

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Sebelum memberikan perlakuan pada masing-masing kelompok, 48 tikus ini terlebih dahulu diadaptasi terhadap lingkungan selama kurang lebih 7 hari. Setelah itu tikus dibagi menjadi 8 kelompok yaitu 1 kontrol negatif, 1 kontrol positif, 3 kelompok perlakuan dengan perbedaan pada lama pemberian kurkumin ( 2 minggu, 5 minggu, dan 9 minggu), dan 3 kelompok kontrol dari masing-masing lama pemberian. Tiap kelompok terdiri dari 6 tikus yang telah diseleksi dari kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Semua tikus, kecuali tikus pada kontrol negatif, akan diinduksikan dengan karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) selama 9 minggu agar mengalami fibrosis hati. Induksi karbon tetraklorida itu sendiri dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis pada masing-masing tikus sebesar 1 ml/kgbb. Selama pemberian CCl<sub>4</sub> dengan durasi 9 minggu ini, telah terdapat 6 tikus yang mati, 1 tikus dari KK9 ditemukan dalam keadan kepala sudah terkoyak, kemungkinan karena berkelahi dengan sesama tikus, 1 tikus dari KK5 ditemukan kejang-kejang dan meninggal sesaat setelah diinjeksikan CCl<sub>4</sub>, 1 tikus lain dari KK5, 1 dari kontrol positif, dan 2 tikus dari KP5, ditemukan sudah dalam keadaan meninggal ketika akan memberi makan dan minum tikus. Setelah 9 minggu, tikus dari kontrol negatif dan kontrol positif dikorbankan dan diambil serum dan organ-organ yang dibutuhkan. Pada saat inilah dimulai pemberian kurkumin pada kelompok perlakuan dengan dosis sebesar 200 ml/kgbb. Sedangkan pada kelompok kontrol hanya diberikan plasebo pelarut kurkumin CMC Na. Selama 2 minggu pertama pemberian kurkumin / plasebo, terdapat 1 tikus ditemukan meninggal tanpa ada tanda-tanda bekas luka pada KP9 dan 1 tikus pada KP2 meninggal sesaat setelah pemberian kurkumin,

kemungkinan karena sonde salah masuk ke paru-paru. Setelah 2 minggu, tikus pada KP2 dan KK2 dikorbankan dan diambil serum serta organ-organ yang diperlukan. Kemudian, pemberian kurkumin dilanjutkan lagi selama 3 minggu, setelah pemberian selama 3 minggu, tikus-tikus pada KP5 dan KK5 dibedah dan diambil yang diperlukan. Selama 3 minggu ini, ditemukan 1 tikus yang mati pada KK9 ketika akan memberikan pakan dan minum. Kemudian pemberian kurkumin dilanjutkan kembali selama 4 minggu. Selama periode ini, ditemukan 1 tikus yang mati dari KP9 saat akan memberi pakan dan minum. Setelah pemberian kurkumin selesai, dilakukan pembedahan terakhir pada KP9 dan KK9.

Berdasarkan dari hasil uji analisis dengan menggunakan metode *One Way ANOVA*, didapatkan angka signifikansi sebesar 0,000 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dari hasil kadar MDA jaringan hati tikus pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, baik kontrol positif maupun kontrol perlakuan. Pada kontrol positif, hasil kadar MDA jaringan hati lebih tinggi dibandingkan dengan hasil kadar MDA jaringan hati pada kontrol negatif walaupun jarak selisih kadar MDA tidak terlalu jauh (Gambar 5.1). Hal itu dapat menjelaskan bahwa CCl<sub>4</sub> yang diberikan pada tikus kontrol positif berperan dalam meningkatkan kadar MDA jaringan hati. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan salah satu marker dari proses peroksidasi lipid yang terjadi karena munculnya ROS yang terbentuk akibat adanya stres oksidatif. Kadar MDA ini akan meningkat bila dalam sebuah jaringan mengalami kerusakan akibat berbagai faktor. Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>), secara signifikan dapat meningkatkan kadar MDA melalui mekanisme stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan jaringan dan sel (Barahoroglu, *et al.* 2008).

Dari hasil penelitian ini (Gambar 5.2) dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan selama 2 minggu memiliki rerata kadar MDA jaringan hati yang lebih

rendah (2,547 ng/mL) dibandingkan rerata kadar MDA jaringan hati pada kelompok kontrol positif (2,978 ng/mL). rerata kadar MDA jaringan hati kelompok perlakuan selama 2 minggu ini pun juga lebih rendah dibandingkan dengan rerata kadar MDA jaringan hati kelompok kontrol selama 2 minggu (2,796 ng/mL) (Gambar 5.4). Hasil ini mengartikan bahwa pemberian kurkumin memang memberikan efek menurunkan kadar MDA dalam jaringan hati karena pada kelompok kontrol positif maupun kelompok kontrol 2 minggu tidak diberikan larutan kurkumin. Angka signifikansi yang hanya 0,780 (dibandingkan dengan kontrol positif) dan 0,984 (dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 minggu) dapat diartikan bahwa pemberian kurkumin pada fibrosis hati tidak memberikan efek terapi yang maksimal jika hanya diberikan selama 2 minggu. Dalam kondisi ini, pemberian kurkumin ini membutuhkan waktu yang lebih lama dari pemberian yang hanya 2 minggu untuk menurunkan kadar MDA jaringan hati dan mencapai target penyembuhan pada fibrosis hati.

Pada data hasil penelitian di tikus kelompok perlakuan 5 minggu (Gambar 5.2), rerata kadar MDA jaringan hati tikus pada kelompok perlakuan selama 5 minggu jauh lebih rendah (1,849 ng/mL) dibandingkan dengan rerata kadar MDA jaringan hati tikus kelompok kontrol positif (2,978 ng/mL) dan memiliki angka signifikansi sebesar 0,010. kemudian, bila dibandingkan dengan kelompok kontrol 5 minggu (2,778 ng/mL) (Gambar 5.4), rerata kadar MDA jaringan hati kelompok perlakuan 5 minggu lebih rendah yaitu 1,849 ng/mL dengan angka signifikansi sebesar 0,049. Artinya, bahwa pada perlakuan selama 5 minggu, terapi kurkumin ini mengalami efektivitas jauh dibandingkan dengan tikus yang hanya diberikan plasebo pelarut kurkumin, hal ini dibuktikan dengan jarak yang cukup jauh antara rerata kadar MDA jaringan hati pada tikus kelompok perlakuan dengan tikus

kelompok kontrol 5 minggu. Kemudian jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 minggu, angka signifikansi antara kelompok perlakuan 5 minggu dengan kelompok perlakuan 2 minggu adalah sebesar 0,243 yang berarti bahwa perbedaan rerata kadar MDA jaringan hati antara kelompok perlakuan 5 minggu dengan kelompok perlakuan 2 minggu tidak terlalu signifikan. Namun, jika dilihat dari selisih kadar rerata MDA jaringan hatinya, pemberian kurkumin dengan lama pemberian selama 5 minggu, dapat menurunkan lebih banyak kadar MDA jaringan hati dibandingkan jika hanya diberikan selama 2 minggu.

Pada kelompok perlakuan selama 9 minggu, dari hasil pembacaan data penelitian (Gambar 5.2), dapat ditemukan bahwa, kadar MDA jaringan hati pada kelompok perlakuan selama 9 minggu ( $1,494 \pm 0,611$  ng/mL) lebih rendah dibandingkan dengan kadar MDA jaringan hati tikus kelompok kontrol positif ( $2,978 \pm 0,256$  ng/mL). kemudian kadar MDA jaringan hati kelompok perlakuan 9 minggu ini pun juga memiliki nilai yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar MDA jaringan hati tikus kelompok kontrol 9 minggu (Gambar 5.4) ( $2,959 \pm 0,167$  ng/mL) dengan angka signifikansi sebesar 0,000 yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar MDA jaringan hati pada tikus model fibrosis hati kelompok perlakuan selama 9 minggu dengan kelompok kontrolnya.

Jika dilihat dari lama pemberian larutan kurkumin, dari pemberian kurkumin 2 minggu, 5 minggu, dan 9 minggu, kadar MDA jaringan hati pada kelompok perlakuan akan semakin rendah bila larutan kurkumin diberikan semakin lama. Hal ini membuktikan bahwa larutan kurkumin, zat yang diharapkan sebagai terapi fibrosis hati, memang mampu menurunkan kadar MDA jaringan hati. Ada beberapa mekanisme pada kurkumin dalam fungsinya sebagai anti fibrosis. Kurkumin mampu menghambat proses aktivasi dari *Hepatic Stellate Cells* (HSC)

dengan mengupregulasi ekspresi dari gen *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* (PPAR)- $\gamma$  dan menstimulasi proses *signalling*-nya (Fu, *et al.* 2008). Dengan adanya peningkatan kadar PPAR- $\gamma$ , akan terjadi proses inaktivasi dari *Nuclear Factor-kappa Beta Cells* (NF- $\kappa$ B). Salah satu peran dari NF- $\kappa$ B adalah menghambat proses apoptosis dari sel, sedangkan pada proses fibrosis hati, dibutuhkan apoptosis dari sel yang rusak untuk mengurangi jumlah radikal bebas dalam tubuh (Xu, *et al.* 2003). Mekanisme lain dari kerja larutan kurkumin sebagai antifibrosis ini adalah dengan cara meningkatkan jumlah glutation dalam hati. Meningkatnya jumlah glutation dalam hati membuat kadar dari lipid hidroperoksida semakin menurun karena proses perubahan dari radikal bebas menjadi senyawa anti radikal oleh glutation (Fu, *et al.* 2008).

Pada saat terjadi kerusakan jaringan hati ketika diberikan injeksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>), sel parenkimal hati akan merespon kerusakan tersebut dengan melakukan regenerasi sel dalam responnya terhadap inflamasi dan deposisi dari sel matriks ekstraseluler, sedangkan pada kasus fibrosis hati yang masih awal, akan terjadi perbaikan dari hati tanpa adanya pemberian terapi medikamentosa yang lain (Ramon, 2005). Namun, dari perbandingan hasil data penelitian tikus dari masing-masing kelompok kontrol, atau kelompok tikus yang hanya diberikan plasebo pelarut kurkumin, dari minggu ke 2, menuju minggu ke 5, dan menuju minggu ke 9, tidak terjadi adanya perbaikan yang berarti dari sel-sel hati tikus ini, hal ini ditandai dengan tidak adanya penurunan kadar MDA jaringan hati tikus kelompok kontrol dari 2 minggu, 5 minggu, dan 9 minggu (Gambar 5.3). Kadar MDA jaringan hati pada kelompok kontrol minggu 2, minggu 5, dan minggu 9, berada pada *range* yang saling berdekatan, kadar MDA kelompok kontrol 2 minggu adalah  $2,796 \pm 0,759$  ng/mL, sedangkan kadar MDA kelompok kontrol 5

minggu adalah  $2,778 \pm 0,145$  ng/mL, dan kadar MDA kelompok kontrol 9 minggu adalah  $2,959 \pm 0,167$  ng/mL. dari angka-angka yang telah disebutkan, kondisi diatas terlihat seakan-akan tidak ada perbaikan yang dilakukan oleh sel parenkimal hati sendiri. Padahal dari data hasil penelitian ini, terdapat perbaikan derajat fibrosis hati dari minggu ke minggu. Hal ini dimungkinkan terjadi karena ROS diproduksi bukan hanya oleh HSC, namun juga dapat diproduksi oleh sel-sel lain yang berada di jaringan hati. ROS diproduksi utamanya oleh mitokondria dan juga retikulum endoplasma pada sel hepatosit. Namun, retikulum endoplasma pada makrofag (sel kupffer) dan neutrofil juga dapat memproduksi ROS di jaringan hati melalui mekanisme NADPH Oksidase (Cichoż-Lach, 2014). Kemudian kemungkinan lain yang dapat menyebabkan persistensi dari kadar MDA pada kelompok kontrol perlakuan ini adalah adanya defisiensi dari GSH. ROS yang terbentuk di ruang intravaskular jaringan hati dapat didetoksifikasi oleh GSH yang dibentuk oleh sel hepatosit (Jaeschke, 2011). Defisiensi dari GSH ini dapat menyebabkan lingkungan yang oksidatif dan paparan ROS yang berkelanjutan pada sel T di lien dan jaringan hati walaupun terjadi kerusakan kecil atau bahkan tidak ada kerusakan pada jaringan hati (Lee *et al*, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara lama pemberian kurkumin terhadap penurunan kadar MDA jaringan hati pada tikus model fibrosis hati akibat induksi karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>). dari penelitian payung yang sebelumnya, telah dibuktikan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) dapat menyebabkan proses fibrosis hati pada tikus dengan meningkatkan jumlah radikal bebas dalam jaringan dan menyebabkan reaksi stress oksidatif, peningkatan sel matriks ekstra seluler, dan deposisi kolagen pada jaringan hati (Li, *et al*. 2015). Kurkumin dipercaya dapat memberikan efek perbaikan pada jaringan hati yang

telah terkena injuri akibat CCl<sub>4</sub> dengan menurunkan reaksi stres oksidatif di jaringan dan menghambat aktivasi dari HSC, juga dapat berperan sebagai antiinflamasi dengan mensupresi reaksi inflamasi di jaringan hati (Fu, *et al.* 2008).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari penelitian ini adalah penggunaan pelarut ekstrak CCl<sub>4</sub> yang dapat menyebabkan tingkat toksisitas dari CCl<sub>4</sub> berkurang apabila perbandingan pelarut dengan CCl<sub>4</sub>nya terlalu tinggi. kemudian yang diduga mempengaruhi hasil adalah penyimpanan sampel organ pada freezer suhu -20°C. Sedangkan menurut *Oxford Biomedical Research* (2011), stabilitas sampel berada pada hasil optimal jika digunakan segera setelah pengambilan sampel. Jika tidak dimungkinkan, sampel harus disimpan di dalam lemari es dengan suhu -70°C untuk mencegah hilangnya stabilitas MDA dan oksidasi sampel. Sebaiknya sampel tidak boleh disimpan di suhu -20°C dan tidak boleh dibekukan ulang serta sampel harus dihindarkan dari sinar.

