

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Gedung Fakultas Kedokteran UNISBA, berlangsung selama tujuh bulan dimulai dari Bulan Juni 2019 sampai dengan bulan Desember 2019. Subjek penelitian ini adalah tikus yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, kemudian diinduksi DMBA selama 4,5 minggu dengan pemberian 2 kali dalam seminggu dan diberikan ekstrak air daun dewa selama 3 minggu dengan pemberian 3 kali dalam seminggu. Dengan tujuan untuk mengamati preparat jaringan hati tikus dengan cara menghitung jumlah vena sentral utuh dan jumlah degenerasi hidropik hepatosit.

Dua puluh lima preparat jaringan hati mencit diperiksa dan dibaca menggunakan mikroskop cahaya. Preparat dibaca berdasarkan setiap lapang pandang yang terlebih dahulu telah dibagi menjadi 9 kotak, kemudian seluruh preparat tersebut diberi tanda 1 sampai 9 kotak dan dibaca pada kotak ke 1, 5, dan 9 yang setiap kotak terdiri dari 1 lapang pandang. Preparat dibaca menggunakan mikroskop pada pembesaran 40x untuk menghitung jumlah vena sentral utuh dan pembesaran 1000x untuk menghitung jumlah degenerasi hidropik hepatosit.

4.1.1 Hasil Pembacaan Preparat

Pembacaan preparat pada penelitian ini dilakukan dengan pembasan 40X untuk menilai vena sentral utuh dan 1000X untuk menilai degenerasi hidropik hepatosit.

4.1.1.1 Vena Sentral Utuh

Kelompok I (kontrol positif) yaitu kelompok yang hanya diberi pakan dan air minum. Hasil pengamatan pada gambar dibawah didapatkan gambaran mikrostruktur vena sentral utuh berjumlah 3. Vena sentral utuh terlihat dengan susunan lempengan hepatosit yang tersusun radier.

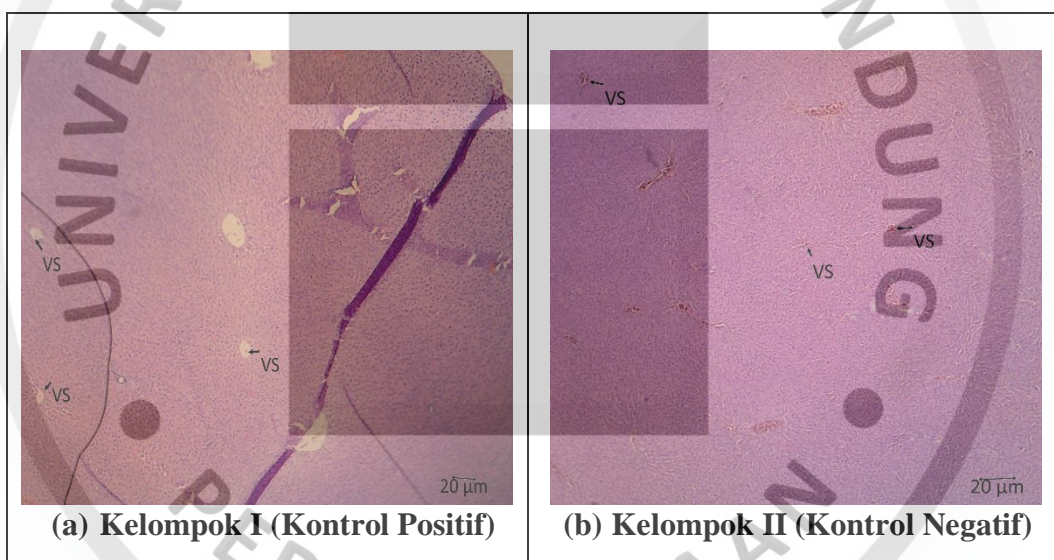
Kelompok II (kontrol negatif) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA dan diberi pakan. Hasil pengamatan didapatkan gambaran mikrostruktur vena sentral utuh tidak terlihat dengan susunan lempengan hepatosit tidak radier atau dikatakan vena sentral utuh pada kelompok ini paling sedikit dibandingkan dengan kelompok lainnya.

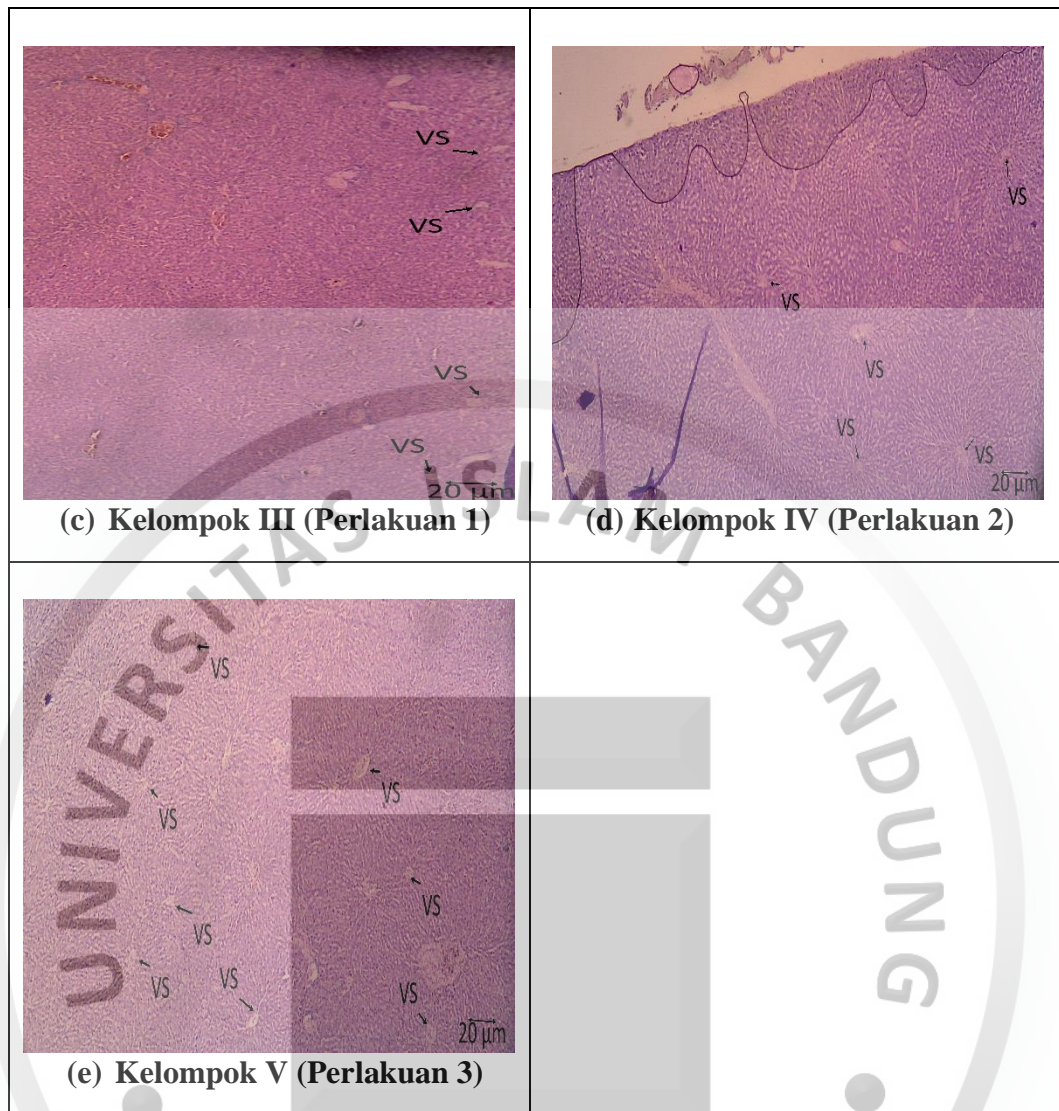
Kelompok III (Perlakuan I) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA diberi pakan normal, dan ekstrak air daun dewa konsentrasi 250 mg/kgBB selama 3 minggu dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok ini, didapatkan gambaran mikrostruktur vena sentral utuh berjumlah 4 yang menunjukkan gambaran vena sental utuh lebih baik dibandingkan dengan kelompok II.

Kelompok IV (perlakuan II) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA, diberi pakan normal, dan ekstrak daun dewa konsentrasi 500 mg/kg BB selama 3 minggu dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu.

Pada kelompok tersebut, didapatkan gambaran mikrostruktur vena sentral utuh yang berjumlah 5, secara keseluruhan menunjukkan gambaran vena sentral utuh lebih baik dibandingkan dengan kelompok III.

Kelompok V (perlakuan III) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA, diberikan pakan normal, dan ekstrak daun sirsak konsentrasi 750 mg/kg BB selama 3 minggu dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok ini, didapatkan gambaran mikrostruktur vena sentral utuh yang berjumlah 8, secara keseluruhan menunjukkan gambaran vena sentral utuh lebih baik dibandingkan dengan kelompok IV.





Gambar 4.1 Gambaran Mikrostruktur Vena Sentral Utuh

Pembesaran 40x menunjukkan (VS) vena sentral utuh dengan susunan lempengan hepatosit yang radier.

4.1.1.2 Degenerasi Hidropik Hepatosit

Kelompok I (kontrol positif) yaitu kelompok yang hanya diberi pakan dan air minum. Hasil pengamatan pada gambar dibawah didapatkan gambaran mikrostruktur hepatosit normal berjumlah 18. Hepatosit normal berbentuk polihedral.

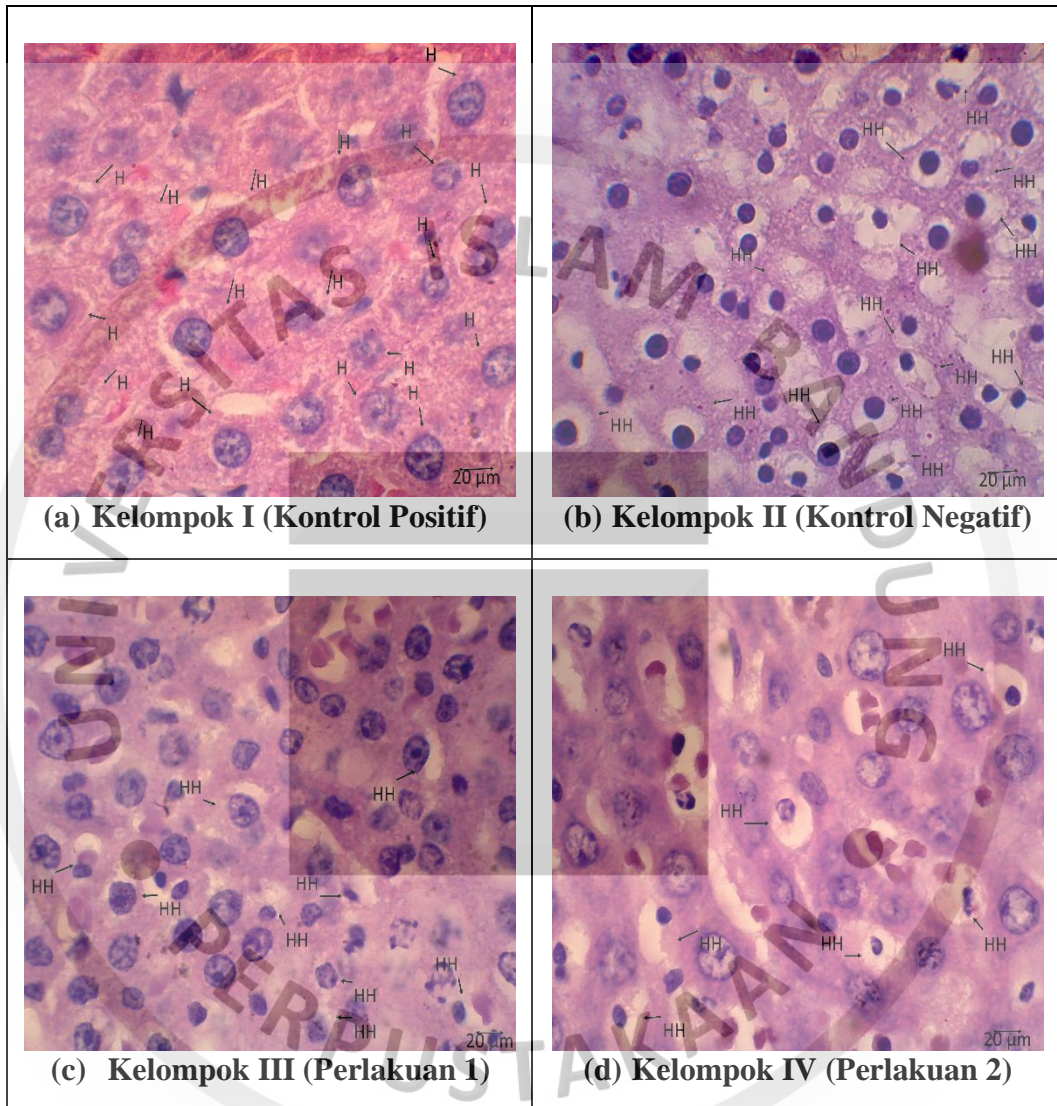
Kelompok II (kontrol negatif) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA dan diberi pakan. Pada kelompok ini, didapatkan degenerasi hidropik hepatosit yang berjumlah 14 dengan membran sel yang bengkak dan sitoplasma berisi cairan. Degenerasi hidropik hepatosit pada kelompok ini terlihat lebih banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya.

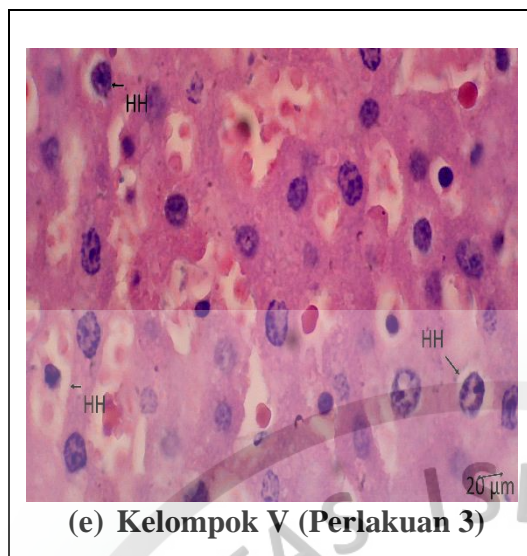
Kelompok III (Perlakuan I) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA diberi pakan normal, dan ekstrak daun dewa konsentrasi 250 mg/kgBB selama 3 minggu dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok ini, didapatkan degenerasi hidropik hepatosit berjumlah 9, secara keseluruhan gambaran degenerasi hidropik hepatosit yang didapatkan lebih baik dibandingkan dengan kelompok II.

Kelompok IV (perlakuan II) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA, diberi pakan normal, dan ekstrak daun dewa konsentrasi 500 mg/kg BB selama 3 minggu dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok ini, didapatkan gambaran degenerasi hidropik hepatosit berjumlah 6 yang menunjukkan gambaran degenerasi hidropik hepatosit lebih baik dibandingkan dengan kelompok III.

Kelompok V (perlakuan III) yaitu kelompok yang diinduksi DMBA, diberi pakan normal, dan ekstrak daun sirsak konsentrasi 750 mg/kg BB selama 3 minggu

dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok ini, ditemukannya gambaran degenerasi hidropik hepatosit berjumlah 3 yang menunjukkan gambaran degenerasi hidropik hepatosit lebih baik dibandingkan dengan kelompok IV.





Gambar 4.2 Degenerasi Hidropik Hepatosit

Pembesaran 1000x menunjukkan (H) Hepatosit normal yang berbentuk polihedral, (HH) hidropik hepatosit yang memiliki membran sel bengkak dan sitoplasma berisi cairan.

4.1.2 Rerata Jumlah Vena Sentral Utuh dan Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit

Data disajikan secara deskriptif dengan tujuan untuk mengetahui gambaran umum dari data yang diperoleh.

Tabel 4.1 Rerata Jumlah Vena Sentral Utuh

Kelompok	Rerata (SD)	Minimum	Maksimum	Median
Kelompok I	9,00 (0,00)	8,99	9,01	9,00
Kelompok II	0,79 (0,76)	0,00	1,66	1,00
Kelompok III	3,59 (2,57)	1,66	7,66	2,00
Kelompok IV	5,26 (5,15)	1,66	14,00	3,33
Kelompok V	7,16 (4,49)	2,00	12,66	6,99

Keterangan:

- Kelompok I (Kontrol Positif) : Pakan normal
- Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA
- Kelompok III (Perlakuan I) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun dewa konsentrasi 250 mg/kg BB
- Kelompok IV (Perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun dewa konsentrasi 500 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun dewa konsentrasi 750 mg/kg BB

Rerata jumlah vena sentral utuh dari kelima kelompok tikus yang memiliki jumlah terbanyak adalah pada kelompok I sebesar 9%, sedangkan yang paling sedikit adalah kelompok II sebesar 0,79%.

Tabel 4.2 Rerata Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit

Kelompok	Rerata (SD)	Minimum	Maksimum	Median
Kelompok I	2,24 (0,16)	2,00	2,34	2,32
Kelompok II	4,93 (1,03)	3,33	6,00	5,00
Kelompok III	2,79 (1,60)	1,33	4,66	2,33
Kelompok IV	2,39 (1,64)	1,00	5,00	1,66
Kelompok V	2,74 (2,11)	2,00	12,66	6,99

Keterangan:

Kelompok I (Kontrol Positif) : Pakan normal
 Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA
 Kelompok III (Perlakuan I) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun dewa konsentrasi 250 mg/kg BB
 Kelompok IV (Perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun dewa konsentrasi 500 mg/kg BB
 Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun dewa konsentrasi 750 mg/kg BB

Rerata jumlah degenerasi hidropik hepatosit dari kelima kelompok tikus yang memiliki jumlah terbanyak adalah pada kelompok II sebesar 4,93%, sedangkan yang paling sedikit adalah kelompok I sebesar 2,24%.

4.1.3 Perbandingan Jumlah Vena Sentral Utuh dan Degenerasi Hidropik

Hepatosit antara Kelompok Kontrol dengan Kelompok Perlakuan

Analisis data menggunakan piranti lunak *SPSS*. Sebelum dilakukan uji beda, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan Saphiro-Wilk untuk melihat distribusi data dengan jumlah sample <50.

Tabel 4.3 Hasil Normalitas Data Jumlah Vena Sentral Utuh

Variabel	Kelompok	Nilai p*)	Distribusi
Jumlah Vena Sentral Utuh	Kelompok 1	0,683	Normal
	Kelompok 2	0,254	Normal
	Kelompok 3	0,096	Normal
	Kelompok 4	0,069	Normal
	Kelompok 5	0,994	Normal

*)Shapiro-Wilks

Jumlah vena sentral utuh pada kelompok 1, 2, 3, 4, dan 5 memiliki nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa setiap kelompok tersebut berdistribusi normal.

Tabel 4.4 Hasil Homogenitas Data Jumlah Vena Sentral Utuh

Variabel	Nilai p*)	Homogenitas
Jumlah Vena Sentral Utuh	0,032	Tidak Homogen

*)One-Way Anova

Jumlah vena sentral utuh memiliki nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa semua kelompok tersebut tidak sama atau tidak homogen.

Tabel 4.5 Hasil Normalitas Data Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit

Variabel	Kelompok	Nilai p*)	Distribusi
Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit	Kelompok 1	0,006	Tidak Normal
	Kelompok 2	0,678	Normal
	Kelompok 3	0,149	Normal
	Kelompok 4	0,267	Normal
	Kelompok 5	0,642	Normal

*)Shapiro-Wilks

Jumlah degenerasi hidropik hepatosit pada kelompok 2, 3, 4, dan 5 memiliki nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada kelompok tersebut berdistribusi normal. Selain itu, pada kelompok 1 memiliki nilai $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa pada kelompok 1 tidak berdistribusi normal.

Tabel 4.6 Hasil Homogenitas Data Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit

Variabel	Nilai p*)	Homogenitas
Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit	0,092	Homogen

*)*One-Way Anova*

Jumlah degenerasi hidropik hepatosit memiliki nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa semua kelompok tersebut sama atau homogen.

Tabel 4.7 Uji Beda Jumlah Vena Sentral Utuh antara Kelompok Perlakuan dengan Kelompok Kontrol

Kelompok	Vena Sentralis	
	Rerata (SD)	Nilai P
Kelompok I (Kontrol Positif)	9,00 (0,00)	0.005
Kelompok II (Kontrol Negatif)	0,79 (0,76)	
Kelompok III (Perlakuan I)	3,59 (2,57)	
Kelompok IV (Perlakuan II)	5,26 (5,15)	
Kelompok V (Perlakuan III)	7,16 (4,49)	

*)*Kruskal Wallis*

Nilai p variabel jumlah vena sentral utuh adalah 0,15. Karena $p < 0,05$ maka disimpulkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap jumlah vena sentral utuh bermakna atau dengan kata lain, rerata jumlah vena sentral utuh antara suatu kelompok dengan kelompok lain berbeda secara bermakna. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Man Whitney* untuk mengetahui perlakuan mana saja yang rata-rata vena sentral utuh berbeda secara bermakna antara dua kelompok.

Tabel 4.8 Uji *Man Whitney* Jumlah Vena Sentral Utuh antara Kelompok Perlakuan dengan Kelompok Kontrol

Variabel	Perbandingan Kelompok	Nilai P*)
Jumlah Vena Sentral Utuh	Kelompok 1 Kelompok 2	0,014
	Kelompok 2 Kelompok 3	0,014

	Kelompok 4	0,138
	Kelompok 5	0,245
Kelompok 2	Kelompok 1	0,014
	Kelompok 3	0,011
	Kelompok 4	0,015
Kelompok 3	Kelompok 5	0,014
	Kelompok 1	0,014
	Kelompok 2	0,011
Kelompok 4	Kelompok 4	0,916
	Kelompok 5	0,135
	Kelompok 1	0,138
Kelompok 5	Kelompok 2	0,015
	Kelompok 3	0,916
	Kelompok 5	0,387
Kelompok 5	Kelompok 1	0,245
	Kelompok 2	0,014
	Kelompok 3	0,135
	Kelompok 4	0,387

*)*Man Withney*

Jumlah vena sentral utuh antara dua kelompok sebagai berikut:

Berbeda bermakna (Nilai $p < 0,05$)	Tidak berbeda bermakna (Nilai $P > 0,05$)
1. Kelompok 1 dengan kelompok 2	1. Kelompok 1 dengan kelompok 4
2. Kelompok 1 dengan kelompok 3	2. Kelompok 1 dengan kelompok 5
3. Kelompok 2 dengan kelompok 1	3. Kelompok 3 dengan kelompok 4
4. Kelompok 2 dengan kelompok 3	4. Kelompok 3 dengan kelompok 5
5. Kelompok 2 dengan kelompok 4	5. Kelompok 4 dengan kelompok 1
6. Kelompok 2 dengan kelompok 5	6. Kelompok 4 dengan kelompok 3
7. Kelompok 3 dengan kelompok 1	7. Kelompok 4 dengan kelompok 5
8. Kelompok 3 dengan kelompok 2	8. Kelompok 5 dengan kelompok 1
9. Kelompok 4 dengan kelompok 2	9. Kelompok 5 dengan kelompok 3
10. Kelompok 5 dengan kelompok 2	10. Kelompok 5 dengan kelompok 4

Tabel 4.9 Uji Beda Jumlah Degenerasi Hidropik Hepatosit antara Kelompok Perlakuan dengan Kelompok Kontrol

Kelompok	Vena Sentralis	
	Rerata	Nilai P
Kelompok I (Kontrol Positif)	2,24 (0,16)	0.108
Kelompok II (Kontrol Negatif)	4,93 (1,03)	
Kelompok III (Perlakuan I)	2,79 (1,60)	
Kelompok IV (Perlakuan II)	2,39 (1,64)	
Kelompok V (Perlakuan III)	2,74 (2,11)	

*)*Kruskal Wallis*

Nilai p variabel jumlah degenerasi hidropik hepatosit adalah 0,108. Karena $p > 0,05$ maka disimpulkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap jumlah degenerasi hidropik hepatosit tidak bermakna atau dengan kata lain, rerata jumlah degenerasi hidropik hepatosit antara suatu kelompok dengan kelompok lain tidak berbeda secara bermakna.

4.2 Pembahasan

Dalam penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Agung Eru Wibowo, dkk. DMBA adalah prokarsinogen yang akan menjadi aktif setelah dimetabolisme oleh sitokrom P-450 (CYPIA1). Interaksi antara DNA dengan senyawa karsinogenik hidrokarbon akan dikatalis oleh enzim mikrosom dan enzim hidroksilase di dalam hati sehingga dikonversi menjadi senyawa benzo[α]pirene sampai membentuk ikatan kovalen dengan DNA. DMBA dioksidasi oleh ekspresi CYPIA1 yang dimediasi melalui reseptor aril hidrokarbon (AHR) menjadi 7,12-DMBA-3,4-oksida. Reseptor aril hidrokarbon merupakan protein yang dapat mengikat sitosol dari senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik (PAHS). Selanjutnya 7,12-DMBA-3,4-oksida akan dihidrolisis oleh enzim hidrolase menjadi 7,12-DMBA-3,4-diol lalu dioksidasi kembali oleh CYPIA1 menjadi 7,12-DMBA-3,4-diol-1,2-ekposida (DMBA-DE) yang merupakan karsinogen.⁴ DMBA-DE dan senyawa senobiotik PAH lainnya dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas yang bersifat destruktif, imunotoksik, menginduksi peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam sel secara berlebihan, dan hepatotoksik sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan hati.^{2, 4, 6}

Proses DMBA yang dilakukan oleh sitokrom P-450 terjadi di retikulum endoplasma halus dalam hati yang mengakibatkan terjadinya pembentukan radikal bebas sehingga dapat bereaksi dengan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) pada membran sel hati. Hasil dari reaksi tersebut berupa peroksidasi lipid yang mengubah struktur dan fungsi membran sel hati sehingga permeabilitas membran sel meningkat dan diikuti dengan peningkatan masif dari kalsium sehingga menyebabkan kematian sel. Senyawa malondialdehid (MDA) merupakan salah satu hasil akhir peroksidasi PUFA di dalam sel hati. Selain itu, pembentukan radikal bebas dapat menginduksi peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara berlebih yang dapat menyebabkan jejas sel hati sehingga sel menjadi iskemi lalu nekrosis serta dapat menurunkan enzim superoksida dismutase (SOD) yang terlibat perannya dalam detoksifikasi.^{2, 3, 4, 6}

Organ hati merupakan organ pencernaan yang memiliki fungsi penting dalam proses metabolisme dan penetralan toksik setiap obat maupun zat asing yang masuk ke dalam tubuh, oleh karena itu hati rentan mengalami kerusakan atau jejas dan dapat berakibat fatal.^{7, 8} Hati memiliki suatu sel-sel hati disebut hepatosit yang tersusun sehingga akan membentuk lobulus hati. Hepatosit akan membentuk lempeng yang saling berhubungan, dibagian lempengan tersebut akan membentuk suatu celah yang mengandung unsur mikrovaskular yang disebut sinusoid hati. Sinusoid akan berpusat di pusat lobulus untuk membentuk vena sentralis. Hepatosit akan mengalami pembaruan sel dengan cepat, oleh karena itu hati dapat mempertahankan fungsinya jika terjadi kerusakan yang ringan, akan tetapi hati juga rentan mengalami kerusakan atau jejas bahkan dapat berakibat fatal jika kerusakannya berat dan serius.^{7, 8, 29}

Dalam penelitian Imantika Christina, dkk. hati berfungsi dalam metabolisme dan detoksifikasi pada setiap obat dan bahan asing yang masuk ke dalam tubuh. Oleh karena itu, hati lebih rentan mengalami kerusakan atau jejas. Obat herbal yang sudah digunakan oleh masyarakat luas salah satunya daun dewa yang dipercaya dapat mencegah kerusakan jaringan hati. Senyawa antioksidan seperti flavonoid tergolong tinggi pada daun dewa sehingga dapat mencegah pembentukan radikal bebas.⁷

Dalam penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Bing-Qing Xu, dkk bahwa daun dewa adalah tanaman yang dapat dikonsumsi sebagai tanaman obat herbal.¹⁰ Senyawa kimia pada *G. divaricata* yaitu alkaloid, flavonoid, asam fenolat, terpenoid, polisakarida, serebrosida, asam lemak, dan sterol.^{9, 10, 12} Selain itu, *G. divaricata* mengandung senyawa alkana, diterpen, diterpenoid, dan aldehid. Senyawa kimia flavonoid dan asam fenolat pada *G. divaricata* lebih tinggi dibanding genus *Gynura* lainnya yang memiliki sifat antioksidan sehingga dapat menghambat proses karsinogenesis dengan cara menghambat pembentukan DNA.⁷ Mekanisme penting flavonoid adalah menghambat aktivasi metabolisme karsinogen melalui interaksi enzim metabolisme fase I (sitokrom P450) di retikulum endoplasma halus dalam hati yang secara metabolis dapat mengaktifasi sebagian besar prokarsinogen yang dapat memicu karsinogenesis.^{3, 16} Mekanisme lain dari flavonoid adalah menginduksi enzim metabolisme fase II seperti Superoksida dismutase (SOD), Glutathion S-Transferase (GST), Quinone Reductase (QR), dan Uridine Diphosphate-Glukoronosyl Transferase (UDP-GT), enzim ini berfungsi untuk mengurangi dan menghilangkan zat yang menyebabkan kanker dalam tubuh. Pembentukan radikal bebas dapat menyebabkan peningkatan ROS secara berlebihan

yang menyebabkan kerusakan sel hati serta penurunan enzim SOD dalam tubuh. Dimana flavonoid ini dapat melibatkan proses detoksifikasi menggunakan enzim salah satunya SOD yang dapat menghambat pembentukan produk akhir dari peroksidasi lipid berupa malondialdehid (MDA) dan menekan kerusakan jaringan hati oleh radikal bebas.^{2, 9, 14, 16}

4.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian mengenai “Efek Ekstrak Air Daun Dewa (*Gynura divaricata*) terhadap Gambaran Mikrostruktur Jaringan Hati ada Tikus yang Diinduksi 7,12-Dimethylbenz[α]anthracene (DMBA)” memiliki beberapa keterbatasan penelitian, sebagai berikut:

1. Tikus mengalami stress seperti tikus tidak bergerak aktif karena jarak pengambilan tikus jauh berada di Lembang.
2. DMBA hanya sedikit yang dimetabolisme oleh hati.
3. Belum banyak penelitian serupa yang menggunakan ekstrak daun dewa terhadap vena sentral utuh dan degenerasi hidropik hepatosit sehingga tidak banyak referensi yang mendukung.