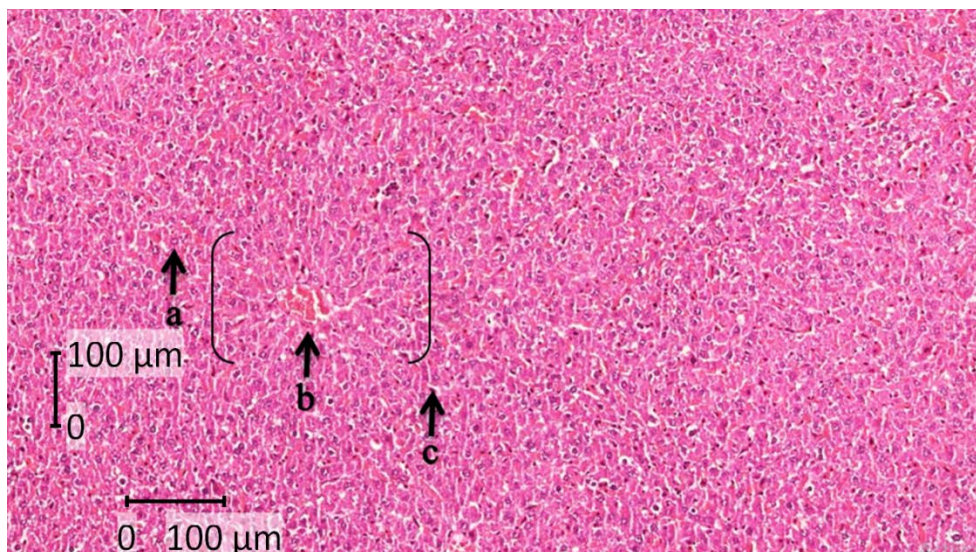
Gambar 13. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi serbuk kurma 240 mg/KgBB (HE, 400X)
Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2.



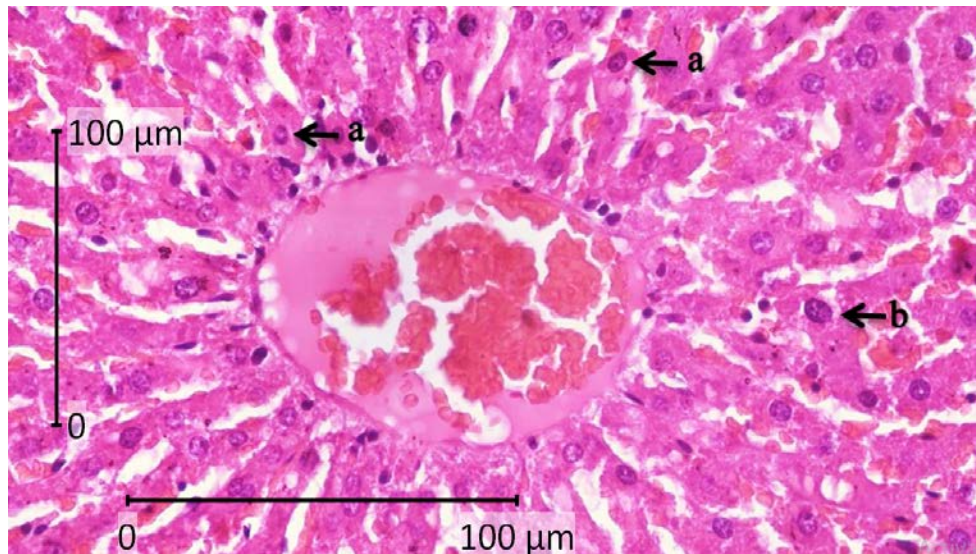
Gambar 14. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi serbuk kurma 360 mg/KgBB (HE, 100X)
Keterangan : (a) hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid.



Gambar 15. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi serbuk kurma 360 mg/KgBB (HE, 400X)
 Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatosa dengan skor 2.

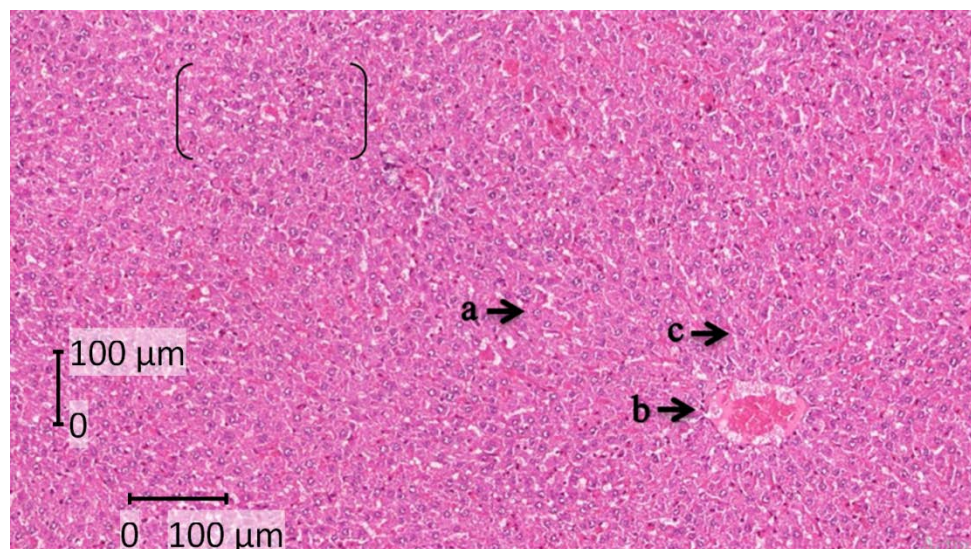


Gambar 16. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi pewangi ruangan 4 jam/hari dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (HE, 100X)
 Keterangan : (a) hepatosit, (b) vena sentralis, (c) sinusoid.



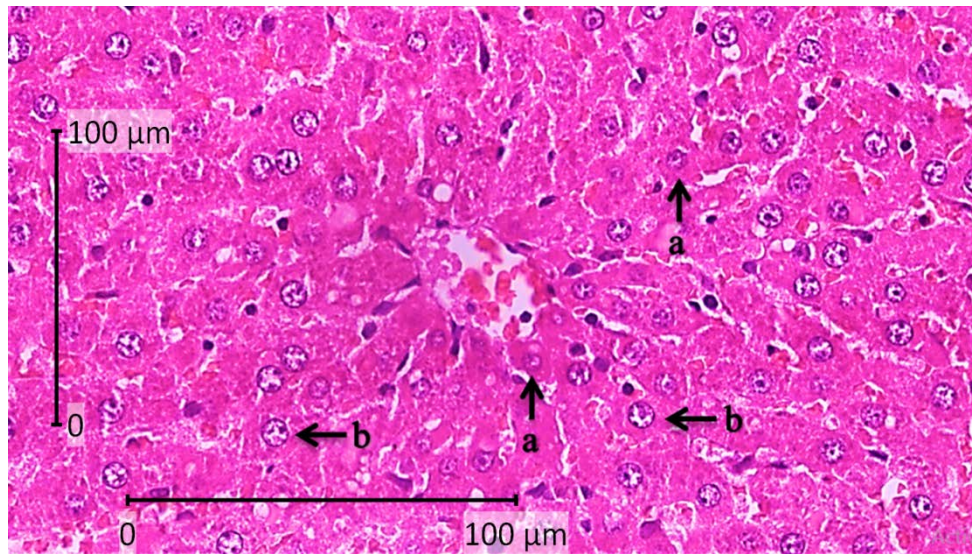
Gambar 17. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi pewangi ruangan 4 jam/hari dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (HE, 400X)

Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatososa dengan skor 2.



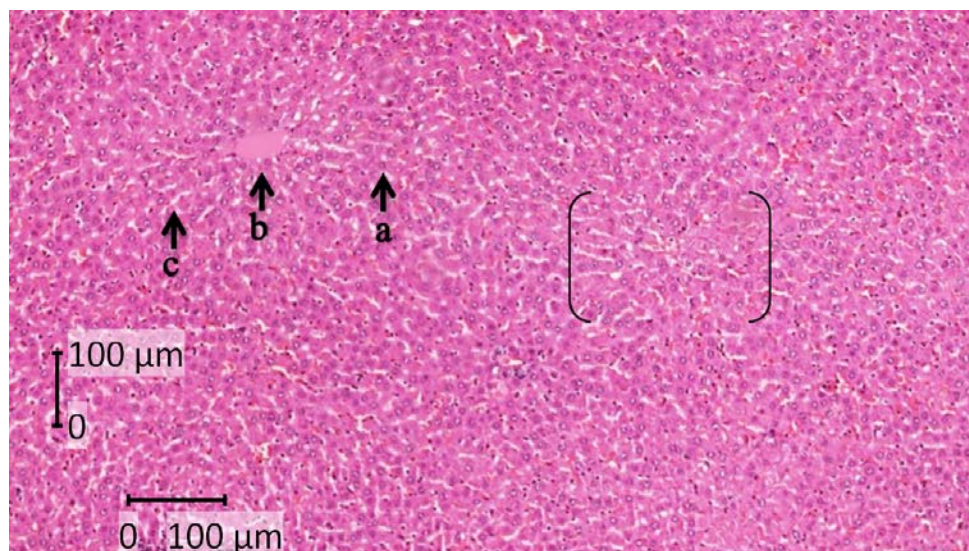
Gambar 18. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi pewangi ruangan 4 jam/hari dan serbuk kurma 240 mg/KgBB (HE, 100X)

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



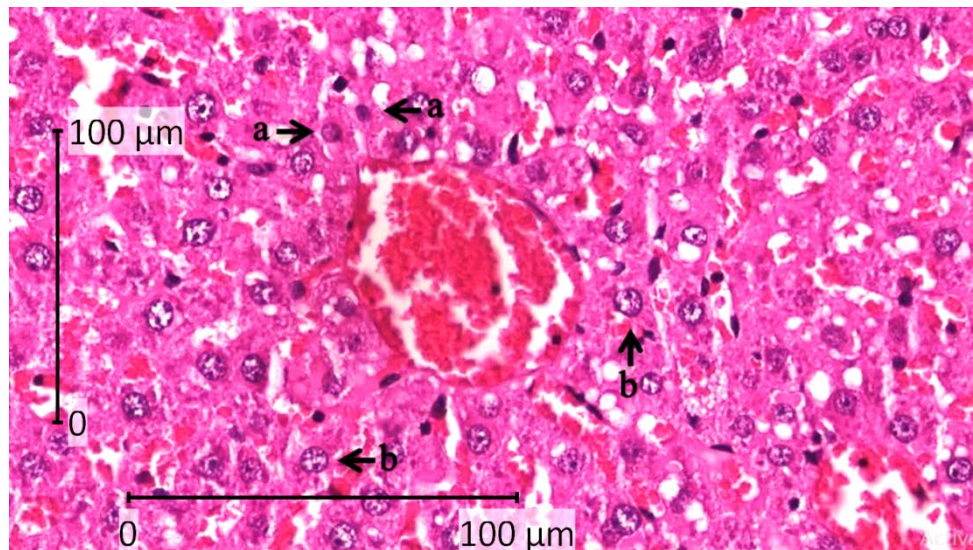
Gambar 19. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi pewangi ruangan 4 jam/hari dan serbuk kurma 240 mg/KgBB (HE, 400X)

Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatosia dengan skor 2.



Gambar 20. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi pewangi ruangan 4 jam/hari dan serbuk kurma 360 mg/KgBB (HE, 100X)

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



Gambar 21. Histologi hepar *Rattus norvegicus* kelompok yang diberi pewangi ruangan 4 jam/hari dan serbuk kurma 360 mg/KgBB (HE, 400X)

Keterangan : (a) menunjukkan sel hepar normal dengan skor 1, (b) menunjukkan sel hepar yang mengalami degenerasi parenkimatosa dengan skor 2.

Pengamatan pada 5 lapang pandang di sekitar vena centralis dengan perbesaran 400 kali didapatkan data mean (\bar{x}). Data mean tersebut kemudian diuji sebaran datanya menggunakan metode *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel 40 ($N=40, N<50$). Hasil uji sebaran data pada setiap kelompok menunjukkan nilai $p>0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa sebaran data normal. Hasil uji sebaran data dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 4. Hasil uji sebaran data skor kerusakan hepar kelompok penelitian dengan metode *Shapiro-Wilk*

| Kelompok | Signifikansi |
|-------------------------------------------------------|--------------|
| Kontrol (K0) | 0,095 |
| Pewangi ruangan (P) | 0,595 |
| Serbuk kurma 120 mg/KgBB (K1) | 0,564 |
| Serbuk kurma 240 mg/KgBB (K2) | 0,484 |
| Serbuk kurma 360 mg/KgBB (K3) | 0,402 |
| Pewangi ruangan dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (PK1) | 0,318 |
| Pewangi ruangan dan serbuk kurma 240 mg/KgBB (PK2) | 0,406 |
| Pewangi ruangan dan serbuk kurma 360 mg/KgBB (PK3) | 0,088 |

Pengolahan data dilanjutkan dengan uji statistik parametrik menggunakan uji *One Way ANOVA*. Uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$), yang berarti menunjukkan hasil yang signifikan atau terdapat perbedaan nilai yang bermakna di antara delapan kelompok yang dibandingkan. Ada atau tidaknya perbedaan gambaran histologi hepar pada setiap kelompok dilakukan dengan menggunakan uji *post hoc Duncan*. Rata-rata skor kerusakan histologi hepar tertinggi dimiliki oleh kelompok pewangi ruangan (P), sedangkan

terendah dimiliki oleh kelompok pewangi ruangan dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (PK1). Perbedaan signifikan didapatkan antara kelompok kontrol (K0) dengan kelompok pewangi ruangan (P) dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (K1), namun tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok lainnya. Rata-rata skor kerusakan histologi hepar dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 5. Rata-rata skor kerusakan histologi hepar ($x \pm SD$) *Rattus norvegicus* setelah dipapar pewangi ruangan 4 jam/hari dan diberi serbuk kurma dengan dosis tertentu selama 30 hari

| Kelompok | Nilai skor kerusakan histologi hepar ($x \pm SD$) |
|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Kontrol (K0) | 215,5000 \pm 13,37909 ^a |
| Pewangi ruangan (P) | 294,5000 \pm 28,54820 ^b |
| Serbuk kurma 120 mg/KgBB (K1) | 283,0000 \pm 16,45195 ^b |
| Serbuk kurma 240 mg/KgBB (K2) | 211,0000 \pm 15,03330 ^a |
| Serbuk kurma 360 mg/KgBB (K3) | 219,7500 \pm 23,37199 ^a |
| Pewangi ruangan dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (PK1) | 207,0000 \pm 29,08608 ^a |
| Pewangi ruangan dan serbuk kurma 240 mg/KgBB (PK2) | 232,2500 \pm 1,25831 ^a |
| Pewangi ruangan dan serbuk kurma 360 mg/KgBB (PK3) | 230,0000 \pm 16,26858 ^a |

Keterangan : ^{a,b} huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan dan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada uji statistik Kruskal Wallis dengan tingkat signifikansi 95%

C. Pembahasan

Hepar merupakan organ metabolik yang dapat disebut pabrik biokimia utama tubuh. Organ ini memiliki berbagai fungsi, salah satunya adalah mendetoksifikasi zat sisa tubuh, hormon, obat, atau senyawa yang dianggap asing oleh tubuh (Sherwood, 2014). Hepar juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan darah. Sel Kupffer atau makrofag yang ditemukan pada hepar bertugas membersihkan darah saat melalui sinus hepar (Barret *et al.*, 2010). Hepar merupakan organ pertama yang dicapai oleh zat-zat toksik melalui aliran darah dalam vena porta setelah diabsorpsi oleh epitel usus. Penumpukan zat toksik dalam parenkim hepar dapat menyebabkan kerusakan pada hepatosit dan perubahan histopatologis (Niendya W *et al.*, 2011)

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol (K0) ditemukan gambaran sel hepar normal dan kerusakan sel hepar yaitu degenerasi parenkimatosia. Secara teori, kondisi sel hepar pada kelompok K0 normal. Degenerasi parenkimatosia yang terjadi dipengaruhi oleh faktor internal seperti daya tahan dan kerentanan tikus yang berbeda-beda, maupun faktor eksternal seperti kondisi kandang yang kurang ideal, stres pada tikus, pengaruh zat atau penyakit lain (Desprinita, 2010). Degenerasi parenkimatosia itu sendiri merupakan degenerasi paling ringan, bersifat reversibel, ditandai dengan adanya pembengkakan hepatosit dengan sitoplasma merah akibat penumpukan protein (Mahdi & Aulanium, 2010).

Skor kerusakan sel hepar pada kelompok K0 dianggap normal karena dijadikan pembanding bagi kelompok lain.

Kerusakan yang terjadi pada sel hepar memperlambat atau menghambat proses detoksifikasi sehingga sel hepar yang belum selesai bekerja akan terus terpapar oleh zat toksik. Salah satu zat toksik yang terkandung dalam pewangi ruangan adalah formaldehida dalam peangi ruangan. Skor kerusakan sel hepar pada kelompok pewangi ruangan (P) memberikan skor tertinggi dibanding kelompok lain. Gambaran sel hepar menunjukkan degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Yuningtyaswari & Dwi, 2016), yang menunjukkan kerusakan serupa pada kelompok tikus yang dipapar pewangi ruangan gel atau *spray*. Kerusakan tersebut disebabkan oleh formaldehida dalam pewangi ruangan yang mengganggu proses fosforilasi oksidatif sehingga memproduksi *reactive oxygen species* (ROS) dan radikal bebas (Mahdi & Aulanium, 2010). Paparan formaldehida mempengaruhi hepar dengan merusak mitokondria sehingga metabolisme aerobik sel hepar terganggu (Kum *et al.*, 2010).

Pengaruh toksik dari formaldehida bersifat sistemik dan memiliki efek organotropik pada jaringan dan organ yang letaknya jauh dari tempat awal masuknya senyawa ini ke dalam tubuh (Yuningtyaswari & Dwi, 2016). Paparan formaldehida akan menimbulkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan radikal bebas yang akan mengaktifkan mekanisme

pertahanan sel sehingga memicu stres oksidatif atau *cell injury* (Hamadouche *et al.*, 2012).

Formaldehida dalam pewangi ruangan dapat masuk ke dalam tubuh dengan cara ingesti melewati makanan dan dengan cepat diabsorpsi karena bersifat sangat reaktif dan mudah larut dalam air. Makanan yang masuk selanjutnya diabsorpsi oleh usus lalu masuk ke aliran darah vena porta (Mahdi *and* Aulaniam, 2010). Formaldehida yang telah masuk ke hepar dimetabolisme menjadi asam format oleh enzim formaldehid dehidrogenase yang banyak terdapat di sitosol dan mitokondria sel hepar. Asam format dapat menghambat sitokrom oksidase sehingga terjadi penurunan sintesis ATP dan hipoksia histotoksik. Akibatnya oksigenasi jaringan berkurang karena pernafasan aerob terganggu (Afrin *et al.*, 2016).

Selain terjadi degenerasi, sel hepar kelompok tikus yang dipapar pewangi ruangan juga menunjukkan vakuolasi sitoplasma. Pengamatan ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa formaldehida yang masuk ke aliran darah porta menyebabkan akumulasi sel Kupffer yang teraktivasi, dilatasi sinusoid, vakuolasi sitoplasma sel hepar, dan kongesti kapiler darah (Treesh *et al.*, 2014). Penelitian lain mengatakan jaringan hepar yang terpapar formaldehida mengalami pelebaran sinusoid yang terisi darah, kehilangan sitoplasma, dan memiliki nukleus hiperkromatik. Vakuolasi yang terjadi kemungkinan besar merupakan mekanisme pertahanan terhadap zat toksik. Zat toksik yang ada

terkumpul di dalam vakuola dan dicegah untuk mempengaruhi metabolisme seluler (Nouh & Selim, 2013).

Kerusakan yang terjadi akibat stres oksidatif dapat dicegah oleh flavonoid yang biasanya terkandung di dalam tumbuhan dan tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia. Serbuk kurma mengandung berbagai fitokimia yang mampu menangkal radikal bebas dari zat toksik yang masuk ke dalam tubuh. Efek hepatoprotektan dari serbuk kurma terlihat pada kelompok serbuk kurma 240 mg/KgBB dan 360 mg/KgBB (K2 dan K3). Kedua kelompok tersebut memiliki skor kerusakan sel hepar hampir mendekati kontrol yang dianggap normal. Namun pada kelompok serbuk kurma 120 mg/KgBB (K1) ditemukan perbedaan yang bermakna dengan peningkatan skor kerusakan sel hepar hampir mendekati kelompok pewangi ruangan (P). Hal tersebut berbeda dari penelitian yang dilakukan oleh (Mehraban *et al.*, 2014) di mana dosis 120 mg/KgBB justru lebih berpengaruh positif. Pada penelitian ini, dosis 120 mg/KgBB belum efektif untuk menurunkan skor kerusakan histologi hepar. Perbedaan ini dipengaruhi oleh berat badan tikus kelompok K1 yang cenderung fluktuatif selama pemberian perlakuan pada penelitian ini. Kondisi ini dimungkinkan karena terdapat pengaruh internal dari hewan uji seperti, daya tahan dan kerentanan tikus yang berbeda-beda yang dapat mempengaruhi kerja hepar dalam memetabolisme serbuk kurma (Desprinita, 2010).

Sementara itu, terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok pewangi ruangan (P) dengan kelompok pewangi ruangan dan serbuk kurma 120 mg/KgBB, 240 mg/KgBB, maupun 360 mg/KgBB (PK1, PK2, PK3). Ketiga kelompok tersebut menunjukkan skor kerusakan sel hepar yang lebih rendah dibanding kelompok P dengan kelompok PK1 memiliki skor terendah diikuti oleh PK3 lalu PK2, namun di antara ketiganya tidak ditemukan perbedaan yang signifikan. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian (Nady *et al.*, 2014) yang menunjukkan perbaikan pada sel hepar mencit yang diberi serbuk kurma yang sebelumnya dipapar asap dupa pewangi ruangan. Penelitian lain juga menunjukkan hal serupa, tikus yang diberi serbuk kurma mengalami kerusakan sel hepar minimal setelah sebelumnya dipapar CCl_4 sebagai faktor stres oksidatif (Araak & Abdulhussein, 2012).

Hal ini karena serbuk kurma dengan kandungan flavonoid dan fitokimia seperti asam fenolik, quercetin, vitamin C, dan vitamin E. Kandungan flavonoid dalam serbuk kurma berfungsi sebagai hepatoprotektan yang menghambat aktivitas aromatase sitokrom P-450 sehingga terjadi regenerasi sel hepar (Araak & Abdulhussein, 2012). Kandungan α -tokoferol (vitamin E) mampu mereduksi radikal peroksidase dan menjaga membran sel dari oksidasi. Quercetin memiliki mekanisme antioksidatif dengan meningkatkan absorpsi vitamin C (Araak & Abdulhussein, 2012). Penelitian sebelumnya telah menyebutkan bahwa komponen antioksidan dan vitamin C mampu mengurangi kerusakan sel

hepar akibat paparan substansi kimia pada hewan tertentu. Vitamin C merupakan antioksidan kuat yang mengikat berbagai radikal bebas seperti superoksida, hidroksil, dan hidrogen peroksida (Bentayeb *et al.*, 2014).

Penelitian ini menunjukkan dosis serbuk kurma paling baik adalah 120 mg/KgBB pada kelompok pewangi ruangan dan serbuk kurma 120 mg/KgBB (PK1) yang memiliki skor kerusakan sel hepar paling kecil, diikuti 360 mg/KgBB pada kelompok pewangi ruangan dan serbuk kurma 360 mg/KgBB (PK3) serta 240 mg/KgBB pada kelompok pewangi ruangan dan serbuk kurma 240 mg/KgBB (PK2). Sedikit berbeda dengan penelitian sebelumnya dengan dosis serbuk kurma yang sama, dosis 120 mg/KgBB dan 240 mg/KgBB memberikan hasil yang lebih baik, dengan parameter jumlah sperma dan hormon reproduksi, dibanding dosis 360 mg/KgBB (Mehraban *et al.*, 2014). Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh kondisi tikus yang berbeda antara kelompok PK2 dan PK3 dan adanya paparan pewangi ruangan sehingga dibutuhkan dosis yang lebih tinggi untuk mengatasi efek toksik dari kandungan pewangi ruangan.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukannya pemeriksaan pada organ hepar tikus sebelum pengambilan sampel sehingga terdapat kemungkinan terjadinya kerusakan pada organ sebelum dilakukannya penelitian. Hal tersebut dapat dilihat pada kelompok kontrol (K0) yang juga mengalami degenerasi parenkimatosa.