

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

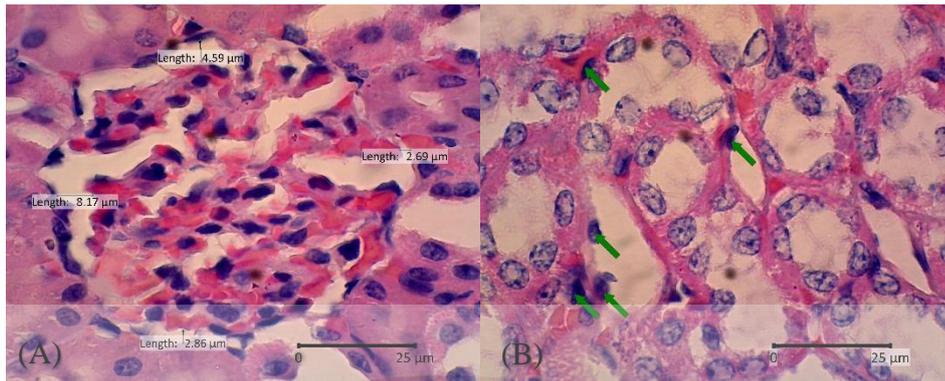
4.1 Hasil Penelitian

Sebanyak 17 preparat jaringan ginjal tikus diperiksa dan dibaca menggunakan mikroskop cahaya. Preparat dibaca berdasarkan setiap lapang pandang yang terlebih dahulu telah dibagi menjadi 6 area, kemudian seluruh preparat tersebut diberikan nomor 1 sampai dengan 6 dan pembacaan dilakukan pada area 2, 4 dan 6. Pada setiap area tersebut terdiri dari satu lapang pandang. Pembacaan preparat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x.

4.1.1 Hasil Pembacaan Preparat

4.1.1.1 Kelompok I (Kontrol Normal)

Tikus hanya diberi pakan normal. Pada kelompok kontrol normal ini didapatkan ukuran normal dari *capsula Bowman*. Dari pengamatan telah diketahui adanya sel *hydropic* pada kelompok kontrol normal dengan jumlah paling sedikit. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.1.

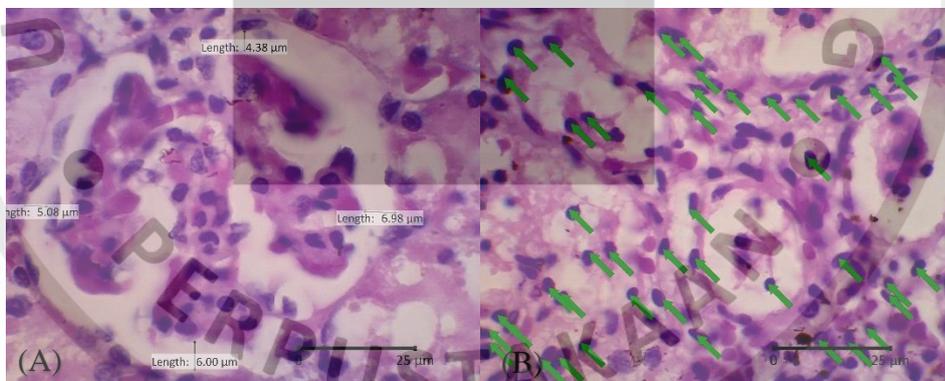


Gambar 4.1 Preparat Kelompok Kontrol Normal

(A) Ukuran *capsula Bowman* dan (B) Sel *hydropic* yang ada pada tubul

4.1.1.2 Kelompok II (Kontrol Negatif)

Tikus yang diberi DMBA dan diberi pakan normal. Pada gambaran mikroskopis kelompok kontrol negatif ditemukan adanya sel *hydropic* tubul paling banyak. Gambaran sel *hydropic* dan ukuran *capsula bowman* kelompok II dapat dilihat pada gambar 4.2.



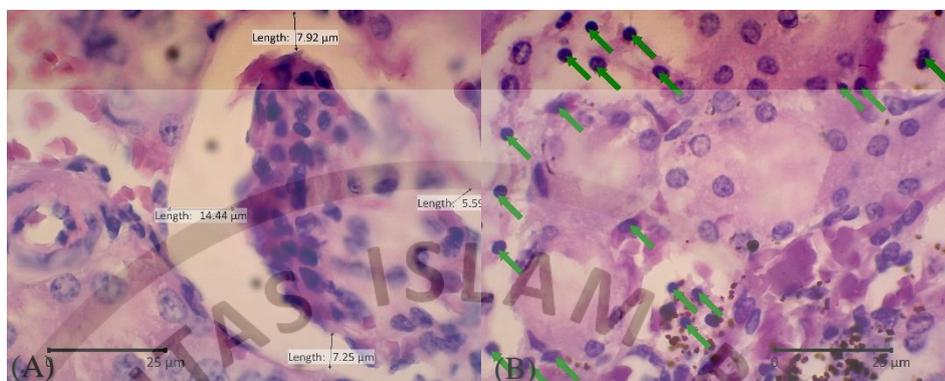
Gambar 4.2 Kelompok Kontrol Negatif

(A) Ukuran *capsula bowman* (B) Sel *hydropic* dengan jumlah terbanyak pada kelompok kontrol negatif.

4.1.1.3 Kelompok III (Perlakuan I)

Tikus diinduksi DMBA, diberikan pakan normal dan diinduksi 100mg/kg BB ekstrak air daun sirsak selama 21 hari dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu.

Pada kelompok ini, didapatkan adanya ukuran *visceral* dan *parietal layer* paling luas yaitu pada sisi kiri. Terdapat juga sejumlah sel *hydropic* yang ditemukan. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.3.

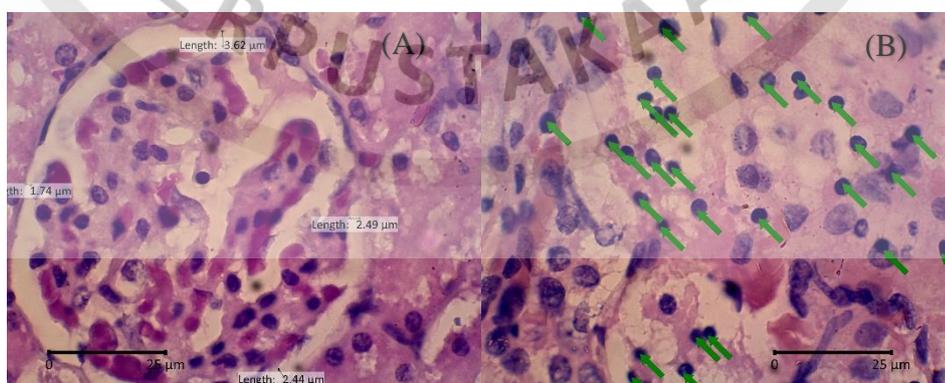


Gambar 4.3 Kelompok III (Perlakuan I)

(A) Ukuran *capsula bowman* (B) Sejumlah sel *hydropic*

4.1.1.4 Kelompok IV (Perlakuan II)

Tikus diinduksi DMBA, diberikan pakan normal dan diinduksi 200mg/kg BB ekstrak air daun sirsak selama 21 hari dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok ini, ditemukan ukuran *visceral* dan *parietal layer* *capsula bowman* pada bagian korteks ginjal. Adapun sel *hydropic* yang terdapat pada perlakuan ini. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.4

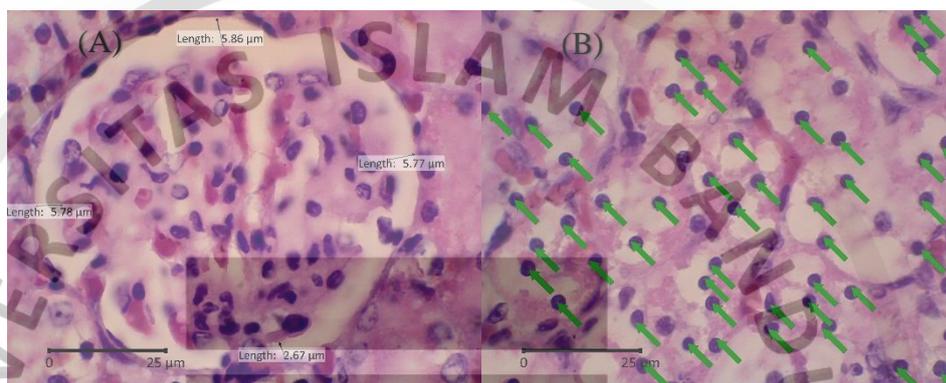


Gambar 4.4 Kelompok IV (Perlakuan II)

(A) Ukuran *capsula bowman* (B) Sejumlah sel *hydropic*

4.1.1.5 Kelompok V (Perlakuan III)

Tikus diinduksi DMBA, diberikan pakan normal dan diinduksi 400mg/kg BB ekstrak air daun sirsak selama 21 hari dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Pada kelompok V ditemukan adanya ukuran *visceral* dan *parietal layer* yang paling sempit diantara perlakuan lainnya. Ditemukan pula sel *hydropic* yang cukup banyak. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kelompok V (Perlakuan III)

(A) Ukuran *capsula Bowman* (B) Sejumlah sel *hydropic* yang cukup banyak ditemukan

4.1.2 Gambaran Ukuran *Capsula Bowman*

Efek pemberian DMBA dan tiga konsentrasi berbeda dari ekstrak air daun sirsak dapat dilihat pada ukuran terjauh jarak antara *visceral* dan *parietal layer* pada *capsula bowman*. Setiap perlakuan yang telah diberikan menghasilkan rerata jarak terjauh antara *visceral* dan *parietal layer* pada *capsula bowman*. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rerata ukuran *Capsula Bowman* pada Seluruh Kelompok

Kelompok	Rerata jarak terjauh <i>visceral</i> dan parietal <i>layer</i> terjauh (μm)	Standar Deviasi
I	9,70	$\pm 0,008$
II	10,52	$\pm 1,52$
III	8,58	$\pm 2,32$
IV	8,01	$\pm 1,74$
V	6,64	$\pm 2,33$

Keterangan :

Kelompok I (Kontrol normal): Pakan normal

Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA

Kelompok III (Perlakuan 1) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 100 mg/kg BB

Kelompok IV (Perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 200 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 400 mg/kg BB

Berdasarkan tabel 4.1, nilai rerata jarak *visceral* dan parietal *layer* paling luas dimiliki oleh kelompok tikus yang hanya diinduksi DMBA dan diberikan pakan normal. Kelompok tikus tersebut memiliki nilai rerata jarak terjauh *visceral* dan parietal *layer* sebesar 10,52 μm . Penginduksian DMBA terhadap tikus memungkinkan terjadinya dilatasi pada *capsula Bowman*, sehingga kelompok tikus yang hanya diinduksi DMBA memiliki nilai rerata jarak terjauh *visceral* dan parietal *layer* paling luas. Kelompok tikus yang diinduksi DMBA dan 400 mg/kg BB ekstrak air daun sirsak memiliki nilai rerata paling sempit yaitu 6,64 μm . Hal tersebut kemungkinan terjadi akibat pemberian ekstrak air daun sirsak. Diduga ekstrak air daun sirsak dapat menyebabkan hiperproliferasi dari sel yang ada pada glomerulus, sehingga jarak *visceral* dan parietal *layer* pada *capsula bowman* akan semakin menyempit.

Tabel 4.2 Rerata Jumlah Sel *Hydropic* pada Seluruh Kelompok

Kelompok	Rerata jumlah sel <i>hydropic</i>	Standar Deviasi
I	6,33	±0,01
II	31,00	±13,86
III	19,50	±14,51
IV	21,42	±9,08
V	23,42	±9,61

Keterangan :

Kelompok I (Kontrol normal): Pakan normal

Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA

Kelompok III (Perlakuan 1) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 100mg/kg BB

Kelompok IV (perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 200 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 400mg/kg BB

Berdasarkan tabel 4.2, kelompok tikus yang memiliki rerata jumlah sel *hydropic* paling banyak adalah kelompok tikus yang hanya diinduksi DMBA dan diberikan pakan normal. Pada kelompok tersebut, didapatkan nilai rerata jumlah sel *hydropic* sebanyak 31. Rerata jumlah sel *hydropic* paling sedikit ada pada kelompok perlakuan tikus yang hanya diberikan pakan normal tanpa diinduksi DMBA dan ekstrak daun sirsak.

4.1.3 Perbandingan Ukuran pada *Capsula Bowman*

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan mikrostruktur *capsula Bowman*. Pemeriksaan mikrostruktur *capsula Bowman* dilakukan dengan mengukur jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* dari *capsula Bowman*. Dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk Test*. Uji normalitas dilakukan untuk melihat distribusi dari data yang telah didapat. Berikut tabel uji normalitas ukuran *capsula Bowman*.

Uji normalitas menunjukkan bahwa data ukuran terjauh *visceral* dan *parietal layer* pada *capsula Bowman* berdistribusi normal ($p > 0.05$). Data dengan distribusi

normal merupakan salah satu syarat dari uji anova. Uji anova dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Uji Beda pada Data Ukuran *Capsula Bowman* antara Kelompok Kontrol dengan Kelompok yang Diberi Ekstrak Air Daun Sirsak

Kelompok	Jarak terjauh <i>visceral</i> dan <i>parietal layer</i> pada <i>Capsula Bowman</i>		
	Mean	Standar Deviasi	Nilai p ^{*)}
I (Kontrol normal)	9,70	±0,008	0,07
II (Kontrol negatif)	10,52	±1,52	
III (Perlakuan I)	8,58	±2,32	
IV (Perlakuan II)	8,01	±1,74	
V (Perlakuan III)	6,64	±2,33	

Keterangan : *Uji Anova*

Kelompok I (Kontrol normal): Pakan normal

Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA

Kelompok III (Perlakuan I) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 100 mg/kg BB

Kelompok IV (Perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 200 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 400 mg/kg BB

Pada tabel 4.3 tertera nilai p hasil uji anova tersebut adalah 0,07. Angka yang dihasilkan merupakan angka yang lebih dari 0,05. Hal tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan pengujian statistik, praduga adanya keterkaitan antara kelompok perlakuan dengan ukuran jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* pada *capsula Bowman* ditolak. Sehingga, berdasarkan pengujian statistik tersebut, dapat disimpulkan bahwa masing-masing kelompok perlakuan tidak berpengaruh terhadap ukuran *capsula Bowman*.

4.1.5 Jumlah Sel *Hydropic* pada Epitel Tubulus Ginjal

Pada penelitian ini mikrostruktur epitel tubulus diperiksa dengan melihat adanya sel *hydropic* pada jaringan epitel tubulus tikus yang telah diberikan perlakuan. Sel *hydropic* dihitung menggunakan aplikasi *imageraster*. Data jumlah

sel *hydropic* diolah terlebih dahulu dengan uji normalitas. Data yang berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji anova dengan hasil pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Uji Anova pada Data Jumlah Sel *Hydropic* antara Kelompok Kontrol dengan Kelompok yang Diberi Ekstrak Air Daun Sirsak

Kelompok	Sel <i>Hydropic</i> Tubulus		
	Mean	Standar Deviasi	Nilai P ^{*)}
I (Kontrol normal)	6,33	±0,01	0,07
II (Kontrol negatif)	31	±13,86	
III (Perlakuan I)	19,5	±14,51	
IV (Perlakuan II)	21,42	±9,08	
V (Perlakuan III)	23,42	±9,61	

Keterangan : *Uji Anova*

Kelompok I (Kontrol normal): Pakan normal

Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA

Kelompok III (Perlakuan I) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 100mg/kg BB

Kelompok IV (Perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 200 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 400mg/kg BB

Pada tabel 4.4 tertera nilai p hasil uji anova tersebut adalah 0,07. Angka yang dihasilkan merupakan angka yang lebih dari 0,05. Hal tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan pengujian statistik, praduga adanya keterkaitan antara kelompok perlakuan dengan jumlah sel *hydropic* pada tubulus ditolak. Sehingga, berdasarkan pengujian statistik tersebut, dapat disimpulkan bahwa masing-masing kelompok perlakuan tidak berpengaruh terhadap jumlah sel *hydropic*.

4.2 Pembahasan

Setelah dilakukan pengamatan terhadap mikrostruktur ginjal tikus pada penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa setiap perlakuan menghasilkan rerata jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* pada *capsula Bowman*. Rerata paling jauh pada jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer capsula Bowman* terdapat pada kelompok tikus yang diinduksi DMBA dan diberikan pakan normal. Rerata paling

jauh dengan nilai $10,52\mu\text{m}$ diduga terjadi karena efek pemberian DMBA. Diduga penginduksian DMBA tersebut dapat mengakibatkan terjadinya dilatasi pada *capsula Bowman*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Yildirim *et.al.*, pada penelitiannya dinyatakan bahwa penginduksian DMBA terhadap tikus akan menyebabkan terjadinya dilatasi pada *capsula Bowman*.¹²

Berbeda dengan kelompok tikus yang diinduksi DMBA dan 400 mg/kg BB ekstrak air daun sirsak, nilai rerata menunjukkan kelompok tersebut memiliki jarak *visceral* dan *parietal layer* paling sempit. Kelompok ini memiliki nilai rerata jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* sebesar $6,64\mu\text{m}$. Penyempitan pada jarak *visceral* dan *parietal layer* diduga terjadi akibat penginduksian ekstrak air daun sirsak. Pada penelitian sebelumnya, telah diketahui bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak dapat menyebabkan hiperselularitas pada glomerulus.³⁷ Hiperselularitas pada glomerulus diduga merupakan penyebab dari penyempitan jarak *visceral* dan *parietal layer* pada *capsula Bowman*. Hiperselularitas adalah inflamasi yang terjadi pada glomerulus yang dikarakteristikan dengan adanya peningkatan dari jumlah sel di *glomerular tuft*. Hiperselularitas dapat disebabkan oleh: (1) Proliferasi dari *mesangial* atau sel endotelial, (2) Infiltrasi dari leukosit yang menyebabkan *swelling* dan (3) Akumulasi dari proliferasi sel epitel glomerulus dan infiltrasi leukosit yang membentuk formasi bulan sabit.⁴⁴

Terjadi perbedaan rerata jumlah sel *hydropic* pada tubulus di setiap perlakuan. Rerata jumlah sel *hydropic* paling banyak ada pada kelompok perlakuan yang diinduksi DMBA dan diberikan pakan normal. Perlakuan dengan jumlah rerata sel *hydropic* sebanyak 31, diduga terjadi karena penginduksian DMBA. Seperti yang telah dikatakan oleh Ozdemir *et.al.* dalam penelitiannya menyatakan

bahwa DMBA dapat menyebabkan terjadinya sel *hydropic* pada tubul.⁴³ Sel *hydropic* yang terjadi pada tubul merupakan perubahan struktur sel yang *reversible*. Perubahan ultrastruktur dari sel *hydropic* meliputi perubahan dari membran plasma seperti kehilangan *microvilli*, perubahan mitokondria meliputi pembengkakan sel, *dilatation reticulum endoplasma*, dan perubahan *nucleus* seperti disagregasi dari *granular* dan *element fibril*.⁴⁴

DMBA adalah derivat dari *Polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH) dan merupakan zat toksik dan karsinogenik terhadap manusia maupun hewan. Keberadaan DMBA pada tubuh hewan atau manusia akan merusak berbagai jaringan.³⁰ Sejalan dengan penelitian Roduan *et.al.* DMBA yang terdapat dalam ginjal dapat mengakibatkan kerusakan histologis yang nyata seperti dilatasi pada kapsula bowman dan kemunculan sel *hydropic* yang dapat mengakibatkan dapat mengganggu fungsi ginjal.⁴² Paparan DMBA dapat menginduksi ROS yang menyebabkan DNA *damage*. Depleksi sel antioxidant dari mekanisme pertahanan dan peroxidase lipid. Serum Urea (BUN) dan kreatinin meningkat dengan adanya paparan DMBA yang menandakan adanya kerusakan fungsi filtrasi.²¹ Pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata*) yang mengandung acetogenins dapat menyebabkan toksisitas ginjal dengan meningkatkan konsentrasi kalsium, produksi ROS, dan ekspresi dari *BCL2 Associated X proteine* (BAX) / *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2). Efek dari ekstrak daun sirsak menyebabkan atropi glomerulli, hypercellular glomerulli dan degenerasi dari *convoluted tubule*.⁴⁵

4.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian mengenai efek ekstrak daun sirsak terhadap gambaran mikrostruktur ginjal tikus yang diinduksi DMBA terdapat beberapa keterbatasan:

1. Saat dilakukan pembuatan preparat histologi, tidak semua preparat mendapatkan hasil yang layak untuk dibaca.
2. Saat dilakukan pemberian ekstrak tidak semua tikus dapat bertahan hingga batas waktu yang di tentukan.
3. Kurangnya faktor-faktor lain yang berhubungan dengan nefritis, diantaranya peningkatan *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatin.

