

**EFEK PERBAIKAN ELEKTROAKUPUNKTUR PADA
TITIK *RIYUE* GB 24 TERHADAP KERUSAKAN SEL
HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Ahmad Alfin Nurdiana

G0008046

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta
commit to user
2012

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Parasetamol termasuk dalam daftar obat bebas yang sering digunakan. Parasetamol aman digunakan jika diberikan sesuai dosis yang ditetapkan. Di masyarakat, obat ini banyak digunakan untuk mengatasi flu dan demam. Akses yang mudah ini dapat semakin meningkatkan penggunaan obat secara mandiri oleh masyarakat sehingga akan memperbesar kemungkinan overdosis baik sengaja atau tidak (Andra, 2006; Sunarsih, 1995).

Penggunaan parasetamol dalam dosis tinggi dan waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, di antaranya adalah efek hepatotoksisitas yang merusak sel-sel hati (Sheen *et al.*, 2002). Parasetamol akan menghasilkan metabolit *N*-asetil-*p*-benzokuinon (NAPQI). Pada pemberian parasetamol dalam dosis yang berlebihan akan menghasilkan metabolit NAPQI yang berlebihan sehingga tidak bisa dinetralkan semuanya oleh glutathione sel hepar. NAPQI bersifat toksik dan dapat menyebabkan terjadinya reaksi rantai radikal bebas (Correia dan Castagnoli, 1989).

Akupunktur adalah suatu sistem pengobatan dengan cara memberikan rangsangan pada titik-titik atau daerah tertentu pada tubuh untuk memperoleh keseimbangan energi berdasarkan kaidah-kaidah alam (Dharmojojo, 2009). Terapi dengan akupunktur dapat dilakukan dengan menggunakan rangsangan listrik atau manual. Akupunktur diketahui dapat mengatasi rasa sakit. Akupunktur juga mampu membantu pengaturan pola energi tubuh, yang

memicu tubuh untuk melakukan perbaikan dari kerusakan akibat sindrom dan gejala penyakit. Keunggulan akupunktur adalah efek sampingnya yang lebih rendah daripada obat-obatan dan prosedur medis lain.

Salah satu titik akupunktur yang digunakan untuk terapi hepatitis adalah titik *riyue* GB 24. Titik ini merupakan pilihan untuk menyembuhkan penyakit yang berkaitan dengan kandung empedu meliputi *cholecystitis* (inflamasi dinding kandung empedu), batu empedu, dan hepatitis. Pada penelitian Lin dan kawan-kawan, stimulasi pada titik *riyue* GB 24 didapatkan hasil peningkatan *Heat Shock Protein 70* (HSP 70) dan perlindungan dari kerusakan sel hepar pada tikus (Lin *et al.*, 2001).

Salah satu mekanisme yang mungkin dalam perbaikan sel sel hepar oleh HSP adalah kemampuan HSP dalam merangsang sel kupfer untuk menghasilkan berbagai sitokin. Telah diketahui bahwa sel kupfer dapat memicu proliferasi sel sel hepar dengan cara memproduksi sitokin seperti *Interleukin 6* (Blindenbacher *et al.*, 2003; Cressman *et al.*, 1996) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (Ledda-Columbano *et al.*, 1998; Wiltrout, 2000) *Interleukin 6* memiliki peranan sebagai *biliary epithelial mitogen* sedangkan *Tumor Necrosis Factor- α* mampu memicu proliferasi sel endotel sel hepar (Michalopoulos dan DeFrances, 1997).

Berdasarkan hal tersebut, di mana titik *riyue* GB 24 merupakan titik yang digunakan dalam terapi hepatitis dan juga mampu merangsang pembentukan HSP70. Peneliti ingin membuktikan apakah titik *riyue* GB 24 dapat mengurangi jumlah kerusakan sel sel hepar tikus putih yang diinduksi parasetamol melalui pengamatan histologi.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah ada efek perbaikan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 terhadap kerusakan sel hepar tikus putih yang diinduksi parasetamol?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek perbaikan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 terhadap kerusakan sel hepar tikus putih yang diinduksi parasetamol.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

- a. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang efek perbaikan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 terhadap kerusakan sel hepar tikus putih yang diinduksi parasetamol.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat berguna sebagai bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut.

2. Manfaat Aplikatif

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan akupunktur sebagai terapi adjuvan dalam mengurangi kerusakan sel hepar.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Parasetamol

Parasetamol atau asetaminofen merupakan salah satu dari obat yang sering digunakan. Parasetamol bertanggung jawab atas efek analgesiknya. Parasetamol tidak termasuk golongan AINS karena efek antiinflamasinya kecil sekali. Parasetamol bekerja dengan menghambat sintesa prostaglandin dalam susunan saraf pusat yang mempengaruhi pusat hipotalamus untuk pengontrolan suhu tubuh. Parasetamol merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik. Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen. Di Indonesia, parasetamol tersedia sebagai obat bebas dan dapat dengan mudah mendapatkannya. Efek analgesik parasetamol yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang seperti nyeri kepala, mialgia, dan keadaan lain. Parasetamol tidak menimbulkan gangguan pernafasan dan keseimbangan asam basa. Sebagai analgesik sebaiknya parasetamol tidak diberikan terlalu lama karena menimbulkan nefropati analgesik. Reaksi alergi karena parasetamol jarang terjadi. Manifestasi dari reaksi alergi berupa eritem atau urtikaria. Parasetamol juga menyebabkan anemia hemolitik, terutama pada pemakaian kronik. Hal ini dapat terjadi karena mekanisme

autoimun, defisiensi G6PD, dan metabolit yang abnormal (Katzung, 1998; Wilmana dan Gunawan, 2007).

. Pada dosis tinggi, jalur konjugasi parasetamol menjadi jenuh sehingga banyak parasetamol menjadi metabolit NAPQI, sebagai akibatnya terjadi deplesi glutathione hati, bahkan kandungan glutathione hati dapat dihabiskan (paling tidak berkurang 20-30% harga normal) (Rochmah, 2000).

Parasetamol aman diberikan dengan dosis 325-500 mg 4 kali sehari pada orang dewasa dan untuk anak-anak dalam dosis yang lebih kecil yang sebanding (Katzung, 1998). Pemberian parasetamol juga dapat menimbulkan efek samping. Efek samping dari parasetamol tergantung pada dosis yang diberikan. Akibat dari dosis toksik parasetamol yang paling serius adalah nekrosis hati, nekrosis tubulus renalis serta koma hipoglikemi. Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10 -15 gram (200-250 mg/kg BB) setelah 48 jam menelan parasetamol. Kerusakan yang timbul berupa nekrosis sentrolobularis (Wilmana dan Gunawan, 2007). Dosis 20-25 gram atau lebih dapat berakibat fatal. Sekitar 10% pasien keracunan yang tidak mendapatkan pengobatan yang spesifik berkembang menjadi kerusakan hati yang hebat, dari yang disebutkan tadi, 10-20% akhirnya meninggal karena kegagalan fungsi hati. Kegagalan ginjal akut juga terjadi pada beberapa pasien (Suarsana dan Budiasa, 2005; Insel, 1991).

Hepatotoksisitas karena parasetamol pada manusia pertama kali dilaporkan pada tahun 1966 (Sheen *et al.*, 2002).

2. Stuktur Histologis Hepar

Hepar adalah organ pencernaan terbesar dalam tubuh dengan berat antara 1,2 - 1,8 kg atau kurang lebih 25% berat badan orang dewasa. Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh. Hepar terletak di rongga perut di bawah diafragma dan menempati sebagian besar kuadran kanan atas abdomen. Hepar merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks, dimana fungsi hepar dalam sistem sirkulasi adalah untuk menampung, mengubah, menimbun metabolit, menetralisasi dan mengeluarkan substansi toksik yang terbawa oleh aliran darah. Sebagian besar darah yang menuju ke hepar dipasok dari vena porta, dan sebagian kecil dipasok dari arteri hepatica (Amirudin, 2007; Junqueira dan Carneiro, 2007).

Secara makroskopis, hepar terbagi atas beberapa lobus dan tiap lobus hepar terbagi menjadi struktur yang dinamakan lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Secara mikroskopis, di dalam hati manusia terdapat 50.000-100.000 lobuli. Setiap lobulus berbentuk heksagonal yang terdiri atas lembaran sel hepar berbentuk kubus yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Di antara lembaran sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang disebut sinusoid, sinusoid merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang melingkari bagian

perifer lobulus hepar, juga terdapat saluran empedu yang membentuk kapiler empedu, dinamakan kanalikuli empedu yang berjalan di antara lembaran sel hati (Amirudin, 2007; Price dan Wilson, 1994).

a. Lobulus Hepar

Secara fungsional, lobulus hepar dibagi dalam tiga zona:

- 1) Zona 1: zona aktif, sel-sel paling dekat pembuluh darah, akibatnya zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk.
- 2) Zona 2: zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah.
- 3) Zona 3: zona pasif, aktivitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhan meningkat (Leeson *et al.*, 1996).

Lobulus hepar berbentuk poligonal dengan ukuran 0,7 x 2 mm. Lobulus-lobulus ini dipisahkan oleh jaringan pengikat dan pembuluh darah. Daerah ini disebut trigonum portae yang berisi cabang arteri hepatica, cabang vena porta, cabang duktus biliferus, dan anyaman pembuluh limfe (Junqueira dan Carneiro, 2007).

b. Parenkim Hepar

Parenkim hepar terdiri atas sel-sel hepar (hepatosit).

Hepatosit tersusun berderet secara radier dalam lobulus hepar. Lempeng-lempeng hepatosit ini secara radial bermula dari tepian lobulus menuju ke vena sentralis sebagai pusatnya. Lembaran-lembaran ini bercabang-cabang dan beranastomose secara bebas

sehingga diantara lempeng-lempeng tersebut terdapat ruangan sinusoid. Sel hepar berbentuk poligonal dengan 6 atau lebih permukaan, berukuran sekitar 20-35 um, dengan membran sel yang jelas, inti bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besarnya bervariasi. Permukaan sel hepar berkontak dengan dinding sinusoid melalui celah Disse dan juga kontak dengan permukaan hepatosit lain (Junqueira dan Carneiro, 2007).

c. Sinusoid Hepar

Sinusoid terdapat di antara lempeng-lempeng sel hepar dan mengikuti percabangannya (Eroschenko, 2000). Sinusoid merupakan pembuluh yang melebar tidak teratur dan hanya terdiri dari satu lapis endotel yang tidak kontinyu. Sinusoid mempunyai pembatas yang tidak sempurna dan memungkinkan pengaliran makromolekul dengan mudah dari lumen ke sel-sel hepar dan sebaliknya. Sinusoid dikelilingi dan disokong oleh selubung serabut retikuler halus yang penting untuk mempertahankan bentuknya. Sel-sel endotel dipisahkan dari hepatosit yang berdekatan oleh celah subendotel yang disebut celah Disse. Sinusoid juga mengandung sel-sel fagosit dari retikuloendotelial yang dikenal sebagai sel Kupffer, berbentuk stelat dengan sifat histologis seperti vakuola jernih, lisosom dan retikuloendoplasma granular tersebar di seluruh sitoplasma. Ini membedakan sel-sel Kupffer dan sel-sel endotel (Junqueira dan Carneiro, 2007). Ruang-ruang sinusoid berbeda dengan kapiler yaitu

garis tengahnya lebih besar (9-12 um) dan sel pembatasnya tidak seperti endotel biasa. Lamina basal sinusoid terputus-putus.

d. Kerusakan Hepar oleh Parasetamol

Kematian sel dan kematian jaringan pada tubuh yang hidup disebut nekrosis. Nekrosis merupakan kematian sel lokal (Price dan Wilson, 1994). Hepar normal memiliki kapasitas regenerasi yang luar biasa karena hepar merupakan organ tubuh yang paling sering menerima jejas. Pada jejas ringan, hepar dapat segera beregenerasi kembali pada fungsi semula. Namun, kapasitas cadangan hepar dapat habis apabila hepar terkena penyakit yang menyerang seluruh parenkim hepar sehingga timbul kerusakan pada hepar (Robbins *et al.*, 2003).

Kerusakan hepar yang berupa nekrosis dapat terjadi sebagai akibat dari pemberian parasetamol dengan dosis yang berlebihan (dosis toksik) (Insel, 1991). Umumnya perubahan-perubahan yang terjadi pada sel nekrotik dapat terjadi pada semua bagian sel. Tetapi perubahan pada inti sel adalah petunjuk yang paling jelas pada kematian sel. Sel yang telah mati intinya menyusut, batas tidak teratur. Proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik (Price dan Wilson, 1994).

Nekrosis hati akibat peroksidase lipid maupun radikal bebas dapat bersifat fokal, sentral, pertengahan, perifer atau masif. Kematian sel terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma.

Perubahan morfologis awal berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma dan disagregasi polisom. Terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel dan terjadi pembengkakan mitokondria progresif dengan kerusakan krista (Wenas, 1996). Stadium selanjutnya sel dapat mengalami degenerasi hidropik, susunan sel yang terpisah-pisah, inti sel piknotik (kariopiknosis) yaitu pengerutan inti sel dan kondensasi kromatin. Kemudian terjadi karioreksis yaitu fragmentasi inti yang meninggalkan pecahan-pecahan sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Selanjutnya terjadi kariolisis yaitu kromatin basofil menjadi pucat. Dengan perjalanan waktu, terjadi penghancuran dan pelarutan inti sel sehingga inti sel sama sekali menghilang, pecahnya membran plasma, dan nekrosis (Thomas, 1988).

Pada kondisi normal, parasetamol yang diabsorpsi oleh tubuh dikonjugasi dengan asam glukoronat dan asam sulfat, sebagian kecil dihidroksilasi dengan sitokrom P-450 menjadi metabolit *N-asetil-p-benzoquinonimin* (NAPQI). Metabolit NAPQI ini oleh glutathione hati diubah menjadi metabolit sistin dan merkapturat yang kemudian dibuang melalui urin (Wilmana dan Gunawan, 2007).

Jika jumlah parasetamol yang dikonsumsi jauh melebihi dosis terapi, maka asam glukoronat dan asam sulfat dalam hati akan habis cadangannya, kemudian terbentuklah metabolit reaktif NAPQI yang berlebihan. Selama glutathione tersedia untuk mendetoksifikasi

NAPQI tersebut, maka tidak akan terjadi reaksi hepatotoksisitas. Namun, bila glutathione terus terpakai, akhirnya terjadi pengosongan glutathione dan terjadi penimbunan metabolit NAPQI yang toksik dan reaktif. NAPQI akan bereaksi dengan gugusan nukleofilik yang terdapat pada makromolekul sel hepar, seperti protein, menimbulkan hepatotoksisitas yang menyebabkan nekrosis hepar (Wilmana dan Gunawan, 2007; Katzung, 1998). Selain itu, NAPQI dapat menimbulkan stres oksidatif, yang berarti bahwa NAPQI dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan bagian dari proses atau rantai reaksi terbentuknya radikal bebas (Rubin *et al.*, 2005). Radikal bebas mampu mengubah suatu molekul menjadi radikal bebas baru dan akan membentuk radikal bebas kembali sehingga terjadilah reaksi berantai (*chain reaction*) (Widjaja, 1997).

Kerusakan hepar akibat parasetamol dapat terjadi karena reaksi toksik, alergi dan radikal bebas. Biasanya kerusakan yang terjadi merupakan nekrosis di sekitar vena sentralis/nekrosis sentrolobularis karena sitokrom P-450 paling banyak terdapat pada zona tersebut (Wenas, 1996).

Perubahan morfologis awal pada nekrosis hepar berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma dan disagregasi polisom. Terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel dan terjadi pembengkakan mitokondria progresif dengan

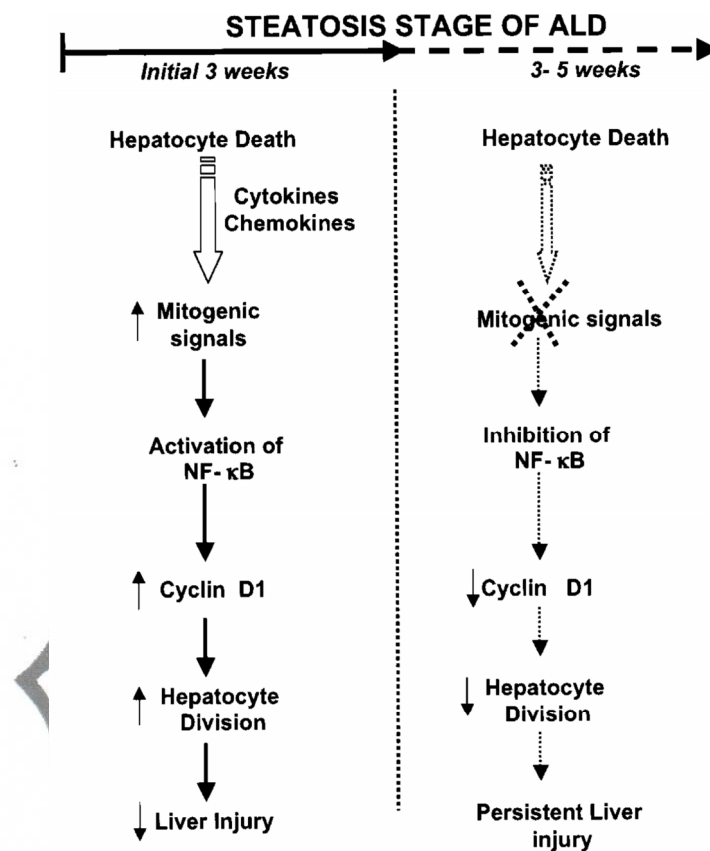
kerusakan krista (Wenas, 1996). Stadium selanjutnya inti sel dapat mengalami kariopiknosis, karioreksis dan kariolisis (Thomas, 1988).

e. Perbaikan Hepar

Hati mempunyai kemampuan regenerasi yang luar biasa meskipun sel-selnya diperbaharui secara lambat. Percobaan pada hewan tikus, hati dapat memulihkan kehilangan sampai 75% berat total hati hanya dalam waktu satu bulan (Junqueira dan Carneiro, 2007). Pada pemberian parasetamol, hepatosit mulai mengalami regenerasi tujuh hari setelah pemberian parasetamol.

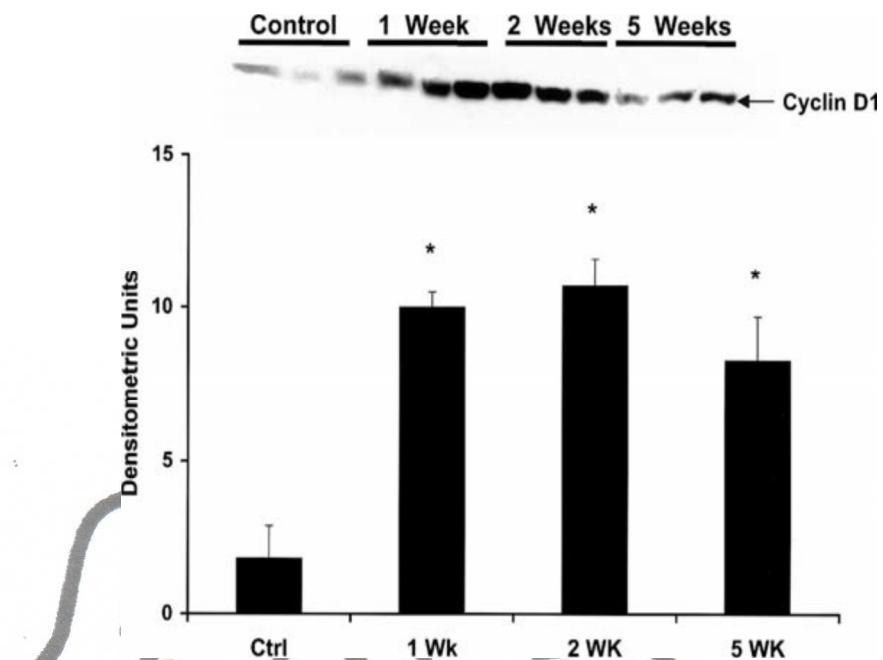
Hepatektomi parsial pada mamalia merupakan metode penelitian yang saat ini banyak digunakan untuk meneliti proses regenerasi pada hepar. Hepatektomi parsial menyebabkan proliferasi dari semua populasi sel di dalam hati termasuk hepatosit, sel epitel dan sel endotel kandung empedu (Michalopoulos dan DeFrances, 1997).

Pada penelitian Udayan dan kawan-kawan tentang kerusakan hepar tikus yang diinduksi alkohol selama lima minggu, kematian hepatosit akan menyebabkan aktivasi NF- κ B yang kemudian akan meningkatkan aktivitas *cyclin* D1. *Cyclin* D1 akan meningkatkan pembelahan sel hepatosit. Namun, aktivitas NF- κ B dan *cyclin* D1 menurun pada minggu ke-3 (Udayan *et al.*, 2004).



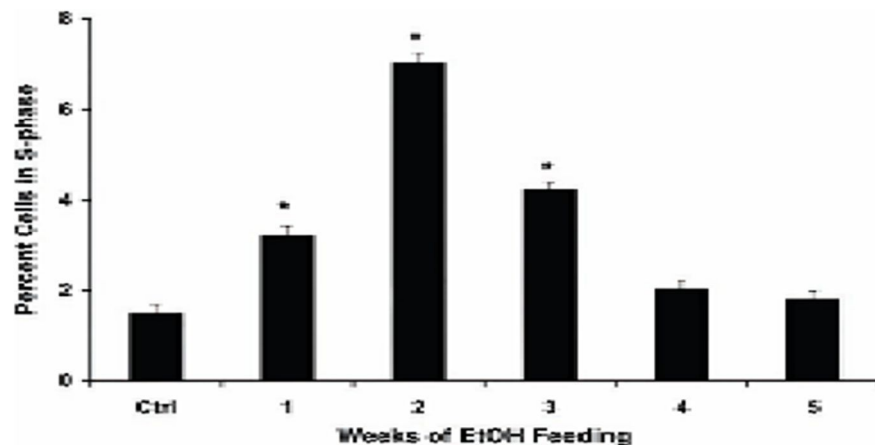
Gambar 1. Bagan Mekanisme Kerusakan Hepatosit (Udayan *et al.*, 2004).

Cyclin D1 merupakan suatu protein yang terdapat pada hepatosit yang diduga berperan dalam memberikan signal pada hepatosit untuk melakukan pembelahan sel. Pada penelitian Udayan, analisis dengan menggunakan *western blot* menunjukkan bahwa *cyclin D1* mengalami peningkatan pada minggu ke-1 dan ke-2 kemudian mengalami penurunan pada minggu ke-5 (Udayan *et al.*, 2004).



Gambar 2. Grafik Kadar *Cyclin D1* pada Tikus yang Diinduksi Alkohol Selama 5 Minggu (Udayan *et al.*, 2004).

Pada hepar normal sebagian besar sel dalam fase istirahat atau fase G_0 dari siklus mitosis dan sebagian kecil pada fase yang lain. Pada pemberian etanol, terjadi peningkatan perkembangan siklus sel yang mencapai puncaknya pada minggu ke-2. Hal ini mengakibatkan jumlah sel yang mengalami fase S pada kelompok yang diberi etanol lebih besar daripada kelompok control. Jumlah sel yang mengalami fase S menurun pada minggu ke-5 (Udayan *et al.*, 2004). Fase S atau fase sintesis merupakan bagian dari siklus sel di mana pada fase ini terjadi replikasi atau penggandaan DNA. Peningkatan fase ini menunjukkan bahwa sel akan melakukan pembelahan.



Gambar 3. Grafik Jumlah Sel yang Mengalami Fase S pada Tikus yang Diinduksi Alkohol (Udayan *et al.*, 2004).

3. Akupunktur

Akupunktur merupakan upaya pengobatan yang dilakukan dengan jalan memasukkan beberapa jarum kecil ke dalam kulit pada titik tertentu, yang dipilih sesuai dengan penyakit pasien dan keadaan tubuhnya. Jarum-jarum tersebut biasanya terbuat dari baja yang tahan karat. Titik-titik di dalam tubuh yang dimasuki jarum disebut akupoin atau titik-titik akupunktur. Titik-titik tersebut terletak dengan sangat detail, dan harus dipilih dengan sangat hati-hati (Michael, 2010).

Dasar dari pengobatan Cina, termasuk akupunktur, adalah teori keseimbangan *Yin Yang* dan lima unsur yang terdiri dari unsur kayu, api, tanah, logam dan air. Dalam pandangan kedokteran modern, keseimbangan *Yin Yang* diartikan sebagai homeostasis *neuro-endokrin-imun*. *Yin* bersifat lambat dengan aktivitas lama, menguasai bagian depan tubuh yang bersifat lunak dan dekat dengan organ *viscera*. *Yang* bersifat cepat dengan aktivitas pendek dan menguasai daerah kepala dan

leher sebagai pusat sebagai pusat segala aktivitas gerak, baik sadar maupun otonom. Lima unsur juga harus dalam keadaan seimbang supaya tubuh tetap dalam keadaan sehat. Kelainan pada salah satu unsur akan mempengaruhi unsur yang lain sehingga menimbulkan sakit (Saputra, 2005).

Teori umum akupunktur ialah adanya suatu pola aliran energi (*Qi*) di seluruh tubuh yang esensial bagi kehidupan. Gangguan aliran *Qi* diyakini menyebabkan penyakit. *Qi* mengalir pada meridian yaitu suatu sistem saluran yang melintang dan membujur yang dilalui *Qi*. Meridian terdiri atas jalur internal dan eksternal. Meridian jalur eksternal meliputi kulit di mana titik akupunktur berada dan jalur internal terhubung 12 organ *viscera*, selain itu juga terdapat 8 meridian istimewa (Ma Ling, 2009).

Akupunktur dapat mengembalikan ketidak seimbangan aliran energi melalui stimulasi pada titik-titik tertentu dengan cara penetrasi pada kulit menggunakan jarum logam yang padat dan tipis. Untuk memberikan stimulus, penetrasi jarum dimanipulasi (digerak-gerakkan) secara manual atau dengan stimulasi listrik (elektroakupunktur). Berbagai studi membuktikan bahwa akupunktur dapat menyebabkan berbagai respon biologis. Respon ini dapat terjadi lokal atau pada lokasi yang jauh yang dimediasi terutama oleh neuron sensoris terhadap struktur di dalam sistem saraf pusat. Akupunktur diketahui menyebabkan perubahan sekresi neurotransmitter dan neurohormon serta perubahan

regulasi aliran darah. Telah terbukti juga bahwa akupunktur menyebabkan perubahan fungsi imun (*National Institute of Health : Acupuncture*, 1997).

Teknik akupunktur yang pada dasarnya berhubungan dengan pengaturan *Qi* sangat berbeda dengan obat-obatan umum yang berusaha mengubah tubuh dengan zat-zat kimia, operasi, atau radiasi. Obat-obat umum cenderung memiliki suatu sikap yang agak negatif terhadap kemampuan daya sembuh seseorang. Di lain pihak, akupunktur memiliki keyakinan terhadap kekuatan daya sembuh tubuh, dan terus berusaha meningkatkan kemampuan ini. Akupunktur memandang kesehatan sebagai suatu kesejahteraan mental, emosional, sosial, dan fisik secara menyeluruh. Sedangkan pengobatan modern memandang kesehatan hanya sebagai suatu keadaan yang bebas dari gejala-gejala klinis (Michael, 2010).

Mekanisme akupunktur secara umum dapat dijelaskan sebagai berikut. Rangsangan akupunktur pada titik-titik akupunktur merupakan rangsangan mekanoreseptor. Rangsangan mekanoreseptor dibawa serabut saraf besar A bermielin. Serabut tersebut masuk ke dalam *columna dorsalis medulla spinalis* kemudian bersinap di *nucleus gracilis* dan *nucleus cutaneus* (neuron tingkat I). serabut saraf tersebut diteruskan ke *medulla oblongata* melalui *tractus spinothalamicus lateralis* kemudian bersinap, berganti neuron (neuron tingkat II). Selanjutnya saraf tersebut menyilang kontralateral, melalui *lemnikus medialis* menuju

thalamus. Pada kompleks *ventrobasal thalamus* terjadi pergantian neuron (neuron tingkat III). Dari *thalamus* serabut saraf diteruskan ke *cortex cerebri* area somatosensorik melalui *traktus thalamocorticalis* dan melalui *tractus frontocortikal* (Guyton dan Hall, 2008).

4. Titik Akupunktur *Riyue* GB 24

a. Lokasi Titik *Riyue* GB 24

Titik *riyue* GB 24 terletak pada *Intercostal Space* (ICS) 7, pada garis *linea medio-clavicular*. Titik ini berkhasiat dalam mengatasi mual, muntah, sakit maag, hepatitis, nyeri iga, sesak nafas, cegukan. Titik *riyue* GB 24 terletak satu tulang rusuk bawah titik *Qimen* (LV 14), tepat di bawah puting, di ruang intercostal 7 (Steven, 2005).

Stimulasi pada titik akupunktur dapat dilakukan secara manual dengan memutar-mutar jarum atau dengan memberikan stimulus dengan aliran listrik atau disebut juga elektroakupunktur. Dengan elektroakupunktur stimulasi lebih stabil dan kontinyu. Elektroakupunktur pada tikus menggunakan frekuensi listrik 2 Hz, amplitudo 10 mA (Gao *et al.*, 2000) dengan durasi 10-20 menit (Dharmananda, 2001b).

b. Pengaruh Elektroakupunktur Titik *Riyue* GB 24 terhadap Perbaikan Hepar

Titik *riyue* GB 24 terletak pada meridian kandung empedu (GB). Meridian hati dan kandung empedu berhubungan erat satu sama lain dalam hubungan *interior-exterior* (Deng *et al.*, 1997; Captchuk, 2000). Meridian kandung empedu (GB) berkaitan dengan organ kandung empedu dan berhubungan dengan organ hati. Meridian hati (LV) berkaitan dengan organ hati dan berhubungan dengan organ kandung empedu. Oleh karena itu, titik akupunktur pada meridian hati (LV) dapat digunakan untuk menyembuhkan gangguan pada kandung empedu sebagaimana pada hati. sebaliknya *acupoint* pada meridian kandung empedu (GB) juga dapat digunakan untuk menyembuhkan gangguan pada hati (Yim *et al.*, 2006).

Pada penelitian Lin dan kawan-kawan, stimulasi pada titik *riyue* GB 24 didapatkan hasil peningkatan HSP70 dan perlindungan dari kerusakan hepar pada tikus akibat *ischaemia-reperfusion* (Lin *et al.*, 2001). *Heat Shock Protein* (HSP) disebut juga *sress protein* yang terdapat pada sel di semua jenis kehidupan. HSP dihasilkan pada berbagai jenis stres ketika sel terpapar berbagai jenis stresor dari lingkungan seperti panas, logam berat, UV-B, dan stres akibat pengaruh lingkungan. HSP70 berperan pada kelangsungan hidup dari sel (Bukau dan Harwich, 1998).

HSP70 dapat melindungi sel dari stres oksidatif. Stres oksidatif biasanya mengakibatkan kerusakan protein dan menyebabkan *unfolded* sebagian protein dan mungkin agregasi. HSP70 mencegah denaturasi sebagian protein dan memungkinkan *refolded* protein. Selain meningkatkan integritas protein secara keseluruhan, HSP 70 juga menghambat apoptosis (Beere *et al.*, 2000). Salah satu ciri dari apoptosis adalah pelepasan sitokrom c, yang kemudian merekrut Apaf-1 dan dATP/ATP ke sebuah kompleks apoptosome. Kompleks ini kemudian memotong procaspase-9, mengaktifkan caspase-9 dan akhirnya merangsang apoptosis melalui aktivasi caspase-3. HSP70 menghambat proses ini dengan menghalangi perekrutan procaspase-9 ke kompleks Apaf-1/dATP/cytochrome c apoptosome.

Pada penelitian Qing Shi dan kawan-kawan, HSP27 meningkat 2 jam setelah hepatektomi kemudian mencapai kadar puncak 24 jam setelah operasi. Sedangkan HSP70 tidak menunjukkan perubahan sampai 24 jam setelah operasi. Penurunan kadar HSP27 diiringi dengan peningkatan kadar HSP70. HSP27 dan HSP70 menurun mencapai kadar normal empat hari setelah hepatektomi. Hambatan pada HSP dapat menghambat regenerasi hepar. Pada penelitian dengan pemberian quercetin, suatu zat yang dapat menghambat HSP70, didapatkan hasil tikus yang diberi quercetin setelah hepatektomi parsial memiliki rasio massa hepar dan massa

tubuh lebih rendah daripada yang tidak diberi quercetin. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian quercetin dapat menghambat regenerasi hepar melalui penghambatan HSP70 dan HSP27 (Qing shi *et al.*, 2007).

Salah satu mekanisme yang mungkin dalam perbaikan sel hepar oleh HSP adalah kemampuan HSP dalam merangsang sel kupfer untuk menghasilkan berbagai sitokin. Telah diketahui bahwa sel kupfer dapat memicu proliferasi sel hepar dengan cara memproduksi sitokin seperti *Interleukin 6* (Blindenbacher *et al.*, 2003; Cressman *et al.*, 1996) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (Ledda-Columbano *et al.*, 1998; Wilttrout, 2000; Yamada, 1997). *Interleukin 6* memiliki peranan sebagai *biliary epithelial mitogen* sedangkan *Tumor Necrosis Factor- α* mampu memicu proliferasi sel endotel hepar (Michalopoulos dan DeFrances, 1997).

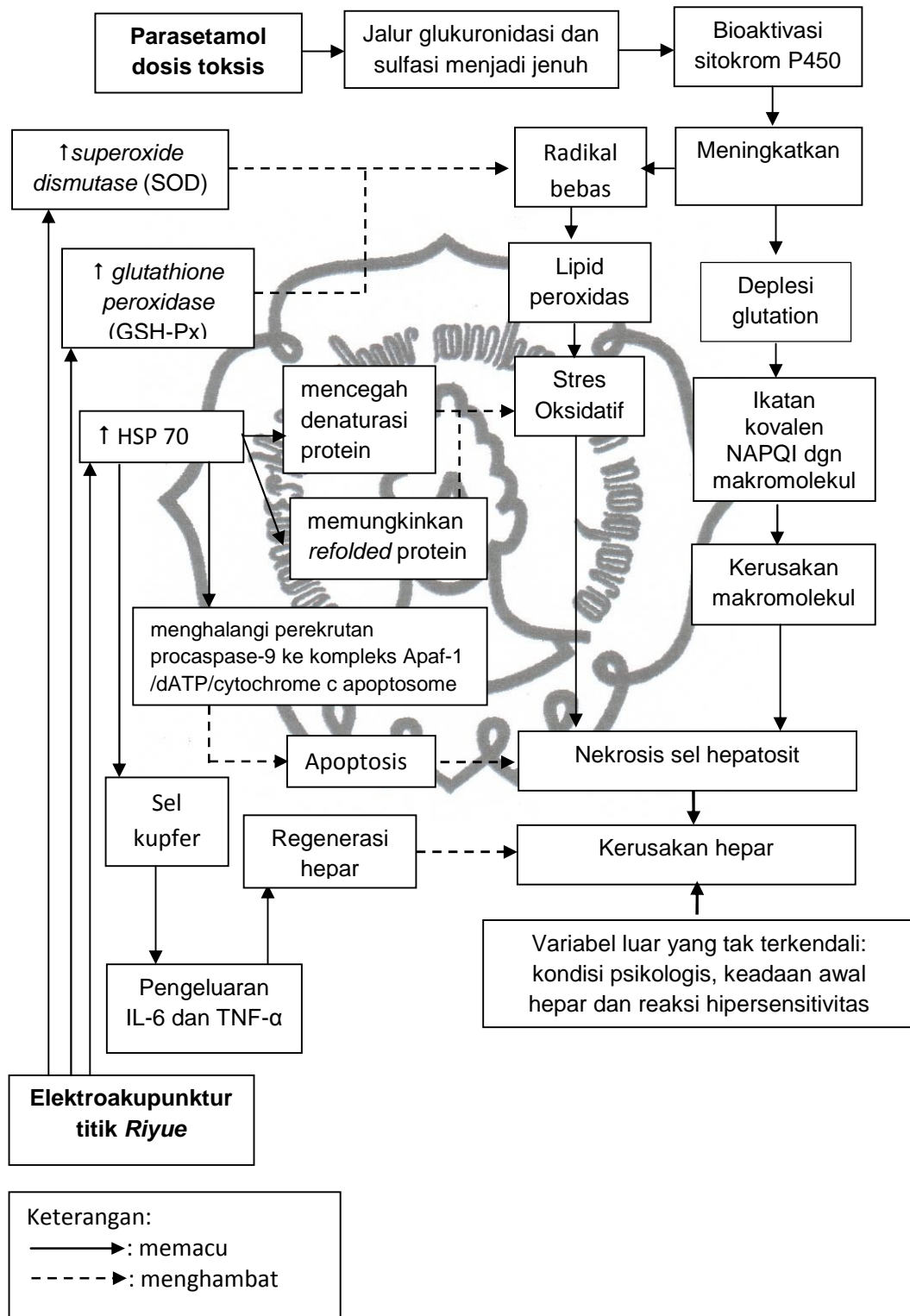
Stimulasi pada titik akupunktur dapat meningkatkan aktivitas antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroxidase* (GSH-Px) (Liu *et al.*, 2006). Dengan adanya antioksidan ini, maka akan terjadi penurunan aktivitas lipid peroksidase yang dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel.

Akupunktur dapat memperbaiki kadar MDA, aktivitas katalase dan *glutathione peroxidase* pada sel darah merah. Aktivitas SOD meningkat setelah terapi. Akupunktur menstabilkan proses

peroksidasi lipid dan meningkatkan status antioksidan eritrosit
(Pogosyan *et al.*, 2004).



B. Kerangka Pemikiran



Gambar 4. Skema Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 mengurangi kerusakan sel hepar tikus putih akibat parasetamol.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik. Peneliti mengadakan perlakuan terhadap sampel yang telah ditentukan yaitu berupa hewan coba di laboratorium.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi : Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur Wistar berusia 2-3 bulan dengan berat badan 130-200 gram.
2. Sampel : Menurut Purawisastra (2001), jumlah sampel yang digunakan berdasarkan rumus Federer yaitu:

$$\begin{aligned}
 (k-1)(n-1) &\geq 15 \\
 (3-1)(n-1) &\geq 15 \\
 2(n-1) &\geq 15 \\
 2n &\geq 15+2 \\
 n &\geq 8,5 \\
 n &\geq 9
 \end{aligned}$$

Keterangan:

k: jumlah kelompok

n: jumlah sampel dalam tiap kelompok

commit to user

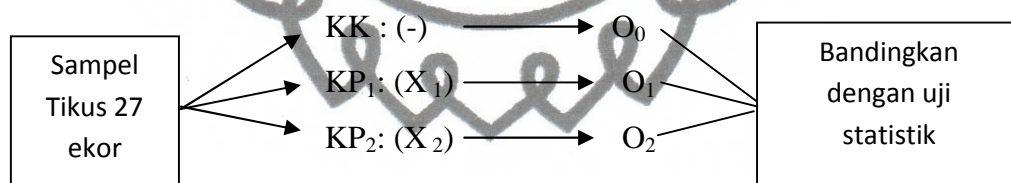
Pada penelitian ini jumlah sampel untuk tiap kelompok sebanyak 9 ekor tikus ($n \geq 9$). Jumlah kelompok tikus ada 3 sehingga penelitian ini membutuhkan 27 ekor tikus dari populasi yang ada.

D. Teknik Sampling

Teknik sampling yang dipakai adalah *random sampling*. Sampel diperoleh dengan mengambil begitu saja subjek penelitian yang ditemui dari populasi yang ada.

E. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *the post test only control group design*



Gambar 5. Skema Rancangan Penelitian.

Keterangan :

KK = Kelompok kontrol

KP1 = Kelompok perlakuan I

KP2 = Kelompok perlakuan II

(-) = Tidak diberi perlakuan. Kemudian dikorbankan pada hari ke-17

X₁ = Pada hari pertama dan ke-10 diberi parasetamol dosis 179 mg/200 g BB tikus (1 ml). Kemudian dikorbankan pada hari ke-17.

X_2 = Pada hari pertama dan ke-10 diberi parasetamol dosis 179 mg/200 g BB tikus (1 ml). Dilanjutkan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 yang dilakukan dua hari sekali mulai hari ke-3 hingga hari ke-17. Kemudian dikorbankan pada hari ke-17.

O_0 = Pengamatan jumlah inti sel hati piknosis, karyoreksis dan karyolisis dari 100 sel di sentrolobuler hepar kelompok kontrol.

O_1 = Pengamatan jumlah inti sel hati piknosis, karyoreksis dan karyolisis dari 100 sel di sentrolobuler hepar KP_1 .

O_2 = Pengamatan jumlah inti sel hati piknosis, karyoreksis dan karyolisis dari 100 sel di sentrolobuler hepar KP_2 .

F. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24.

2. Variabel Terikat

Kerusakan sel hepar tikus.

3. Variabel luar

a. Variabel luar yang dapat dikendalikan

Variasi genetik, jenis kelamin, umur, berat badan, dan jenis makanan tikus semuanya diseragamkan.

b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan

Kondisi psikologis, reaksi hipersensitivitas dan keadaan awal hati tikus.

G. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel bebas.

Elektroakupunktur dilakukan pada titik *riyue* GB 24 yang terletak satu tulang rusuk bawah titik *Qimen* (LV 14) tepatnya pada *Intercostal Space* (ICS) 7, pada garis *linea medio-clavicular*. Elektroakupunktur dilakukan dua hari sekali mulai hari ke-3 hingga hari ke-17. Hepatosit mulai mengalami regenerasi tujuh hari setelah pemberian parasetamol. Pada penelitian Udayan dan kawan-kawan, jumlah hepatosit yang mengalami fase S pada tikus yang mengalami kerusakan hepar akibat pemberian etanol mencapai puncak pada minggu ke-2 (Udayan *et al.*, 2004). Elektroakupunktur pada tikus menggunakan frekuensi listrik 2 Hz, amplitudo 10 mA selama 15 menit.

2. Variabel terikat

Gambaran histologis hepar adalah gambaran mikroskopis sel hepar tikus yang dipapar parasetamol kemudian diberikan rangsanganakupunktur pada titik *riyue* GB 24. Kerusakan hepar dinilai dari jumlah sel hepar yang mengalami *pyknosis*, *karyorhexis* dan *karyolisis* yang dihitung dari 100 sel pada zona sentrolobuler kemudian dari jumlah sel yang mengalami kerusakan dihitung jumlah skor kerusakannya. Diharapkan elektroakupunktur dapat mengurangi kerusakan hepar yang ditandai dengan lebih sedikit sel yang mengalami *pyknosis*, *karyorhexis* dan *karyolisis*.

Adapun tanda-tanda kerusakan sel :

- a. Sel yang mengalami *pyknosis* intinya kisut dan bertambah basofil, berwarna gelap batasnya tidak teratur.
- b. Sel yang mengalami *karyorrhexis* inti mengalami fragmentasi atau hancur dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel.
- c. Sel yang mengalami *karyolisis* yaitu kromatin basofil menjadi pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja.

3. Variabel luar

- a. Variabel luar yang dapat dikendalikan. Variabel ini dapat dikendalikan melalui homogenisasi.

- 1) Variasi genetik

Jenis hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) dengan galur Wistar

- 2) Jenis kelamin

Jenis kelamin tikus yang digunakan adalah jantan

- 3) Umur

Umur tikus pada penelitian ini adalah 2-3 bulan.

- 4) Berat badan.

Berat badan hewan percobaan 130-200 gr.

5) Jenis makanan.

Makanan yang diberikan berupa pelet dan minuman dari air PAM.

b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan : Kondisi psikologis, reaksi hipersensitivitas dan keadaan awal hati tikus.

1) Kondisi psikologis tikus dipengaruhi oleh lingkungan sekitar.

Lingkungan yang terlalu ramai dan gaduh, pemberian perlakuan yang berulang kali, dan perkelahian antar tikus dapat mempengaruhi kondisi psikologis tikus.

2) Reaksi hipersensitivitas dapat terjadi karena adanya variasi kepekaan tikus terhadap zat yang digunakan.

3) Keadaan awal hati tikus tidak diperiksa pada penelitian ini sehingga mungkin saja ada tikus yang sebelum perlakuan hatinya sudah mengalami kelainan.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat.

Alat yang digunakan adalah sebagai berikut :

- a. Alat elektroakupunktur
- b. *Point detector* untuk mengetahui titik akupunktur yang tepat
- c. Jarum akupunktur steril sekali pakai merek Huanqiu ukuran $\frac{1}{4}$ cun
- d. Timbangan
- e. *Spuir* 1 ml

- f. Alat-alat pembedahan hewan coba (gunting anatomis, pinset, jarum fiksasi, meja lilin)
- g. Alat-alat untuk pembuatan preparat histologis
- h. Mikroskop cahaya merk Olympus yang dilengkapi mikrometer objektif

2. Bahan.

Bahan yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

- a. Parasetamol.
- b. Makanan hewan percobaan (pelet).
- c. Aquades.
- d. Bahan untuk pembuatan preparat histologi dengan pengecatan HE.

I. Cara Kerja

1. Dosis dan pengenceran parasetamol.

Dosis Parasetamol yang diketahui dapat menyebabkan nekrosis sel hepar manusia adalah 10 – 15gr (150-250 mg/kg) (Suarsana dan Budiasa, 2005; Insel, 1991). Nilai konversi dari manusia (70 kg) ke tikus (200 gr) adalah 0,0179. Jadi dosis untuk tikus adalah $0,0179 \times 10 \text{ gr} = 0,179\text{gr} = 179 \text{ mg}$ parasetamol.

Parasetamol 500 mg dilarutkan dalam aquades hingga 2,8 ml. Dalam 1 ml larutan parasetamol mengandung 179 mg parasetamol. Dosis pemberian parasetamol peroral adalah 179 mg/200 gram berat badan tikus. Jumlah yang diberikan yaitu 1 ml = 179 mg/200 gr BB tikus.

Menurut Wilmana dan Gunawan (2007) pemberian parasetamol dosis tunggal sudah dapat menimbulkan kerusakan sel hepar berupa nekrosis pada daerah sentrolobularis dalam waktu 2 hari setelah pemberian parasetamol.

2. Persiapan tikus

Tikus diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran UNS, Surakarta. Sesudah adaptasi, keesokan harinya dilakukan penimbangan untuk menentukan dosis dan dilakukan perlakuan.

3. Pengelompokan Subjek

Pada minggu kedua mulai dilakukan percobaan. Selanjutnya subjek dikelompokkan menjadi empat kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 9 tikus. Adapun pengelompokan subjek adalah sebagai berikut:

- a. K = Tidak diberi perlakuan. Kemudian dikorbankan pada hari ke-17.
- b. P₁ = Kelompok perlakuan 1 pada hari pertama dan ke-10 diberi parasetamol dosis 179 mg/200 gr BB tikus (1 ml). Kemudian dikorbankan pada hari ke-17.
- c. P₂ = Kelompok perlakuan 2 pada hari pertama dan ke-10 diberi parasetamol dosis 179 mg/200 gr BB tikus (1 ml). Dilanjutkan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 yang dilakukan dua hari sekali mulai hari ke-3 hingga hari ke-17, selama 15 menit

dengan frekuensi 2 Hz, amplitudo 10 mA. Kemudian dikorbankan pada hari ke-17.

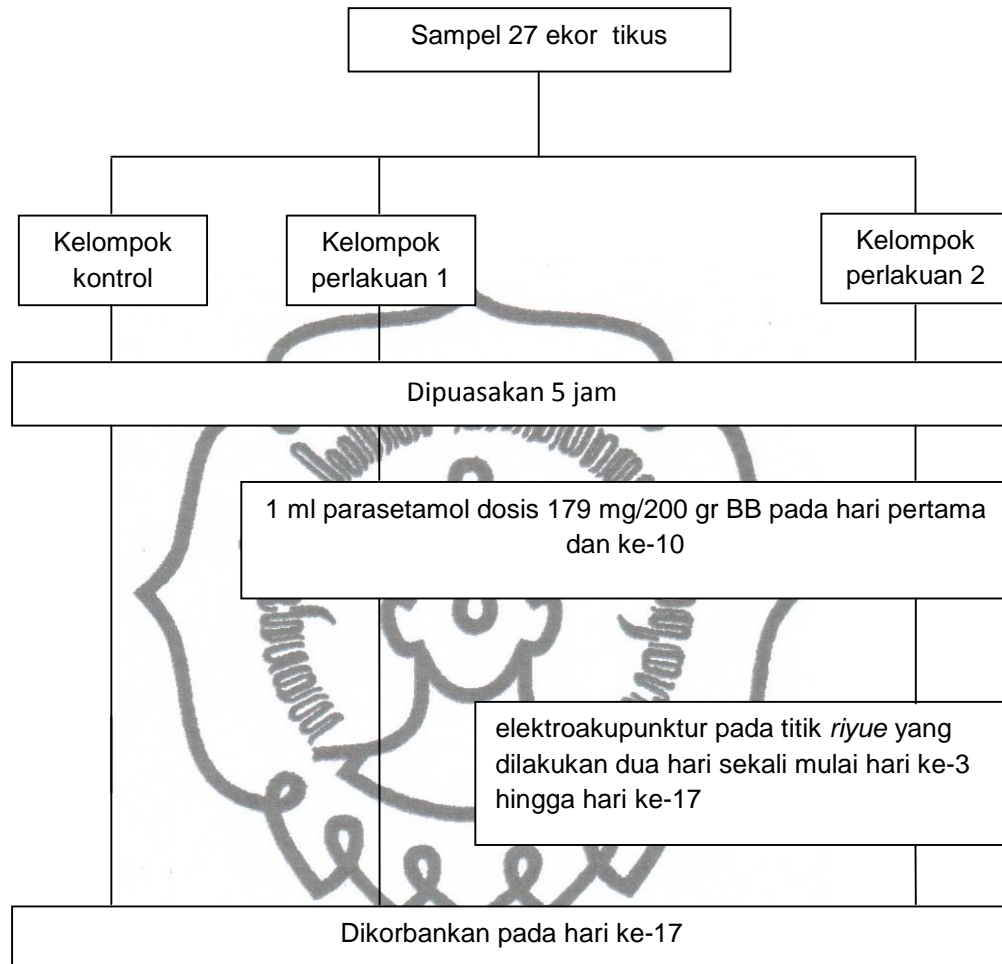
Setiap sebelum pemberian parasetamol, tikus dipuasakan dahulu ± 5 jam untuk mengosongkan lambung. Dengan pemberian parasetamol pada hari ke-10 diharapkan akan memberikan perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diberi akupunktur dengan kelompok yang tidak diberi akupunktur.

4. Elektroakupunktur

Dilakukan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 untuk kelompok P₂. Langkah-langkah elektroakupunktur sebagai berikut :

- a. Menyediakan alat elektroakupunktur dan jarum akupunktur. Mengatur saklar pada frekuensi 2 Hz, amplitudo 10 mA, waktu 15 menit.
- b. Memegang dan menenangkan tikus.
- c. Menentukan titik *riyue* GB 24 yang benar dengan *point detector*.
- d. Membersihkan lokasi titik akupunktur dengan alkohol.
- e. Menusukkan jarum akupunktur pada titik yang telah ditentukan dengan posisi miring.
- f. Memasang elektroda pada arum akupunktur yang telah ditusukkan.
- g. Menyalakan saklar *On* alat elektroakupunktur.
- h. Memberikan stimulasi hingga terjadi kontraksi otot pada area yang diakupunktur.

Skema Pemberian Perlakuan.

**Gambar 6.** Skema Langkah-langkah Penelitian.

5. Pengukuran Hasil.

Setelah diberikan perlakuan, tikus dikorbankan pada hari yang telah ditentukan dengan cara *neck dislocation*, kemudian organ hepar diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok paraffin dengan pengecatan HE. Lobus hepar yang diambil adalah lobus kanan dan irisan untuk preparat diambil pada bagian tengah dari lobus tersebut, hal ini dilakukan untuk mendapatkan preparat yang seragam. Dari tiap lobus kanan hepar dibuat 3 irisan dengan tebal tiap irisan 3-8 um. Jarak antar irisan satu dengan yang lain kira-kira 25 irisan. Tiap hewan percobaan dibuat 3 preparat. Dari masing-masing preparat diambil 1 daerah di sentrolobuler yang terlihat kerusakannya paling berat. Dari 1 zona tersebut akan didapatkan 1 skor untuk tiap 100 sel sentrolobuler. Sehingga didapatkan 3 skor dari 1 hewan percobaan. Dalam percobaan ini menggunakan 9 hewan percobaan dalam tiap kelompoknya sehingga akan diperoleh 27 skor untuk tiap kelompok percobaan. Pengamatan preparat dengan pembesaran 100 kali untuk mengamati seluruh lapang pandang, kemudian ditentukan daerah yang akan diamati pada sentrolobuler lobulus hepar dan dipilih 1 daerah yang kerusakannya terlihat paling berat. Dari tiap zona sentrolobuler lobulus hepar tersebut dengan pembesaran 400 kali kemudian ditentukan jumlah inti yang mengalami piknosis, karyoreksis dan karyolisis dari tiap 100 sel. Hasil yang diperoleh kemudian diberi skor dengan ketentuan :

- a. Piknosis diberi skor 1,

commit to user

- b. Karyoreksis diberi skor 1 dan
- c. Karyolisis diberi skor 1.

Jadi misalnya dari satu daerah zona sentrolobuler dari 100 sel yang diamati, ternyata terdapat 25 sel dengan inti piknosis, 15 dengan karyoreksis dan 5 dengan karyolisis maka jumlah skor dari satu daerah zona sentrolobuler tersebut adalah $(25 \times 1) + (15 \times 1) + (5 \times 1) = 45$. Sehingga dari tiap preparat diperoleh satu nilai skor. Jadi dari 3 preparat akan didapatkan 3 skor dari 1 hewan percobaan. Dalam percobaan ini menggunakan 9 hewan percobaan dalam tiap kelompoknya sehingga akan diperoleh 21 skor untuk tiap kelompok percobaan. Selanjutnya rata-rata skor dari masing-masing kelompok dibandingkan dengan uji *One Way* Anova dan jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

J. Teknik Analisis Data Statistik

Data yang diperoleh akan diuji menggunakan uji statistik *One Way* Anova ($\alpha = 0,05$). Jika terdapat perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons*. Derajat kemaknaan yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$ (Riwidikdo, 2007).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Berat Badan Subjek Penelitian

Sebelum diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat badan tikus dengan tujuan untuk menentukan dosis parasetamol. Tikus dikelompokkan menjadi 3 kelompok dan dihitung rata-rata berat badan tiap-tiap kelompok (tabel 1).

Tabel 1. Rerata Berat Badan Subjek Penelitian

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi
K	192.22	± 8.333
P1	190	± 8.66
P2	188.89	± 7.817

(Sumber: Data Primer, 2011).

Dari tabel 1 dapat dilihat rerata berat badan tiap-tiap kelompok perlakuan. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna rerata berat badan pada 3 kelompok, dilakukan uji *One Way Anova*. Untuk dapat melakukan uji *One Way Anova*, harus memenuhi 2 syarat yaitu sampel harus terdistribusi normal dan homogen.

Dari uji normalitas sampel, didapatkan $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan berat badan terdistribusi normal. Kemudian analisis homogenitas varian menunjukkan $p = 0.892$ yang berarti data terdistribusi normal. Oleh karena uji prasyarat *One Way Anova* telah terpenuhi, data berat badan dapat diuji dengan *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova*

manunjukkan $p = 0.689$. Data lengkap mengenai hasil uji *One Way Anova* dapat dilihat pada lampiran 3. Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna berat badan tikus pada seluruh kelompok, sehingga diharapkan hasil penelitian tidak dipengaruhi oleh perbedaan rerata berat badan tikus pada tiap kelompok.

B. Data Hasil Penelitian

Data hasil penelitian berupa data rasio yaitu jumlah kerusakan histologis sel hepar. Hasil pengamatan jumlah inti sel hepar yang mengalami piknosis, karioreksis, dan kariolisis untuk masing-masing kelompok disajikan pada lampiran 4. Rerata jumlah kerusakan histologis sel hepar untuk masing-masing kelompok tikus dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

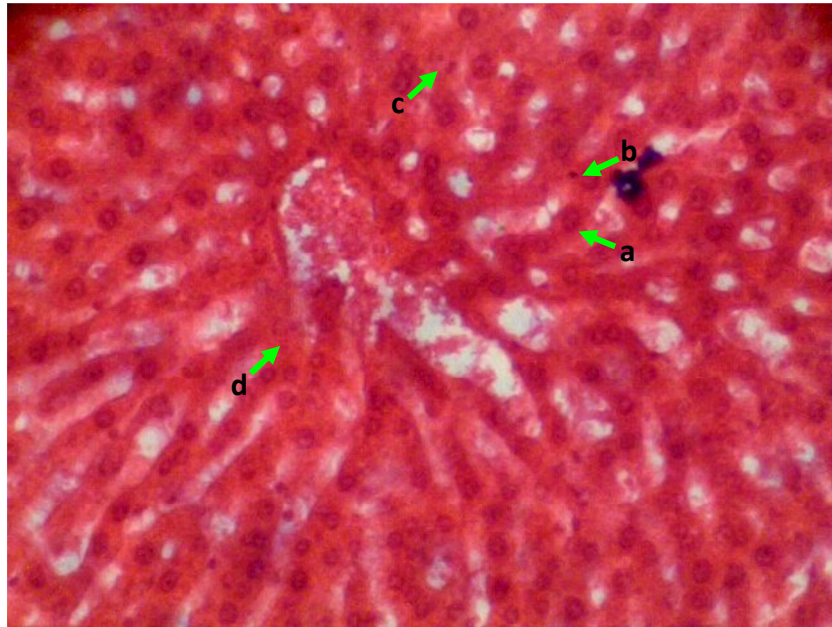
Tabel 2. Rerata Jumlah Kerusakan Histologis Sel Hepar Tikus.

Kelompok	Rerata Jumlah	Standar Deviasi
K	12.2	± 2.949
P1	86.33	± 4.243
P2	14.44	± 3.941

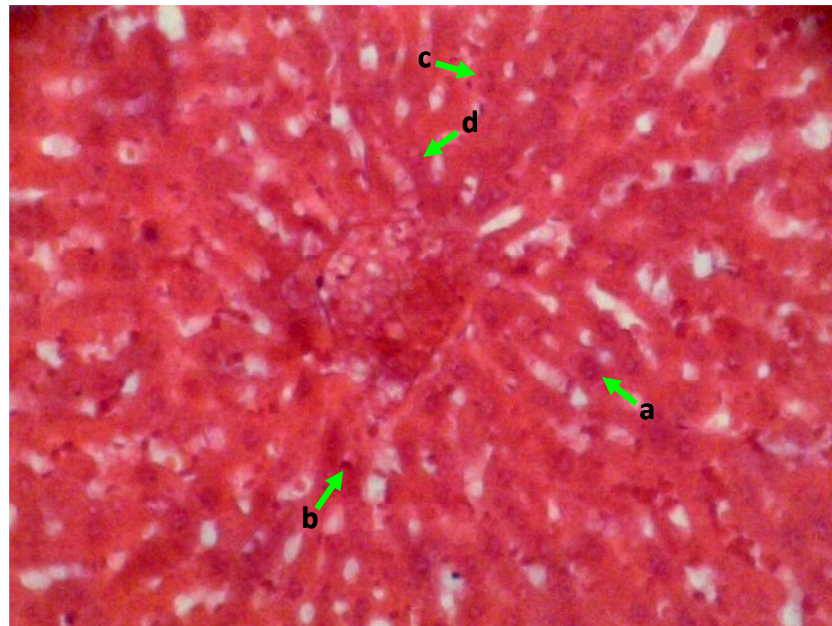
(Sumber: Data Primer, 2011).

Rerata jumlah kerusakan yang paling tinggi adalah pada kelompok P1 yaitu 86.33 ± 4.243 dan rerata jumlah kerusakan paling rendah adalah pada kelompok K yaitu 12.2 ± 2.949 .

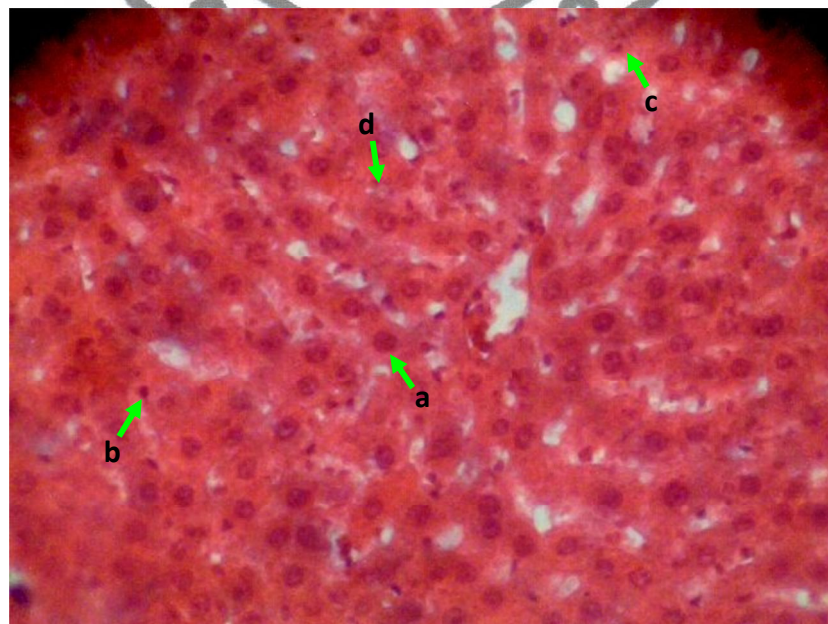
Gambaran histologis (fotomikrograf) hepar tikus putih pada penelitian ini dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar 7. Fotomikrograf Hepar Tikus Kelompok Kontrol (K). Tampak dalam gambar, a: inti sel normal, b: inti sel piknosis (inti sel mengisut dan tercat lebih basofil), c: inti sel karioreksis (inti sel mengalami fragmentasi), dan d: inti sel kariolisis (inti sel tampak menghilang). Pengecatan HE. 1000 x.



Gambar 8. Fotomikrograf Hepar Tikus Kelompok Perlakuan 1 (P1). Tampak dalam gambar, a: inti sel normal, b: inti sel piknosis (inti sel mengisut dan tercat lebih basofil), c: inti sel karioreksis (inti sel mengalami fragmentasi), dan d: inti sel kariolisis (inti sel tampak menghilang). Pengecatan HE. 1000 x.



Gambar 9. Fotomikrograf Hepar Tikus Kelompok Perlakuan 2 (P2). Tampak dalam gambar, a: inti sel normal, b: inti sel piknosis (inti sel mengisut dan tercat lebih basofil), c: inti sel karioreksis (inti sel mengalami fragmentasi), dan d: inti sel kariolisis (inti sel tampak menghilang). Pengecatan HE. 1000 x.

C. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, pertama kali diuji apakah ada perbedaan rerata jumlah kerusakan sel hepar yang bermakna antara ketiga kelompok dengan uji *One Way Anova*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 16.0 *for Windows*.

Syarat menggunakan uji *One Way Anova* :

1. Variabel data berupa variabel numerik/kontinyu/rasio. Data pada penelitian ini adalah jumlah kerusakan histologis sel hepar yang dinyatakan dengan skala rasio.
2. Sebaran data harus normal, dibuktikan dengan nilai uji Kolmogorov-Smirnov atau Saphiro-Wilk yang memiliki nilai p lebih besar daripada nilai alfa. Misal, alfa = 0,05 maka nilai p untuk uji sebaran data harus $> 0,05$.
3. Varians data harus sama. Hal ini dapat diketahui dengan menggunakan uji *Homogeneity of Variances*, dimana untuk varians data yang sama akan memiliki nilai $p > \text{nilai alfa}$.
4. Jika ketiga syarat di atas tidak terpenuhi maka dapat digunakan uji hipotesis alternatif yaitu berupa uji hipotesis non-parametrik Kruskal-Wallis (Dahlan, 2008).

Metode analisis yang dapat digunakan untuk menentukan sebaran data normal atau tidak normal adalah uji Kolmogorov-Smirnov (sampel > 50) atau uji Saphiro-Wilk (sampel ≤ 50) (Dahlan, 2008). Penelitian ini menggunakan 27 sampel, maka digunakan uji Saphiro-Wilk untuk

menentukan apakah sebaran data normal atau tidak. Hasil uji Saphiro-Wilk dapat dilihat pada lampiran 5; sedangkan grafik *boxplot* perbandingan antarkelompok dapat dilihat pada lampiran 5.

Nilai p dari hasil uji Saphiro-Wilk berturut-turut untuk kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2 dan adalah 0,697; 0,558; dan 0,767, dimana ketiga nilai tersebut lebih besar dari alfa (0,05), sehingga dapat dinyatakan bahwa:

- a. Sebaran data kelompok kontrol normal.
- b. Sebaran data kelompok perlakuan 1 normal.
- c. Sebaran data kelompok perlakuan 2 normal.

Syarat kedua untuk menggunakan uji *One Way Anova* terpenuhi, selanjutnya dilakukan uji *Homogeneity of Variances* untuk mengetahui apakah varians data sama atau tidak.

Sebaran data secara deskriptif dapat dilihat pada lampiran 5 dan hasil uji *Homogeneity of Variances* dapat dilihat pada lampiran 5. Nilai p yang didapatkan dari uji *Homogeneity of Variances* adalah 0,602, dimana nilai ini lebih besar dari 0,05 dan dapat diartikan bahwa varians data antarkelompok sama. Syarat ketiga untuk menggunakan uji *One Way Anova* terpenuhi sehingga uji *One Way Anova* bisa dilakukan.

Hasil uji *One Way Anova* dapat dilihat pada lampiran 5. Nilai p dari hasil uji *One Way Anova* adalah 0,000 ($p < 0,05$), jadi terdapat perbedaan rerata jumlah kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2.

Uji statistik kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Multiple Comparisons* dan yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji LSD. Hasil uji LSD dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil uji LSD didapatkan:

- 1) Nilai p antara kelompok kontrol-perlakuan 1 = 0,000; lebih kecil dari alfa (0,05).
- 2) Nilai p antara kelompok perlakuan 1-perlakuan 2 = 0,000; lebih kecil dari alfa (0,05).
- 3) Nilai p antara kelompok kontrol-perlakuan 2 = 0,221; lebih besar dari alfa (0,05).

Hasil ini menunjukkan bahwa:

- a) Terdapat perbedaan rerata jumlah kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1.
- b) Terdapat perbedaan rerata jumlah kerusakan sel hepar yang bermakna antara kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2.
- c) Terdapat perbedaan rerata jumlah kerusakan sel hepar yang tidak bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2.

BAB V

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan tikus sebagai hewan coba karena pada penelitian sebelumnya tikus telah banyak digunakan sebagai hewan coba untuk mengamati gambaran histologis dari sel hepar. Penelitian yang dilakukan Boyd dan Bereczky menunjukkan bahwa penggunaan parasetamol dalam dosis berlebih dapat menginduksi toksisitas pada hepar yang ditandai dengan terjadinya nekrosis pada sel hepar. Penelitian Boyd dan Bereczky terutama terpusat pada toksisitas akibat penggunaan secara oral, dijelaskan bahwa terdapat temuan histopatologis pada sebagian besar jaringan dan juga terdapat perubahan gambaran histologis dari hepar (Dixon, *et al.*, 2005).

Seperti pada penelitian Boyd dan Bereczky, penelitian ini juga menggunakan parasetamol untuk menginduksi terjadinya nekrosis atau kerusakan pada hepar tikus. Nekrosis adalah kematian sel dan jaringan pada tubuh yang hidup. Pada nekrosis perubahan tampak nyata pada inti sel. Perubahan morfologis yang pada stadium lanjut dapat berupa inti sel piknotik (kariopiknosis), karioreksis, dan kariolisis. Kariopiknosis yaitu pengerutan inti sel dan kondensasi kromatin. Karioreksis yaitu pecahnya inti yang meninggalkan pecahan-pecahan sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Kariolisis yaitu penghancuran dan pelarutan inti sel sehingga

inti sel menghilang. Ketiganya dapat berlanjut menjadi pecahnya membran plasma (Damjanov dan Linder, 1996).

Pada penelitian ini kerusakan struktur sel hepar dinilai dari jumlah sel hepar yang intinya piknosis, karioreksis dan kariolisis, dan ketiga jenis kerusakan ini diberi nilai 1 karena ketiga jenis kerusakan sel tersebut bukan sebagai kelanjutan satu sama lain, akan tetapi berdiri sendiri-sendiri yang ketiganya akan dapat menyebabkan kematian sel.

Secara teoritis, sel hepar tikus yang dipaparkan dengan parasetamol akan mengalami kerusakan yang digambarkan dengan terdapatnya inti sel yang piknotik, karioreksis dan kariolisis. Kelompok kontrol digunakan sebagai pembanding terhadap kelompok parasetamol dan kelompok perlakuan.

Dari uji *One Way Anova* didapatkan perbedaan yang bermakna antara ketiga kelompok. Karena pada uji *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbedaan bermakna tersebut terdapat antara kelompok yang mana. Hasil uji LSD menunjukkan perbedaan bermakna pada kelompok K - P1, P1 - P2, tetapi pada kelompok K - P2 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Hasil uji LSD menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dari jumlah rata-rata kerusakan sel hepar antara kelompok K dan kelompok P1 (hasil uji LSD antara kelompok K dan P1 disajikan dalam lampiran 5), yang berarti parasetamol mampu menginduksi terjadinya nekrosis atau kerusakan pada hepar tikus. Hasil

tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa parasetamol dosis toksik mampu menginduksi kerusakan sel hepar akibat NAPQI yang reaktif dan toksik. NAPQI akan berikatan secara kovalen dengan makromolekul sel seperti lipid, protein, dan DNA (Burke *et al.*, 2006). Reaksi antara NAPQI dengan makromolekul akan memacu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selain itu, NAPQI dapat menginisiasi secara langsung terjadinya peroksidasi lipid (degradasi oksidatif lipid) pada membran sel sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Lipid peroksida (hasil peroksidasi lipid) dan ROS dapat menciptakan kondisi stres oksidatif, keadaan di mana tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh dan menurunnya sistem biologis tubuh untuk menetralkan radikal bebas tersebut sehingga menyebabkan kerusakan sel dan jaringan yang masif (Rubin *et al.*, 2005; Winarsi, 2007).

Kelompok K digunakan sebagai pembanding terhadap kelompok P1 dan kelompok P2. Dalam kelompok K juga terlihat gambaran inti piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Hal ini terjadi karena semua sel normal secara fisiologis akan mengalami proses apoptosis. Apoptosis adalah jalur kematian sel terprogram bukan “pembunuhan” sel yang terjadi pada kematian sel nekrotik. Setiap sel dalam tubuh akan selalu mengalami penuaan yang diakhiri kematian sel dan digantikan oleh sel baru melalui proses regenerasi (Mitchell dan Cotran, 2007). Pengaruh variabel luar yang tidak dapat dikendalikan juga dapat menjadi faktor penyebabnya.

Pada kelompok P2, hewan coba selain diberi parasetamol juga dilanjutkan dengan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24. Hasil analisa skor kerusakan sel antara kelompok P1 – P2 didapatkan perbedaan yang bermakna. Hal ini berarti elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 dapat mengurangi jumlah kerusakan sel hepar tikus akibat pemberian parasetamol. Menurut penelitian Lin dan kawan-kawan, stimulasi pada titik *riyue* GB 24 didapatkan hasil peningkatan HSP70 dan perlindungan dari kerusakan hepar pada tikus akibat *ischaemia-reperfusion* (Lin *et al.*, 2001). HSP70 dapat melindungi sel dari stres oksidatif. Selain itu HSP 70 juga meningkatkan integritas protein secara keseluruhan dan juga mampu menghambat terjadinya apoptosis (Beere *et al.*, 2000). HSP mampu merangsang sel kupfer untuk menghasilkan berbagai sitokin seperti *Interleukin 6* dan *Tumor Necrosis Factor- α* yang akan memicu proliferasi sel endotel hepar (Michalopoulos dan DeFrances, 1997). Stimulasi pada titik akupunktur dapat meningkatkan aktivitas antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroxidase* (GSH-Px) (Liu *et al.*, 2006). Dengan adanya antioksidan ini, maka akan terjadi penurunan aktivitas lipid peroksidase yang dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel.

Hasil analisis skor kerusakan sel antara kelompok K – P 2 tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 dapat memperbaiki kerusakan hepar tikus yang diinduksi parasetamol. di mana terjadi penurunan yang bermakna jumlah kerusakan sel hepar pada tikus yang

diinduksi parasetamol mendekati jumlah kerusakan sel hepar pada tikus yang tidak diinduksi parasetamol dengan perbedaan yang tidak bermakna.

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian, setelah diuji dengan statistik memperlihatkan adanya pengaruh elektroakupunktur pada titik *riyue* GB 24 terhadap perbaikan hepar. Perbaikan ini ditunjukkan dengan penurunan jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan di sekitar vena centralis atau zona centrolobuler.

Penelitian ini sejalan dengan yang ditunjukkan Yim dan kawan-kawan bahwa elektroakupunktur pada tikus yang diinduksi CCl_4 dapat memperbaiki kerusakan struktur histologis hepar. Pada penelitiannya, Yim menggunakan titik Yanglingquan GB 34 yang secara tradisional merupakan titik meridian kandung empedu (Yim *et al.*, 2006).

Untuk menilai fungsi hepar perlu dilakukan berbagai macam pemeriksaan meliputi pemeriksaan bilirubin serum, bilirubin urin, urobilinogen, dan juga enzim-enzim yang menunjukkan terjadinya nekrosis pada hepar seperti SGOT dan SGPT. Pada penelitian ini hanya dilakukan pengamatan histologis hepar dalam menilai kerusakan sel hepar. Sedangkan uji laboratorium tidak dilakukan. Hal ini merupakan kelemahan dari penelitian ini. Untuk itu diharapkan pada penelitian selanjutnya juga dilakukan uji laboratorium sehingga dapat melengkapi bukti ilmiah kerusakan sel hepar.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Simpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah bahwa elektroakupunktur yang dilakukan pada titik *riyue* GB 24 dapat mengurangi kerusakan sel hepar tikus putih akibat parasetamol.

B. Saran

Saran yang diberikan berdasarkan hasil penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan titik akupunktur yang lebih bervariasi.
2. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan parameter selain jumlah sel yang mengalami kerusakan.