

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN *Moringa oleifera* TERHADAP EKSPRESI CYTOKERATIN 7 (CK7) DAN VAKUOLISASI SEL PADA DERAJAT FIBROSIS HATI AKIBAT INDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄) Yunita Lestari Indrianto¹, Supriono², dan Astri Proborini³

1 Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

2 Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

3 Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Penyakit hari kronis menurut *Global Burden of Disease* mortalitas karena sirosis hati mencapai 1 juta kematian pada tahun 2010. Adapun kerusakan sel hati masih bisa regenerasi dan melakukan reaksi duktular yang ditandai dengan adanya *cytokeratin 7* pada sitoplasma sel hati. Reaksi duktular terjadi pada saat hati yang sudah mengalami kerusakan yang lebih parah dan hati tidak mampu untuk melakukan regenerasi hati. Pada hati yang mengalami fibrosis lebih parah, akan muncul adaptasi dari sel hati dengan adanya vakuolisasi. Untuk mencegah progresifitas yang lebih parah bisa menggunakan *Moringa oleifera* (MO). MO dapat digunakan untuk menekan inflamasi dan menginduksi apoptosis dari sel yang rusak. Pada penelitian ini digunakan metode *randomized posttest only controlled group* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Moringa oleifera* (MO) terhadap *cytokeratin 7* (CK7) dan *Moringa oleifera* (MO) pada vakuolisasi sel. Penelitian menggunakan 5 kelompok tikus *Rattus norvegicus* dengan metode etode pembacaan menggunakan master Olyvia versi 2.4 DT for scan. Hasil uji *Kruskal Wallis* diketahui bahwa pemberian MO mencegah progresifitas kerusakan hati menjadi lebih parah. Pemberian MO menunjukkan nilai yang signifikan pada dosis 600 mg/kgBB ($p=0,000$) dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian MO. Vakuolisasi sel akan searah dengan luas fibrosis, pada pemberian MO, vakuolisasi bertambah rendah dengan dosis MO yang tinggi yaitu pada dosis 600 mg/KgBB ($p=0,00$).

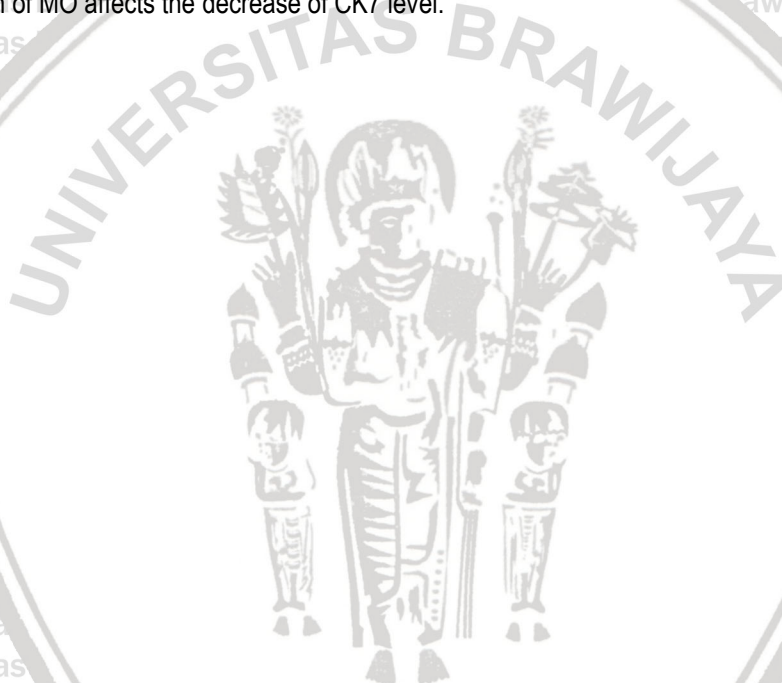
Pada uji korelasi *Spearman* menunjukkan kekuatan korelasi sangat kuat, searah, dan signifikan antara dosis MO-CK7 ($p=0,00$; koefisien=0.798) dan kekuatan korelasi cukup, tidak searah, dan tidak signifikan antara dosis MO-Vakuolisasi sel ($p=0,033$; koefisien=0.864). Dapat disimpulkan bahwa pemberian MO berpengaruh terhadap penurunan kadar CK7.

Kata Kunci : *Moringa oleifera*, CK7, ductular reaction.

ABSTRACT

Based on Global Burden of disease, hepatic cirrhosis's mortality reaches 1 million death in 2010. Hepatocyte can regenerate in acute damage. In chronic damaged liver, it will undergoes ductular reaction and vacuolation will appear. Liver damage can be caused by viral and toxin such as carbon tetrachloride (CCl₄). Research has shown that *Moringa oleifera* is effective to suppress inflammation reaction and to induce apoptose of the damaged hepatocyte. This study used randomized posttest only controlled group to understand the effect between *Moringa oleifera* (MO) extract on cytokearin 7 (CK7) and *Moringa oleifera* (MO) on cell vacuolation. In this study, 5 groups of *Rattus norvegicus* are used. In interpreting the result, use master Olyvia versi 2.4 DT for scan. Based on Kurskal Wallis test results, noted that MO administration prevents the progression of liver damage. The administration of MO showed a significant value at dose 600 mg/kgBW ($p=0.000$) compared to the group without MO administration. Cell vacuolization will align with the extent of fibrotic area. It will decrease eventually with MO administration at 600mg/kgBW dose ($p=0.000$).

Spearman correlation showed a very strong, unidirectional and significant strenght between the MO dose – CK7 ($p=0.000$; coefficient=0.798) and on MO – cell vacuolation showed sufficient, not direct, and not significant correlation ($p=0.033$; coefficient= 0.864). It can be concluded that the administration of MO affects the decrease of CK7 level.



Keywords : *Moringa oleifera*, CK7, ductular reaction.

Pendahuluan

Penyakit hati kronik dapat terjadi pada semua usia, dan jenis kelamin dan berujung pada kerusakan hati permanen yaitu sirosis hati. Berdasarkan *Global Burden of Disease*, didapatkan mortalitas sirosis hati adalah lebih dari 1 juta kematian di 2010 disebabkan oleh sirosis hati dan diperkirakan masih lebih banyak karena *liver cancer* dan *acute hepatitis* (Peter, 2014). Sedangkan, menurut lembaga statistik Inggris, penyakit hati menempati posisi ke 5 sebagai penyakit yang sering menyebabkan mortalitas di Inggris, dan nomor kedua di antara penyakit digestif di Amerika (Lim dan Yim, 2008). Sirosis hati sendiri tidak memiliki tanda dan gejala yang khas, seringnya bersifat asimtomatis. Pada kerusakan hepatosit pasti melalui tahap fibrosis hati dahulu di mana hati masih memiliki kemampuan untuk regenerasi. Fibrosis hati adalah mekanisme penyembuhan tubuh dinamis sebagai respon terhadap kerusakan *hepatocellular* yang merupakan masalah utama dalam kesehatan dengan derajat morbiditas dan mortalitas yang penting, ditandai dengan adanya peningkatan berlebih *Extracellular Matrix protein* (ECM) (Hamza, 2010). Penyebab utama dari fibrosis hati ini adalah *HCV infection*, konsumsi alkohol, dan *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH) (Bateller dan Brenner, 2015).

Menurut Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam edisi kelima oleh Prof. DR. Dr. A Harryanto Reksodiputro, Sp. PD (2003) Hati tersusun atas kurang lebih 60% sel hepatosit dan sisanya terdiri atas sel-sel epitelial dari sistem empedu dalam jumlah yang bermakna dan sel-sel non parenkimal yang termasuk di dalamnya sel endothelium, sel Kupffer (sel yang berperan dalam sistem imunologi hati), dan sel *Stellata* (disebut Sel ito, liposit atau perisit). Berbeda dengan organ lainnya, hati mampu beregenerasi setelah terjadi kerusakan ataupun setelah dilakukan hepatektomi hingga 2/3 bagian dari seluruh hati. Hepatosit dapat beregenerasi walaupun terbatas, pada saat hepatosit tidak mampu lagi beregenerasi maka sel pluripontensial oval yang berasal dari duktulus empedu akan berproliferasi sehingga terbentuk kembali sel hepatosit dan sel bilier (kolangiosit) yang juga memiliki kemampuan untuk beregenerasi (Reksodiputro et al, 2009).

Centrilobular hepatocytes menghasilkan sitokrom P450s yang dapat memetabolis alkohol

dan bermacam-larutan yang bersifat hepatotoksin contohnya asetaminofen, karbon tetraklorida (CCl₄) dan tioasetamid sehingga menghasilkan *reactive free radicals* yang dapat merusak sel hepatosit. CCl₄ dapat menginduksi nekrosis dari sel hepatosit dan menyebabkan disorganisasi dari sinusoid di sekeliling *central vein*. Dalam respon ini, sel yang hepatosit yang rusak karena radikal bebas akan menghasilkan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) untuk menginduksi inflamasi yang akan mengaktifkan regenerasi sel non-parenkim. Pada sel Kupffer yang teraktivasi akan menghasilkan interleukin-6 (IL-6) yang secara langsung menginduksi beberapa *hepatic expression* dari gen-gen yang berhubungan dengan fase protein akut. Pada kerusakan hati akut seperti yang sudah dikutip pada paragraph sebelumnya bahwa sel hepatosit mampu berproliferasi untuk mengembalikan sel yang rusak meskipun terbatas, sehingga stem cell tidak dibutuhkan. Namun pada kerusakan hati yang kronis, ditemukan bahwa *liver progenitor cell* (LPCs) atau disebut sel pluripotensial oval berkontribusi pada regenerasi liver. Kerusakan hati yang kronis selalu disertai dengan *ductular reaction* yang mengaktifasi LPC dewasa yang ada di *biliary tree* atau *the canals of Hering*, struktur yang menghubungkan hepatosit dan *bile ducts*. LPC dapat berproliferasi menjadi sel hepatosit dan sel bilier (kolangeosit) (Tanaka dan Miyajima, 2016).

Maka dari itu, dalam penelitian ini menggunakan marker *cytokeratin 7* (CK7) yang merupakan bagian dari protein filamen intermediet dan menghasilkan jaringan fibrous. CK7 merupakan marker yang aktif saat reaksi duktular yang terjadi akibat sel hati tidak mampu regenerasi lagi. CK7 juga biasanya digunakan untuk marker *adenocarcinoma* bersama CK-20. Pada penelitian oleh Chaoling Ren pada babon yang diberi alkohol dapat ditemukan bahwa juga ada peningkatan pada kadar CK7. Sehingga CK7 dapat mengindikasikan adanya proses menuju fibrosis yang lebih parah pada sel hepatosit (Ren, 2003). Selain itu kita bisa melihat progresifitas fibrosis menjadi lebih parah melalui vakuolisasi yang ada pada sitoplasma sel hati. Vakuolisasi sel berjalan sebanding dengan luas fibrosis, dan bertolak belakang dengan konsep CK7. Maka dari itu untuk mengetahui mencegah adanya progresifitas menjadi lebih parah, peneliti akan meneliti baik CK7 dan adanya vakuolisasi sel pada sel hati.

Bahan dan Metode

Penelitian berbentuk eksperimental laborator dengan design *true experimental laboratory*. Penelitian ini termasuk ke dalam eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus. Metode yang digunakan adalah *randomized posttest only controlled group design*.

Pemeliharaan dan perlakuan yang diberikan pada tikus *Rattus norvegicus* dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi FKUB. Perlakuan meliputi induksi menggunakan CCl_4 untuk memicu keadaan fibrosis hati dan pemberian ekstrak daun *Moringa oleifera*. Daun *Moringa oleifera* diperoleh dari UPT Materia Medica Batu dan melalui proses ekstraksi maserasi menggunakan pelarut ethanol 96%.

Sebelum diberi perlakuan, hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari kemudian dibagi menjadi 5 kelompok secara acak dengan 5 kali pengulangan. Pemeliharaan berupa pemberian pakan standart konsentrat BR-1 dan minum serta perawatan kandang. Perlakuan dibedakan berdasar kelompok sebagai berikut :

1. Kelompok negatif (KNeg): kelompok tikus diberi injeksi NaCl 0.9% 1 cc/kgBB IP 2x/minggu selama 14 minggu, dan diberi sonde aquades 2,5 cc/kgBB sebagai plasebo setiap hari selama 14 minggu. Tikus dikorbankan 48 jam paska injeksi NaCl terakhir.
2. Kelompok positif (KPos): kelompok tikus diberi injeksi CCl_4 10% IP 1 cc/kgBB 2x/minggu selama 12 minggu dan injeksi CCl_4 10% IP 2 cc/kgBB 2x/minggu selama minggu ke 13 hingga 14, dan diberi sonde aquades 2,5 cc/kgBB sebagai plasebo setiap hari selama 14 minggu. Tikus dikorbankan 48 jam paska injeksi CCl_4 terakhir.
3. Kelompok perlakuan 1 (KP1): kelompok tikus diberi injeksi CCl_4 10% IP 1 cc/kgBB 2x/minggu selama 12 minggu dan injeksi CCl_4 10% IP 2 cc/kgBB 2x/minggu selama minggu ke 13 hingga 14, dan diberi sonde ekstrak daun *Moringa oleifera* dosis 150 mg/kgBB/hari setara dengan 5.00 cc/kgBB/hari selama 14 minggu. Tikus dikorbankan 48 jam paska injeksi CCl_4 terakhir.
4. Kelompok perlakuan 2 (KP2): kelompok tikus diberi injeksi CCl_4 10% IP 1 cc/kgBB 2x/minggu selama 12 minggu dan injeksi CCl_4 10% IP 2 cc/kgBB 2x/minggu selama minggu ke 13 hingga 14, dan diberi sonde ekstrak daun *Moringa oleifera* dosis 300

mg/kgBB/hari setara dengan 7.50 cc/kgBB/hari selama 14 minggu. Tikus dikorbankan 48 jam paska injeksi CCl_4 terakhir.

5. Kelompok perlakuan 3 (KP3): kelompok tikus diberi injeksi CCl_4 10% IP 1 cc/kgBB 2x/minggu selama 12 minggu dan injeksi CCl_4 10% IP 2 cc/kgBB 2x/minggu selama minggu ke 13 hingga 14, dan diberi sonde ekstrak daun *Moringa oleifera* dosis 600 mg/kgBB/hari setara dengan 10 cc/kgBB/hari selama 14 minggu. Tikus dikorbankan 48 jam paska injeksi CCl_4 terakhir.

Selanjutnya, dilakukan pembedahan, sebelum dilakukan pembedahan, tikus harus dieuthanasia terlebih dahulu. Euthanasia ini dilakukan dengan injeksi ketamine 100. Pembedahan dilakukan dia tas papa bedah dan dialasi engan stereofom. Kaki dan tangan tikus difiksasi dengan jarum pentul pada atas stereofom. Torak dan abdomen tikus dibuka dengan memotong dinding abdomen (kulit dan peritoneum) pada aksis median. Pembedahan ini diperluas sampai ke lateral agar organ bagian dalam rongga abdomen terlihat. Selanjutnya yaitu pengambilan organ hati untuk diperiksa derajat fibrosis hati dengan histopatologi jaringan hati.

Setelah pembedahan dan mendapatkan preparat organ maka dilakukan pemeriksaan ekspresi CK7. Organ hati yang didapatkan kemudian diltakkan pada wadah dan dikirim untuk dilakukan pembedahan dan pengecatan di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB. Untuk pembacaan dan pengambilan data dilakukan secara manual didahului dengan scan semua preparat slide yang ada menggunakan mikroskop digital dan aplikasi master Olyvia versi 2.4 DT for scan dan pembacaan hasil preparat yang sudah dicat menggunakan master Olyvia versi 2.4, perbesaran 40x pada 20 lapang pandang)

Analisis data CK7 dan vakuolisasi sel menggunakan aplikasi SPSS versi 23 MacOS. Uji yang dilakukan meliputi:

1. Uji asumsi data
 - a. Uji normalitas data
Dengan *Shapiro Wilk Test*; terdistribusi normal jika $p > 0.05$.
 - b. Uji homogenitas data
Dengan *Levene Test*; homogen jika $p > 0.05$

2. Uji *Kruskal Wallis*: digunakan untuk melihat signifikansi perbedaan rata-rata CK7 dan vakuolisasi sel dari seluruh kelompok perlakuan pada data yang tidak terdistribusi normal (non-parametrik); signifikan jika $p < 0.05$. Kemudian dilakukan uji komparasi signifikansi dalam 1 kelompok perlakuan.

3. Uji korelasi *Spearman*: digunakan untuk melihat kekuatan korelasi,

arah korelasi dan signifikansi korelasi dari dua variable, yaitu dosis MO dengan ekspresi CK7 dan dosis MO dengan jumlah Vakuolisasi sel

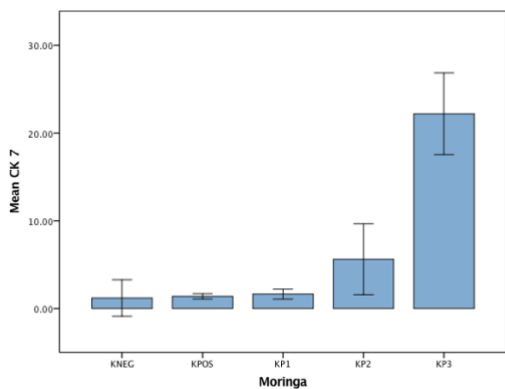
4. **Hasil**
Pada penelitian ini digunakan 5 kelompok tikus dengan masing-masing kelompok 6 tikus.

Tabel 1 Hasil *Cytokeratin 7* (CK 7) Kelompok Perlakuan

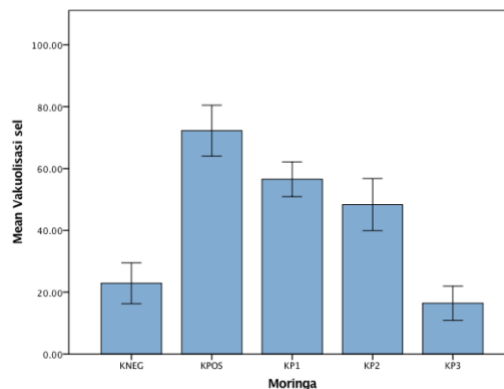
Kelompok Perlakuan	Ekspresi <i>Cytokeratin 7</i> (CK7)						Rerata	± SD
	1	2	3	4	5	6		
KNEG	5.35	0.25	0	0.46	1	0.2	1.21	0.85
KPOS	1.5	1.2	1.39	1.03	1.05	1.9	1.37	0.12
KP1	1.64	2.35	1.25	1.85	0.75	2	1.64	0.23
KP2	4.2	11.75	5.241	8.85	0.65	3	5.62	1.65
KP3	21.25	22.19	29.5	22.25	14.9	23.05	22.19	1.89

Tabel 2 Hasil Vakuolisasi Sel Kelompok Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Ekspresi vakuolasi sel						Rerata	± SD
	1	2	3	4	5	6		
KNEG	32.65	31.05	16.56	27.25	14.05	15.9	22.91	2.70
KPOS	77	84.18	72.23	67.95	70.19	60.5	72.03	3.36
KP1	56.31	54.31	61.25	63.9	56.8	46.5	56.51	2.29
KP2	53.5	57.65	46.4	49.65	49.9	33.05	48.36	3.43
KP3	24.25	16.24	10.21	18.35	18.25	11.25	16.44	2.26



Gambar 1 Grafik rata-rata *cytokeratin 7* (CK7)



Gambar 2 Grafik rata-rata vakuolisasi sel

Uji normalitas data yang telah dilakukan menunjukkan data CK7 dan luas fibrosis tidak terdistribusi normal ($p < 0.05$), dan vakuolisasi sel terdistribusi normal ($p > 0.05$). Sedangkan uji homogenitas data menunjukkan luas fibrosis tidak homogen

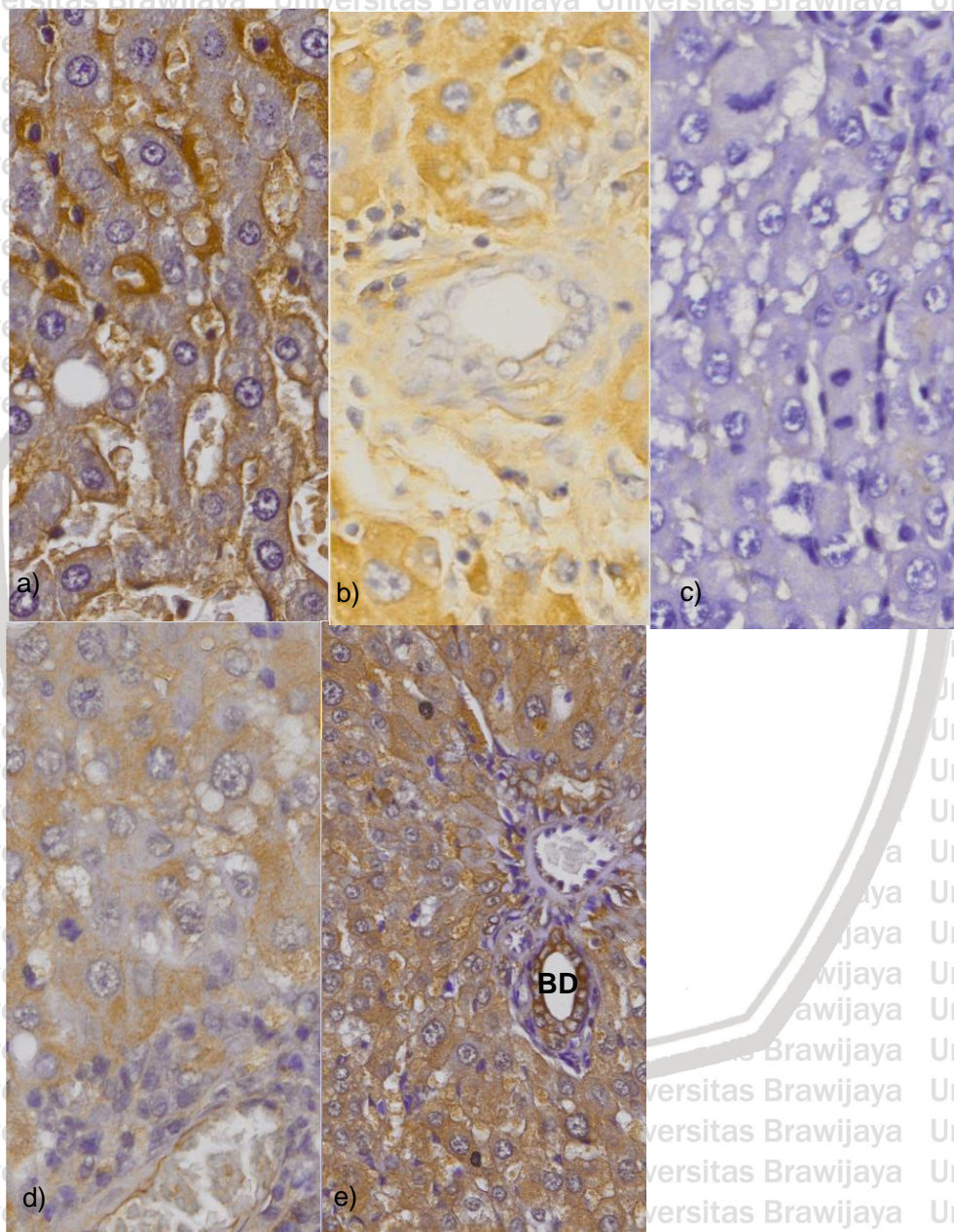
($p = 0.004$) dan CK7 serta vakuolisasi sel bersifat homogen ($p > 0.05$)

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa CK7, vakuolisasi sel, dan luas fibrosis signifikan ($p < 0.05$). CK7 memiliki nilai signifikan pada KNEG-KP3 dan KPOS-KP3.

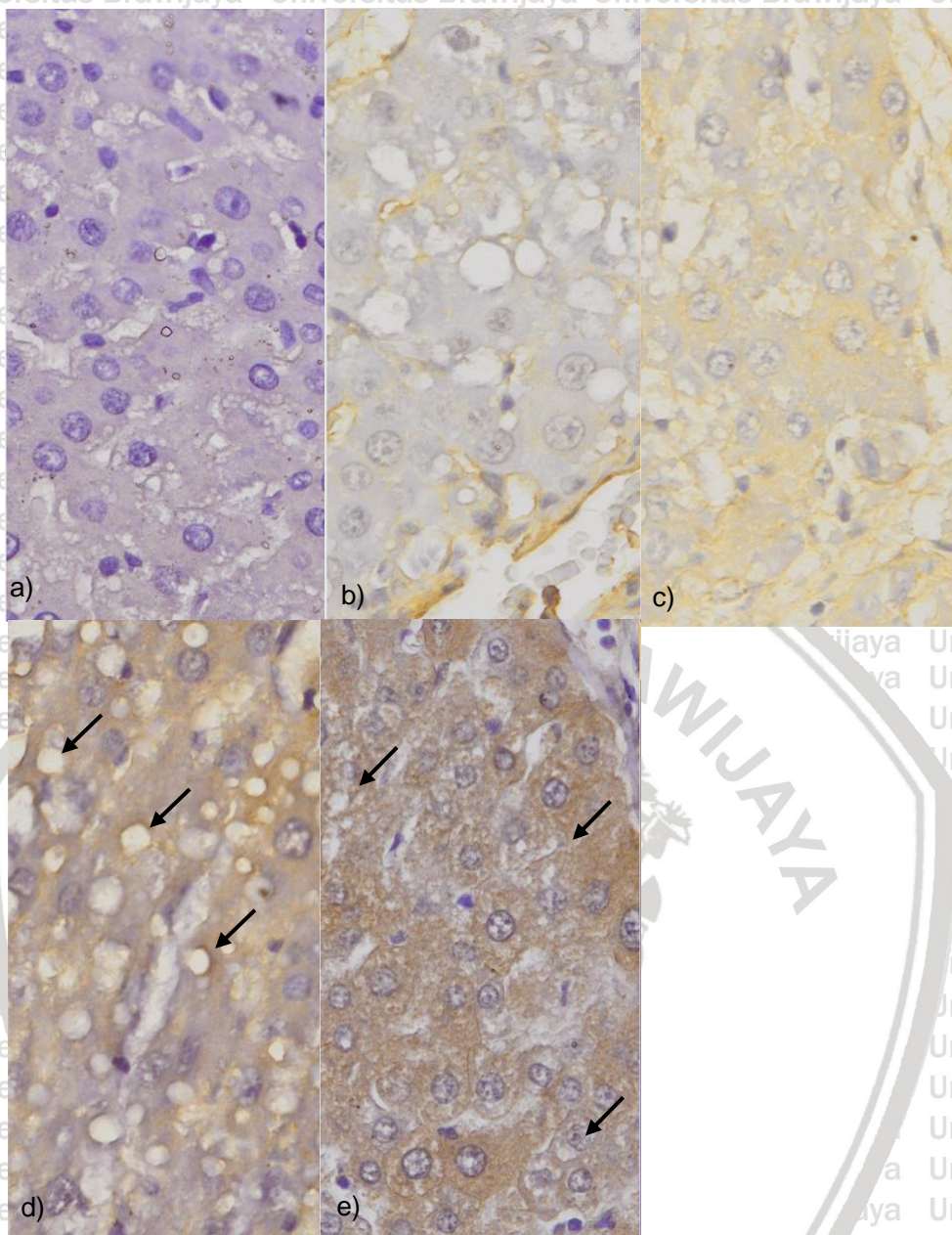


Pada vakuolisasi sel nilai signifikan pada KP3-KP1, KP3-KPOS, dan KNEG-KPOS. Sedangkan pada luas fibrosis nilai signifikan pada KNEG-KP2, KNEG-KPOS, dan KP3-KPOS.

Uji korelasi *Spearman* menunjukkan kekuatan korelasi sangat kuat, searah, dan signifikan antara dosis MO-CK7 ($p=0.00$; koefisien=0.798) dan kekuatan korelasi cukup, tidak searah, dan tidak signifikan, tidak searah, dan korelasi cukup antara dosis MO-Vakuolisasi sel ($p=0.129$; koefisien=-0.283).



Gambar 3. Gambar 4 Gambaran Histopatologi vakuolisasi sel dengan pengecatan IHC pada tikus model fibrosis (x40 master OlyVia). a) KNEG b) KPOS c) KP1 d) KP2 e) KP3



Gambar 4 Gambaran Histopatologi vakuolisasi sel dengan pengecatan IHK pada tikus model fibrosis (x40 master OlyVia). a) KNEG b) KPOS c) KP1 d) KP2 e) KP3

Pembahasan

Kerusakan hepatosit dapat disebabkan oleh obat-obatan atau oelh zat toksin contohnya adalah CCl₄. CCl₄ dimetabolisme oleh CYP2E1 dan bersifat zat radikal yang sangat aktif jika kerusakan ini berlanjut akan mengakibatkan kerusakan hati yang kronis (Manautou dan Aleksunes, 2010). Kerusakan hati yang berkelanjutan dapat brkembang menjadi sirosis hati yang bersifat tidak *reversible*. 90% dari kerusakan hati yang bersifat kronis dapat

menyebabkan *hepatocarcinoma cancer* (Delire, 2018).

Pada penelitian ini, akan diamati pengaruh pemberian ekstrak daun Moringa oleifera yang dapat menekan reaksi inflamasi yang terjadi dan menginduksi apoptosis dari sel yang mengalami kerusakan.

Melihat pada data rerata hasil pesebaran dari CK7 tinggi pada KP3 mengindikasikan bahwa CK7 bersifat sangat



ekspresif pada sel hati. Pada uji *Kruskal Walls* ditemukan nilai sangat signifikan dengan *reject the null hypothesis*, p -value = 0.00 ($p < 0.05$) antara MO dan CK7. Data tersebut bersifat signifikan karena pada Sig. (2-tailed) 0.00 ($p < 0.05$). Nilai signifikan juga ditemukan pada perbandingan KNEG – KP3 ($p = 0.00$) dan KPOS – KP3 ($p = 0.013$). Pada uji korelasi *Spearman* ditemukan hubungan yang searah dan sangat kuat (koefisien korelasi = 0.798) dengan nilai signifikansi $p = 0.000$ pada CK7.

Pada gambaran histopatologi CK7, didapatkan adanya warna kecokelatan pada sitoplasma sel hati yang mengindikasikan bahwa sel hati tersebut ekspresif pada CK7. Pada penelitian sebelumnya CK7 muncul saat terdapat proliferasi dari kolangiosit/HPC tergantung dengan patologi penyakit (Sato *et al*, 2019).

Ekspresi dari CK7 dapat dilihat disekitar duktus biliaris di bagian epitel, dan di sekitar trias porta, selain itu jika memang sudah (+) CK7, selanjutnya diperiksa keadaan sel hati disekitarnya apakah ada ekspresi yang bersifat atipikal dan tipikal. Pada penelitian MO terdahulu dapat dibuktikan bahwa pada *cholangiocarcinoma*, MO menginduksi apoptosis dan dapat menghambat proliferasi dari sel keganasan (Leelwat, 2014). Vakuolisasi atau *baloning* terjadi pada saat sel hati berusaha beradaptasi dengan kerusakan pada sel

Interpretasi dari tiap gambaran histopatologi:

a) Interpretasi *Cytokeratin 7* (CK7)

- Interpretasi gambaran histopatologi KNEG
Pada KNEG didapatkan ekspresi CK7 di sitoplasma sel pada 20 lapang pandang (Rerata = 1.21). Struktur parenkim sel hati normal. Hal ini disebabkan karena pada KNEG adalah kelompok kontrol dan tidak diberi CCl₄ sehingga tidak menimbulkan kerusakan yang berlanjut.

- Interpretasi gambaran histopatologi KPOS

Pada KPOS didapatkan bahwa pada 20 lapang pandang didapatkan ekspresi dari CK7 yang cukup rendah (Rerata = 1.3688). Terdapat *baloning* pada septa fibrosis. CK7 yang rendah mungkin dikarenakan oleh apoptosis dari sel hati yang tidak mampu untuk berproliferasi lagi dan MO tidak diberikan.

- Interpretasi gambaran histopatologi KP1
Pada pembacaan KP1 per 20 lapang pandang ditemukan bahwa ekspresi CK7 dari KP1 cukup rendah (Rerata = 1.64) namun jauh lebih banyak dari KNEG dan KPOS. Hal ini dikarenakan adanya apoptosis / vakuolisasi pada sel hati. MO yang diberikan untuk KP1 adalah 150 ml, jika dilihat dari gambaran histopatologinya maka didapatkan sedikit ekspresi dari CK7 di sitoplasma sel hati.

- Interpretasi gambaran histopatologi KP2
Pada pembacaan per 20 lapang pandang didapati bahwa jumlah sitoplasma yang terdapat ekspresi CK7 cukup tinggi dari kelompok sebelumnya (Rerata = 5.62). Septa fibrosis terlihat jelas. MO yang diberikan pada kelompok perlakuan ini adalah 300 ml.

- Interpretasi gambaran histopatologi KP3
Pada pembacaan 20 lapang pandang didapati bahwa jumlah sitoplasma yang terdapat ekspresi CK7 lebih tinggi dari kelompok sebelumnya (Rerata = 22.19). MO diberikan pada kelompok ini adalah 600 ml, sehingga diperkirakan jumlah MO mampu menekan proses dari kerusakan sel hati akibat paparan CCl₄

b) Interpretasi Vakuolisasi sel

- Interpretasi gambaran histopatologi KNEG

Pada KNEG pada 20 lapang pandang terdapat beberapa *baloning* pada sel hati. Terdapat *baloning* Struktur parenkim sel hati normal, tidak ada septa fibrosis yang terbentuk. Hal ini bisa disebabkan oleh genetik obeistas, *metabolic syndrom*, NASH (*nonalcoholic fatty liver disease*) (Fujiwara *et al*, 2018).

- Interpretasi gambaran histopatologi KPOS

Pada pembacaan per 20 lapang pandang didapati bahwa ada jumlah

sitoplasma yang terdapat ekspresi CK7 dan vakolisasi sel hampir pada seluruh lapang pandang. Secara histologi trias porta dan vena sentralis sulit untuk diidentifikasi.

- Interpretasi gambaran histopatologi KP1
Pada pembacaan KP1 per 20 lapang pandang ditemukan bahwa ekspresi CK7 dari KP1 cukup rendah (Rerata= 56.51) namun jauh lebih banyak dari KNEG dan KPOS. Hal ini dikarenakan adanya apoptosis / vakuolisasi pada sel hati. MO yang diberikan untuk KP1 adalah 150 ml, jika dilihat dari gambaran histopatologinya maka didapatkan sedikit ekspresi dari CK7 di sitoplasma sel hati.

- Interpretasi gambaran histopatologi KP2
Pada pembacaan per 20 lapang pandang didapati bahwa ada beberapa jumlah sitoplasma yang terdapat ekspresi CK7 dan vakolisasi sel (Rerata= 16.44). Secara histologi trias porta dan vena sentralis sulit untuk diidentifikasi karena fibrosis yang berkepanjangan.

- Interpretasi gambaran histopatologi KP3
Pada pembacaan 20 lapang pandang didapati bahwa jumlah sitoplasma dengan ekspresi CK7 lebih tinggi dari kelompok sebelumnya (Rerata= 16.44). MO diberikan pada kelompok ini adalah 600 ml, sehingga diperkirakan jumlah MO mampu menekan progres dari kerusakan sel hati akibat paparan CCl₄.

Ekspresi CK7 – MO didapati sangat signifikan ($p=0.00$) Nilai vakuolisasi sel berhubungan signifikan yaitu ($p=0.00$). Pada penelitiannya kelompok CK7 dan MO memiliki sifat bertolak belakang. CK7 pada teorinya akan makin tinggi jika yang fibrosisnya makin luas. Namun, vakuolisasi akan semakin tinggi pada kelompok yang makin fibrosis yang progresif.

Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak daun *Moringa oleifera* (MO) dan penambahan dosisnya berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi *cytokeratin 7* (CK7) pada tikus model yang diberikan injeksi kronis CCl₄.

2. Pemberian ekstrak daun *Moringa oleifera* (MO) dan penambahan dosisnya berpengaruh terhadap penurunan jumlah vakuolisasi sel pada tikus model yang diberikan injeksi kronis CCl₄.

3. Pemberian ekstrak daun *Moringa oleifera* (MO) dan penambahan dosisnya berpengaruh terhadap penurunan vakuolisasi sel sehingga *cytokeratin 7* (CK 7) mampu dipertahankan.

Saran

1. Penulis menyarankan untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai *cytokeratin 7* (CK 7) dan mekanisme patofisiologinya terkait dengan *ductular reaction* sehingga perlakuan sampel selama penelitian yang mempengaruhi munculnya *cytokeratin 7* bisa dikendalikan.

2. Penulis menyarankan untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut terkait dengan *cytokeratin 7* (CK 7) dengan membandingkannya dengan ekspresinya di organ lain dan penyakit lain untuk mengetahui signifikansi nya dalam menjadi marker untuk fibrosis hati

Daftar Pustaka

1. Abou-Rawash, A. A., Abdel-Megged, M. S., & Azza, Koulkaila. (2008). *Effects of Enzyme Modulation on Aflatoxin Cytotoxicity and Carcinogenicity in Rats: Cytogenetics and Histopathology*. Egypt. J. Comp. Path. & Clinic. Path., 21(2), 175- 200.
2. Aravinthan A, Verma S, Coleman N, Davies S, Allison M, Alexander G. *Vacuolation in hepatocyte nuclei is a marker of senescence*. J Clin Pathol. 2012;65(6):557-60.
3. Bateman AC, Hübscher SG. *Cytokeratin expression as an aid to diagnosis in medical liver biopsies*. Histopathology. 2010.
4. Bellizzi AM, LeGallo RD, Boyd JC, Iezzoni JC. *Hepatocyte cytokeratin 7 expression in chronic allograft rejection*. Am J Clin Pathol. 2011;135(2):238-44.
5. Bodammer JE, Murchelano RA. *Cytological Study of Vacuolated Cells and Other Aberrant Hepatocytes in Winter Flounder from Boston Harbor*. Cancer Res. 1990;50(20):6744-56.
6. Byass P. *The global burden of liver disease: A challenge for methods and for public health*. BMC Med. 2014;12(1):1-3.
7. Chou, Roger MD, and Wasson NM. *Erratum to: Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis c virus infection (Annals of Internal Medicine)*. Ann Intern Med. 2013;159(4):308.
8. Clark I, Torbenson MS. *Immunohistochemistry and special stains in medical liver pathology*. Adv Anat Pathol. 2017;24(2):99-109.
9. Dong S, Chen QL, Song YN, Sun Y, Wei B, Li XY, et al. *Mechanisms of CCl4-induced liver fibrosis with combined transcriptomic and proteomic analysis*. J Toxicol Sci. 2016;41(4):561-72.
10. Friedman SL. *Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury*. J Biol Chem. 2000;275(4):2247-50.
11. Fujiwara N, Friedman SL, Goossens N, Hoshida Y. *Risk factors and prevention of hepatocellular carcinoma in the era of precision medicine*. J Hepatol [Internet]. 2018;68(3):526-49. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.09.016>
12. Hamza AA. *Ameliorative effects of Moringa oleifera Lam seed extract on liver fibrosis in rats*. Food Chem Toxicol [Internet]. 2010;48(1):345-55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.10.022>
13. Hassan N, Soliman G, Okasha E, Shalaby A. *Histological, immunohistochemical, and biochemical study of experimentally induced fatty liver in adult male albino rat and the possible protective role of pomegranate*. J Microsc Ultrastruct. 2018;6(1):44.
14. Ma Q. *Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity*. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2013;53(1):401-26.
15. Maronpot RR, Yoshizawa K, Nyska A, Harada T, Flake G, Mueller G, et al. *Liver enlargement - STP regulatory policy papers: Hepatic enzyme induction: Histopathology*. Toxicol Pathol. 2010;38(5):776-95.
16. Nallagangula KS, Nagaraj SK, Venkataswamy L, Chandrappa M. *Liver fibrosis: A compilation on the biomarkers status and their significance during disease progression*. Futur Sci OA. 2018;4(1).
17. Nayak NC, Sathar SA, Mughal S, Duttagupta S, Mathur M, Chopra P. *The nature and significance of liver cell vacuolation following hepatocellular injury - an analysis based on observations on rats rendered tolerant to hepatotoxic damage*. Virchows Arch. 1996;428(6):353-65.
18. Omary MB, Ku NO, Toivola DM. *Keratins: Guardians of the liver*. Hepatology. 2002;35(2):251-7.
19. Pizem, J., Cor,A. (2003). *Detection of Apoptosis Cells in Tumour Paraffin Section*. Radiol. Oncol., 37(4), 225-232.
20. Pernick N. *Cytokeratin 7 (CK7, K7)*. PathologyOutlines.com [Internet]. 2016;7:28-9. Available from: <http://www.pathologyoutlines.com/topic/stainsck7.html>
21. Ren C, Paronetto F, Mak KM, Leo MA, Lieber CS. *Cytokeratin 7 staining of hepatocytes predicts progression to more severe fibrosis in alcohol-fed baboons*. J Hepatol. 2003;38(6):770-5.
22. Rowe A, Zhang L, Hussain A, Braet F, Ramzan I. *Assessment and histological analysis of the IPRL technique for sequential in situ liver biopsy*. Comp Hepatol. 2011; 10:1-7.

23. Sato K, Marzioni M, Meng F, Francis H, Glaser S, Alpini G. *Ductular Reaction in Liver Diseases: Pathological Mechanisms and Translational Significances*. *Hepatology*. 2019;69(1):420–30.

24. Shiha G, Zalat K. *Ishak versus METAVIR: Terminology, Convertibility and Correlation with Laboratory Changes in Chronic Hepatitis C*. *Liver Biopsy*. 2011;(March).

25. Shubin A V., Demidyuk I V., Komissarov AA, Rafieva LM, Kostrov S V. *Cytoplasmic vacuolization in cell death and survival*. *Oncotarget*. 2016;7(34):55863–89.

26. Sudoyo A w. *Buku Ajar Ilmu Penyakit dalam PAPDI Edisi Kelima*. *Edoc.Site_Buku-Ajar-Illmu-Penyakit-Dalam-Papdi-Edisi-Kelima.Pdf*. 2009. p. 3085.

27. Tanaka M, Miyajima A. *Liver regeneration and fibrosis after inflammation*. *Inflamm Regen* [Internet]. 2016;36(1):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s41232-016-0025-2>

28. Vergara-Jimenez M, Almatrafi MM, Fernandez ML. *Bioactive components in Moringa oleifera leaves protect against chronic disease. Antioxidants*. 2017;6(4):1–13.

