

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan Hasil Penelitian

6.1.1. Uji Separasi Komponen Minyak Kelapa Sawit

Uji separasi komponen minyak kelapa sawit dilakukan dengan metode KLT (Kolom Lapis Tipis) menggunakan prinsip pemisahan senyawa berdasarkan polaritas senyawa yang menyesuaikan polaritas eluen dan fase diam yang digunakan. Nilai R_f yang diperoleh dari uji separasi komponen minyak kelapa sawit ini setelah tiga kali uji adalah sebesar $0,3125 \pm 0,0141$ dimana nilai tersebut mendekati dengan nilai R_f senyawa tokols dalam minyak kelapa sawit di literatur sehingga secara kualitatif dapat disimpulkan bahwa dalam minyak kelapa sawit yang digunakan pada penelitian ini mengandung kelompok senyawa tokols (Chandrasekaram, 2009).

Nilai R_f hasil uji memiliki selisih dengan nilai R_f literatur yaitu berturut-turut sebesar $0,3125 \pm 0,0141$ dan $0,34$ dimana hal ini dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya adalah proses aplikasi sampel maupun proses eluasi. Aplikasi sampel dapat dilakukan secara manual maupun otomatis. Umumnya jumlah sampel yang diaplikasikan pada fase diam adalah sebanyak 1-5 μL dimana biasanya sampel terlebih dulu dilarutkan dengan komponen eluen yang sesuai. Jumlah sampel yang diaplikasikan pada fase diam dapat mempengaruhi noda yang tampak. Alat dan bahan yang digunakan dalam KLT seperti fase diam, fase gerak, dan *chamber* dapat mempengaruhi proses eluasi KLT. Fase diam yang digunakan dalam KLT cukup rapuh sehingga penanganannya harus tepat. Pemotongan plat dapat mempengaruhi hasil KLT karena pemotongan plat

dapat menyebabkan sebagian kecil komponen plat terlepas sehingga terjadi ketidakseragaman pergerakan eluen ketika proses eluasi. Fase gerak yang digunakan pada KLT disesuaikan dengan kelompok senyawa yang ingin diamati. Bahan fase gerak yang digunakan akan berasal dari sumber yang berbeda-beda sehingga kualitas bahan akan berbeda dimana hal ini dapat mempengaruhi nilai R_f hasil uji KLT. Komposisi campuran eluen juga akan mempengaruhi proses eluasi. Campuran eluen yang tidak homogen akan mengganggu hasil KLT. *Chamber* digunakan sebagai wadah dalam proses eluasi. Proses eluasi dipengaruhi oleh bentuk dan kejenuhan *chamber*. Bentuk dan kejenuhan *chamber* dapat mempengaruhi beberapa proses yang terjadi di dalam *chamber* ketika proses eluasi yaitu kejenuhan uap pelarut dan adsorpsi uap pelarut oleh fase diam. Jenis dan kejenuhan *chamber* yang berbeda dapat menunjukkan hasil KLT yang berbeda pula. Proses eluasi juga dipengaruhi oleh temperatur lingkungan (Wulandari, 2011). Temperatur dapat mempengaruhi penguapan dari eluen sehingga proses eluasi akan terganggu.

6.1.2. Pembuatan Kitosan Berat Molekul Rendah

Pembuatan kitosan BMR dengan metode asetilasi menghasilkan kitosan BMR sebanyak $3,1550 \pm 0,0980$ gram dari berat awal kitosan yang digunakan sebanyak 8 gram atau dapat dikatakan pula bahwa hasil kitosan BMR yang diperoleh adalah sebanyak 39,4375%. Penurunan berat kitosan yang dihasilkan dari proses deasetilasi disebabkan karena terjadi pelepasan gugus asetil yang berlebihan sehingga sebagian molekul kitosan terlarut dalam HCl. Derajat deasetilasi yang terlalu besar akan menurunkan berat akhir kitosan. Hal ini didukung dengan data hasil penelitian sebelumnya bahwa reaksi deasetilasi kitin dengan hasil derajat deasetilasi 67,01-75,17 % menunjukkan peningkatan berat akhir kitosan dan pada derajat deasetilasi 76,68% menunjukkan penurunan berat

akhir kitosan jika dibandingkan dengan derajat deasetilasi 75,17% (Apriliani dkk., 2012). Lepasnya gugus asetil dari rantai molekul menyebabkan molekul menjadi terlarut sehingga hanya sebagian molekul yang dapat terpisahkan melalui penyaringan.

6.1.2.1. Pengukuran Berat Molekul

Hasil pengukuran berat molekul kitosan BMR memiliki rata-rata sebesar $34,837 \pm 3,849$ kDa dimana kitosan dengan nilai berat molekul tersebut masih bisa membantu sistem penghantaran ke ginjal. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi berat molekul kitosan hasil proses deasetilasi seperti suhu saat reaksi berlangsung, konsentrasi asam ataupun basa yang digunakan, kecepatan pengadukan saat reaksi berlangsung, dan durasi reaksi (Savitri dkk., 2010 dan Paramita dkk., 2012). Semakin lama waktu reaksi maka akan semakin tinggi derajat deasetilasi yang dihasilkan sehingga berat molekul yang dihasilkan juga semakin rendah. Hal ini sebanding pula dengan suhu yang digunakan saat reaksi, dimana semakin tinggi suhu maka berat molekul kitosan yang dihasilkan akan semakin rendah (Paramita dkk., 2012). Akan tetapi, suhu reaksi diatas 100°C akan menghasilkan derajat deasetilasi yang lebih rendah akibat degradasi rantai kitosan pada suhu yang terlalu tinggi (Prasetyaningrum dkk., 2007). Semakin tingginya suhu saat proses deasetilasi menyebabkan gugus asetil akan semakin mudah untuk terlepas. Peningkatan konsentrasi asam ataupun basa kuat yang digunakan dalam reaksi deasetilasi akan menghasilkan berat molekul yang semakin rendah dimana hal ini disebabkan karena pada proses deasetilasi terjadi reaksi hidrolisis. Kitosan memiliki ikatan hidrogen yang cukup kuat sehingga tingginya konsentrasi asam atau basa yang digunakan dapat membantu reaksi hidrolisis yang terjadi (Savitri dkk., 2010).

Hal lain yang dapat menjadi faktor yang mempengaruhi berat molekul hasil deasetilasi diantaranya adalah karakteristik kitosan sebelum dilakukan deasetilasi seperti derajat deasetilasi maupun berat molekul awalnya. Perbedaan karakteristik awal kitosan sebelum dideasetilasi akan menyebabkan perbedaan hasil kitosan BMR yang didapatkan.

6.1.3. Pembuatan Mikrosfer

Bobot akhir rata-rata mikrosfer adalah sebesar $4,1860 \pm 0,1432$ gram dimana bobot tersebut lebih rendah dari bobot minyak kelapa sawit yang digunakan dalam formulasi, yaitu sebesar 9,13 gram. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dalam proses formulasi terdapat beberapa bagian minyak kelapa sawit yang tertinggal dan ikut tersaring dalam proses pengeringan. Tidak semua bagian minyak kelapa sawit yang terperangkap dalam mikrosfer sehingga masih terdapat beberapa bagian minyak kelapa sawit yang tertinggal dan ikut tersaring dalam proses pengeringan.

6.1.3.1. Evaluasi Bentuk Mikrosfer Minyak Kelapa Sawit

Setelah dilakukan formulasi minyak kelapa sawit ke dalam bentuk mikrosfer kitosan menggunakan metode *crosslinking* maka diperoleh mikrosfer dengan diameter rata-rata sebesar $562,3 \pm 109 \mu\text{m}$ dan $196,0 \pm 35 \mu\text{m}$ dimana diameter mikrosfer tersebut sudah termasuk ke dalam ukuran optimal mikrosfer sebagai penghantar ke ginjal. Beberapa hal yang dapat mempengaruhi ukuran dari mikrosfer diantaranya adalah kecepatan pengadukan dan konsentrasi polimer. Semakin meningkat kecepatan pengadukannya maka akan semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan. Begitu pula sebaliknya, dimana semakin rendah konsentrasi polimer yang digunakan maka akan semakin kecil ukuran partikel yang dihasilkan (Hidayati, 2015). Diameter mikrosfer memiliki distribusi yang normal dan variasi yang homogen. Namun, setelah dilakukan uji

menggunakan metode *independent t-test* terlihat bahwa terdapat perbedaan diameter yang signifikan antara batch 2 dengan batch 3. Mikrosfer batch 1 tidak dapat dilakukan uji statistik karena hanya tersedia dua data diameter. Perbedaan ukuran mikrosfer ini kemungkinan disebabkan pula oleh kecepatan penetesannya minyak kelapa sawit dalam proses pembuatan mikrosfer yang sulit untuk dikontrol.

Bentuk mikrosfer yang dihasilkan cukup bervariasi dimana hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh variasi pada beberapa proses dalam pembuatan mikrosfer seperti proses penetesannya minyak kelapa sawit menggunakan jarum 18G dimana ketika proses ini dilakukan akan sulit untuk mempertahankan kecepatan penetesannya karena penetesannya dalam pembuatan mikrosfer ini dilakukan secara manual. Meski begitu, sebagian besar mikrosfer memiliki bentuk yang hampir mendekati *spheric* sehingga tetap dapat membantu sistem penghantaran ke ginjal.

6.1.3.2. Evaluasi Toksisitas Aseton

Setelah dilakukan pemberian mikrosfer selama 2 minggu, tidak ditemukan gejala toksisitas aseton yaitu mengantuk dan iritasi yang umumnya muncul ketika penggunaan dosis tinggi (Putra, 2003). Hal ini dikarenakan dosis aseton yang mungkin dikonsumsi oleh mencit per hari selama 2 minggu lebih rendah dari dosis yang aman untuk toksisitas sistemik pada mencit jantan dalam pemberian selama 13 minggu. Dimana dosis tersebut dinyatakan sebagai dosis yang tidak menimbulkan efek merugikan (*American Chemistry Council Acetone Panel*, 2003). Hal ini didukung pula dengan karakteristik aseton yang mudah menguap membuat aseton yang tertinggal dalam mikrosfer mengalami penguapan selama masa penyimpanan sehingga kadar aseton dalam mikrosfer semakin berkurang.

6.1.3.3. Evaluasi Toksisitas Formaldehid

Setelah perlakuan pemberian mikrosfer selama 2 minggu, dilakukan pengamatan terkait gejala klinis mencit namun tidak ditemukan gejala toksisitas formaldehid yaitu nyeri perut, mual muntah, pendarahan saluran pencernaan, dan diare (Yulisa, 2014). Hal ini disebabkan karena kadar formaldehid yang kemungkinan dikonsumsi oleh mencit per hari selama 2 minggu lebih rendah dari dosis paparan formaldehid baik secara akut maupun kronis yang dapat menimbulkan efek merugikan. Paparan akut yang dimaksud adalah selama 4 minggu dengan paparan kronis adalah selama 2 tahun (WHO, 2005). Hal ini juga didukung oleh karakteristik formaldehid yang memiliki titik didih rendah yang membuat formaldehid lebih mudah untuk menguap selama penyimpanan sehingga kadar formaldehid dalam mikrosfer akan semakin berkurang.

6.1.4. Evaluasi Keberhasilan Induksi

Setelah dilakukan induksi dengan gentamicin 0,14 mg/gBB selama 5 hari, hasil histologi menunjukkan bahwa sel yang mengalami nekrosis masih cukup sedikit namun terdapat beberapa sel yang kehilangan lumen dimana hilangnya lumen merupakan salah satu proses yang terjadi sebelum sel mengalami nekrosis. Kondisi NTA yang terjadi setelah induksi 5 hari masih sangat minimal dimana hal ini kemungkinan disebabkan karena kurangnya durasi induksi sehingga dilakukan induksi ulang yaitu menggunakan gentamicin 0,14 mg/gBB selama 7 hari. Dosis gentamicin yang umumnya digunakan untuk induksi GGA adalah 0,14 mg/gBB selama 5 hari (Singh *et al.*, 2012). Namun, perbedaan sumber produsen gentamicin yang digunakan, kondisi penyimpanan, dan faktor individual hewan coba dapat menjadi penyebab kegagalan induksi dimana wilayah dilakukannya penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian

sebelumnya sehingga faktor lingkungan mengambil peran dalam kegagalan induksi.

Hasil dari induksi selama 7 hari menunjukkan mencit telah mengalami NTA akibat pemberian gentamicin dimana gentamicin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang memiliki efek nefrotoksik. Pemberian gentamicin menginduksi terjadinya peroksidasi lipid serta memicu produksi radikal bebas sehingga terjadi stres oksidatif yang menyebabkan sel pada ginjal (terutama tubulus proksimal) menjadi nekrosis (Khan *et al.*, 2011). Nekrosis yang terjadi pada sel di ginjal juga melalui peran dari ekspresi reseptor NMDA (Leung *et al.*, 2004).

6.1.5. Uji Efektivitas Mikrosfer Kitosan Minyak Kelapa Sawit

Minyak kelapa sawit baik dalam bentuk mikrosfer kitosan maupun tidak, didispersikan dalam larutan CMC Na sebelum diberikan ke hewan coba untuk mempermudah proses pemberian secara oral. Volume yang diberikan ke hewan coba disesuaikan dengan dosis pemberian sehingga P1, P2, P3, dan P4 diberikan berturut-turut sebanyak 0,4; 0,6; 0,2; dan 0,3 mL dimana pemberian terapi dilakukan setiap hari selama 14 hari.

6.1.5.1. Pengukuran CSF-1

Setelah dilakukan pemberian terapi selama 14 hari, dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ ginjal dan dilakukan pengukuran kadar CSF-1 di ginjal. Data hasil yang diperoleh memiliki distribusi data yang normal dan termasuk data yang homogen. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar CSF-1 KN dengan KP secara signifikan. Rendahnya kadar CSF-1 KP kemungkinan disebabkan karena KP mengalami NTA dimana pada kondisi ini akan terjadi penurunan fungsi ginjal sehingga terjadi proteinuria yang menyebabkan kadar protein mencit menjadi rendah.

Pada kondisi rendahnya kadar protein yang tersedia dalam tubuh, maka CSF-1 tidak diproduksi oleh makrofag sehingga setelah terjadi inflamasi akan terjadi kematian sel (Hume dan Kelli, 2011).

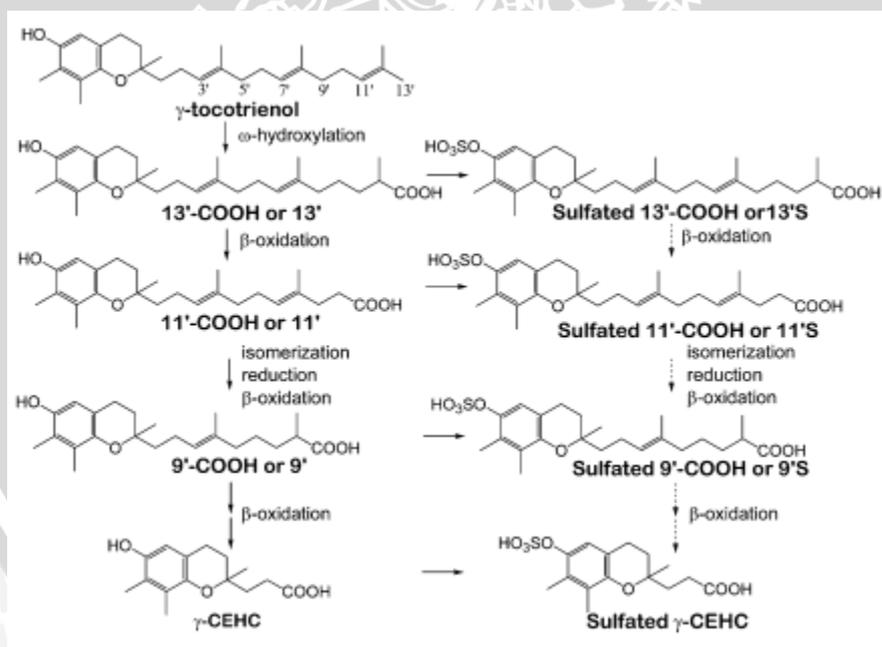
Ketika NTA, terjadi kerusakan sel seperti nekrosis dimana ketika proses kerusakan sel masih berlangsung, tubuh belum melakukan respon perbaikan sel melalui ekspresi CSF-1 sehingga kadar CSF-1 KP lebih rendah, sedangkan pada kondisi normal CSF-1 tetap diproduksi untuk melakukan proliferasi sel maupun regenerasi sel secara fisiologis.

Perbedaan kadar CSF-1 antara KP dengan P3 menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kadar CSF-1 P3 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan KN sehingga dapat dikatakan bahwa kadar CSF-1 P3 mendekati KN. P3 merupakan kelompok NTA yang diberikan minyak kelapa sawit dengan dosis 0,14 mg/gBB dimana penelitian sebelumnya menunjukkan efek yang optimal untuk pencegahan gangguan ginjal yang diinduksi oleh kondisi diabetes pada dosis tersebut dengan peningkatan dosis menjadi dua kalinya tidak menunjukkan efek yang lebih baik sehingga dapat dikatakan bahwa dosis optimum dari minyak kelapa sawit adalah sebesar 0,14 mg/gBB (Tan *et al.*, 2011). Peningkatan dosis menjadi 0,21 mg/gBB (P4) juga tidak menunjukkan perbedaan kadar CSF-1 yang signifikan jika dibandingkan dengan KP. Namun, untuk menyimpulkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan lebih banyak variasi dosis minyak kelapa sawit.

Minyak kelapa sawit mengandung senyawa tokols dimana Alfa dan gama tokotrienol menunjukkan efek perlindungan terhadap kerusakan dan kematian sel yang diinduksi oleh reseptor NMDA (Musa *et al.*, 2012). Kematian sel yang disebabkan karena eksitotoksik dari ekspresi reseptor NMDA dapat diturunkan secara signifikan oleh CSF-1 (Luo, 2013). Maka keberadaan senyawa tokols

dalam minyak kelapa sawit diharapkan dapat memicu perbaikan sel melalui peningkatan kadar CSF-1.

Target kerja minyak kelapa sawit dalam penelitian ini adalah di ginjal, dimana telah diketahui bahwa senyawa yang dapat masuk ke ginjal hanyalah senyawa yang bersifat polar atau berentuk ion dengan berat molekul < 5-10 kDa atau berbentuk protein dengan berat molekul < 60 kDa (Dipiro *et al.*, 2008). Karena senyawa tokols bersifat nonpolar, maka tokols akan mengalami metabolisme di liver membentuk senyawa turunan karboksietil-hidroksikroman atau yang biasa disebut CEHC dimana senyawa ini bersifat polar sehingga dapat masuk ke ginjal (Leonard *et al.*, 2005 dan Fairus *et al.*, 2012). Salah satu proses reaksi metabolisme senyawa tokols menjadi CEHC adalah sebagai berikut,



Gambar 6.1 Reaksi Metabolisme Tokotrienol (Freiser dan Qing, 2009)

Dari struktur CEHC dapat terlihat bahwa masih terdapat gugus OH yang memiliki efek antioksidan sehingga efek antioksidan masih tetap berlangsung setelah tokols mengalami metabolisme. Melalui pemberian antioksidan maka

kerusakan sel akibat stres oksidatif dan proses kerusakan sel lebih lanjut dapat dihambat. Akibatnya, proses perbaikan sel lebih cepat terjadi melalui peningkatan kadar CSF-1. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait mekanisme perbaikan sel yang diinduksi oleh senyawa tokols.

Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar CSF-1 KP dengan P1 dimana P1 dan P2 merupakan kelompok perlakuan yang diberikan minyak kelapa sawit dalam mikrosfer kitosan dengan dosis yang berbeda. Kadar CSF-1 P1 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan KN sehingga dapat disimpulkan bahwa mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit dengan dosis 0,14 mg/gBB mampu meningkatkan kadar CSF-1 ginjal hingga mendekati kondisi normal. Kadar CSF-1 yang dihasilkan dari P2, yaitu kelompok perlakuan NTA yang diberikan mikrosfer minyak kelapa sawit dengan dosis 0,21 mg/gBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan KP maupun dengan KN dan P1. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dosis minyak kelapa sawit dalam bentuk mikrosfer menjadi tidak optimal apabila ditingkatkan dari 0,14 mg/gBB menjadi 0,21 mg/gBB, sama halnya dengan peningkatan dosis minyak kelapa sawit dari 0,14 mg/gBB menjadi 0,21 mg/gBB. Mikrosfer pada bobot yang sama dengan minyak kelapa sawit, yaitu 0,14 mg misalnya, akan memiliki kadar minyak kelapa sawit yang lebih rendah dari 0,14 mg karena di dalam mikrosfer juga terdapat bahan excipien yang ikut serta memenuhi bobot mikrosfer namun sifat mikrosfer kitosan yang mampu menghantarkan minyak kelapa sawit ke ginjal memungkinkan terjadinya akumulasi minyak kelapa sawit yang lebih banyak di ginjal sehingga pemberian mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit memiliki dosis optimum yang berbeda dengan dosis optimum minyak kelapa sawit. Namun, untuk menyimpulkan dosis optimum mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variasi dosis mikrosfer yang lebih beragam.

Setelah dilakukan analisis antara KP, P1, P2, P3, dan P4 diperoleh hasil dimana tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara P1 dengan P3 walaupun kadar minyak kelapa sawit yang diberikan pada mencit memiliki perbedaan antara P1 dan P3. Kadar minyak kelapa sawit P1 kemungkinan lebih rendah dari P3 sehingga dapat terlihat bahwa penggunaan mikrosfer kitosan pada P1 berhasil menghasilkan kadar CSF-1 yang tidak berbeda signifikan dengan P3 meskipun dengan kadar minyak kelapa sawit yang lebih rendah. Namun tidak dapat ditarik kesimpulan mengenai efektivitas mikrosfer kitosan untuk meningkatkan efek terapi minyak kelapa sawit karena dalam penelitian ini dosis minyak kelapa sawit yang diberikan antara P1 dan P3 tidak sama serta tidak diketahui secara akurat kadar minyak kelapa sawit yang terperangkap dalam mikrosfer kitosan sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur persen penyerapan mikrosfer kitosan terhadap minyak kelapa sawit.

Minyak kelapa sawit dalam bentuk mikrosfer dengan kitosan BMR sebagai pembawa dapat menghantarkan minyak kelapa sawit ke ginjal karena kitosan BMR yang dihasilkan dari penelitian ini masih lebih rendah dari batas berat molekul protein yang diterima oleh ginjal, yaitu < 60 kDa dimana berat molekul kitosan BMR hasil penelitian ini adalah $34,837 \pm 3,849$ kDa sehingga mikrosfer mudah untuk masuk ke ginjal. Kitosan BMR juga dapat ditangkap oleh tubulus proksimal melalui megalin sehingga mikrosfer kitosan ini dapat menghantarkan minyak kelapa sawit ke tubulus proksimal yang mengalami kerusakan akibat gentamicin. Pelepasan minyak kelapa sawit dari mikrosfer kitosan terjadi setelah mikrosfer kitosan mengalami kontak dengan air sehingga terjadi penetrasi air ke dalam sistem partikel dan menyebabkan terjadinya pengembangan polimer. Hal ini menyebabkan minyak kelapa sawit berdifusi dan keluar dari sistem mikrosfer. Pengeluaran minyak kelapa sawit dari mikrosfer kitosan terjadi secara perlahan dan kemudian menjadi semakin cepat (Mitra and Baishakhi, 2011). Setelah

minyak kelapa sawit keluar dari sistem mikrosfer maka komponen senyawa tokols akan bekerja dan menimbulkan efek antioksidan untuk mencegah kerusakan sel lebih lanjut dan menginduksi perbaikan sel. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian tokols pada hewan coba setelah mengalami irradiasi akan memicu efek proteksi terhadap kerusakan sel akibat stres oksidatif dan mempercepat terjadinya perbaikan sel dengan meningkatkan kadar beberapa sitokin, diantaranya adalah G-CSF (Singh *et al.*, 2013).

Peningkatan dosis menjadi 0,21 mg/gBB dari 0,14 mg/gBB baik pada perlakuan minyak kelapa sawit maupun perlakuan mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit menunjukkan kadar CSF-1 dengan perbedaan yang tidak signifikan jika dibandingkan dengan KP. Kemungkinan dengan peningkatan dosis menjadi 0,21 mg/gBB efek perbaikan sel yang terjadi dengan peningkatan kadar CSF-1 lebih minimal karena dosis ini telah melebihi dosis optimum dari minyak kelapa sawit untuk efek tersebut. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan penggunaan fraksi tinggi tokotrienol (*Tokotrienol Rich Fraction/TRF*) pada sel neuron yang telah diinduksi sitotoksik dengan glutamat memiliki laju proliferasi yang paling tinggi pada pemberian TRF dengan dosis 200 ng/mL dimana pemberian TRF dosis 100 dan 300 ng/mL menunjukkan persentase proliferasi sel yang lebih rendah (Selvaraju *et al.*, 2014). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa tokotrienol memiliki efek untuk menghambat proliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis dari sel kanker dengan IC_{50} untuk sel HeLa dari δ -tokotrienol adalah $> 100 \mu\text{M}$ atau setara dengan $> 42,47 \mu\text{g/mL}$ dimana terdapat pula efek apoptosis yang ditimbulkan pada sel normal meskipun sangat minimal (Zhang *et al.*, 2013). Berdasarkan data tersebut dapat terlihat bahwa tokotrienol dengan dosis berlebih memiliki efek toksik sehingga mampu menurunkan proliferasi dan menginduksi apoptosis meskipun tidak dapat dilakukan perbandingan antara dosis sitotoksik pada literatur dengan dosis tokotrienol

dalam minyak kelapa sawit yang diberikan ke mencit karena penelitian pada literatur ini menggunakan studi *in vitro*. Terjadinya penurunan proliferasi kemungkinan disebabkan oleh penurunan ekspresi CSF-1 di ginjal sehingga ditemukan kadar CSF-1 P2 dan P4 yang lebih rendah. Hal ini dapat menjadi penyebab terjadinya penurunan efektivitas mikrosfer kitosan minyak kelapa sawit maupun minyak kelapa sawit untuk meningkatkan kadar CSF-1 ketika dosis pemberian ditingkatkan menjadi 0,21 mg/gBB dari 0,14 mg/gBB.

6.2. Implikasi Terhadap Bidang Kefarmasian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian minyak kelapa sawit dalam mikrosfer kitosan terhadap kadar CSF-1 di ginjal dalam mengatasi NTA untuk mencegah terjadinya GGA. Penelitian terdahulu mengenai CSF-1 pada gangguan ginjal akut belum menggunakan bahan alam sebagai agen terapi yang mempengaruhi CSF-1 untuk perbaikan kondisi gangguan ginjal akut. Penelitian terdahulu terkait minyak kelapa sawit hanya menunjukkan efek protektif dari minyak kelapa sawit terhadap gangguan ginjal tanpa mengkaji efek kuratif dan tanpa menggunakan sistem penghantaran ke organ untuk mengoptimalkan efek terapi. Hasil penelitian ini diharapkan kedepannya dapat digunakan sebagai terapi penunjang NTA untuk mencegah GGA.

6.3. Keterbatasan Penelitian

Terdapat beberapa keterbatasan dari penelitian ini, diantaranya adalah:

1. Uji separasi komponen minyak kelapa sawit yang dilakukan tidak menggunakan standar, melainkan menggunakan perbandingan data pada penelitian terdahulu sehingga tidak dapat dipastikan jenis senyawa toksik apa saja yang terkandung dalam minyak kelapa sawit.

2. Uji fitokimia yang dilakukan tidak kuantitatif, tetapi hanya bersifat kualitatif sehingga tidak dapat dipastikan jumlah senyawa tokols yang terkandung dalam minyak kelapa sawit.
3. Tidak dilakukan optimasi formula maupun prosedur pembuatan minyak kelapa sawit dalam mikrosfer kitosan agar diperoleh ukuran dan bentuk mikrosfer yang optimal dan seragam.
4. Tidak dilakukannya uji persentase minyak kelapa sawit yang terperjat dalam mikrosfer kitosan sehingga tidak dapat diketahui secara akurat kadar minyak kelapa sawit yang terperjat dalam mikrosfer kitosan.
5. Kadar minyak kelapa sawit dalam mikrosfer tidak setara dengan kadar minyak kelapa sawit yang diberikan tanpa dalam bentuk mikrosfer karena pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran persentase penjeratan minyak kelapa sawit dalam mikrosfer kitosan sehingga sulit untuk melakukan penyetaraan dosis. Akibatnya, peneliti kesulitan untuk membandingkan efektivitas minyak kelapa sawit tanpa maupun dengan bentuk mikrosfer kitosan terhadap peningkatan kadar CSF-1 di ginjal.
6. Kurangnya variasi dosis baik untuk mikrosfer maupun minyak kelapa sawit sehingga kurang dapat dianalisis efek peningkatan dosis terhadap peningkatan kadar CSF-1 di ginjal.