



**EFEK HEPATOPROTEKTOR CUKA APEL *Anna* TERHADAP
KERUSAKAN HISTOLOGIS SEL HEPAR WISTAR YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

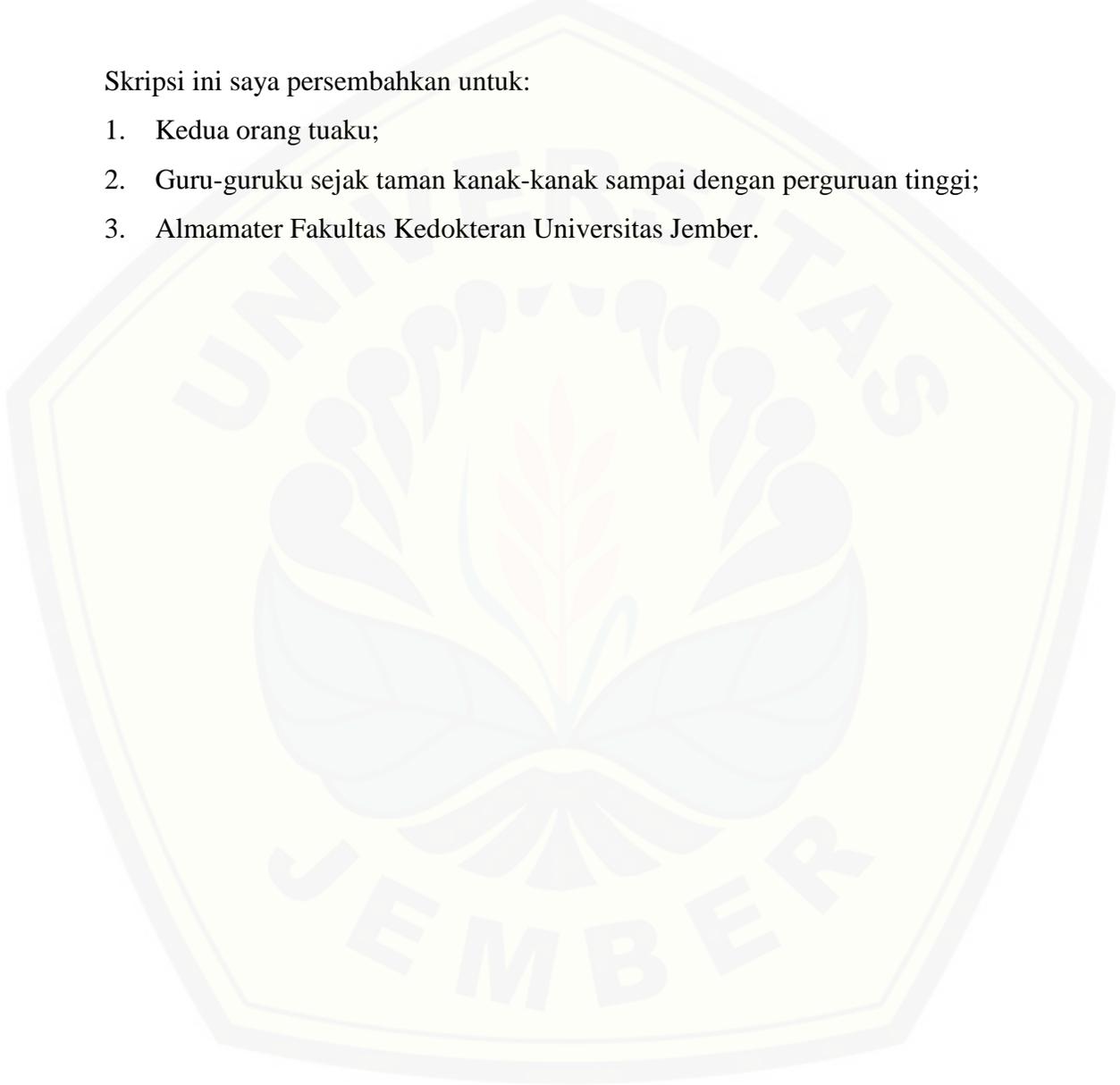
Chandra Puspita Kartikasari Sukrisno Putri
NIM 122010101093

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTO

Sebaik-baiknya makanan adalah cuka.
(HR Muslim, 2052)^{*)}

Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali disertai dengan penawarnya.
(7: 582 Shahih Bukhari)^{**)}

^{*)} Muhammad Saed Abdur Rahman. 2007. *Islam: Question and Answer*. London: MSA Publication Limited.

^{**)} Imam Az Zabidi. 2013. *Ringkasan Shahih Al- Bukhari*. Bandung: PT Mizan Pustaka.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Chandra Puspita Kartikasari Sukrisno Putri

NIM : 122010101093

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Hepatoprotektor Cuka Apel Anna terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Wistar yang Diinduksi Parasetamol” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Desember 2015

Yang menyatakan,

Chandra Puspita K. S. P.

NIM 122010101093

SKRIPSI

**EFEK HEPATOPROTEKTOR CUKA APEL *Anna* TERHADAP
KERUSAKAN HISTOLOGIS SEL HEPAR WISTAR YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

Oleh

Chandra Puspita Kartikasari Sukrisno Putri
NIM 122010101093

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Rosita Dewi

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Hepatoprotektor Cuka Apel Anna terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Wistar yang Diinduksi Parasetamol” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 29 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

dr. Jane Kosasih, Sp. PA
NIP 198005202014122001

dr. Muh. Hasan, M. Kes., Sp. OT
NIP 196904111999031001

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si
NIP 198409162008012003

dr. Rosita Dewi
NIP 198404282009122003

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Efek Hepatoprotektor Cuka Apel Anna terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Wistar yang Diinduksi Parasetamol; Chandra Puspita Kartikasari Sukrisno Putri, 122010101093; 2012; 35 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Parasetamol merupakan salah satu obat golongan NSAID (*Non-Steroid Anti Inflammatory Drug*) yang dapat diperoleh masyarakat secara bebas. Menurut data RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) tahun 2010, 39% kasus toksisitas obat pada hepar disebabkan oleh parasetamol. Parasetamol dimetabolisme di hepar dan menghasilkan radikal bebas, yaitu NAPQI (*N-acetyl-pbenzoquinoneimine*) yang diaktivasi oleh enzim hepar sitokrom P-450. Radikal bebas ini dikendalikan oleh antioksidan alami tubuh, yaitu GSH (*Glutathione*). Apabila parasetamol diberikan dalam dosis toksik, maka akan terjadi deplesi GSH dan mengakibatkan kerusakan berupa nekrosis hepar yang dapat diamati pada gambaran histologis sel hepar. Salah satu bahan yang dapat berperan sebagai antioksidan guna menangkap radikal bebas di dalam tubuh adalah cuka apel. Cuka apel sebagai antioksidan diduga mampu berperan sebagai hepatoprotektor. Kandungan fenol dan asam asetat yang terdapat dalam cuka apel mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh sehingga bisa menjadi zat alternatif untuk melindungi hepar dari kerusakan yang diakibatkan oleh keracunan parasetamol. Berdasarkan penelitian sebelumnya, cuka apel dengan dosis 0,4 ml dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diberi diet tinggi gula. Penelitian pada cuka buah lainnya membuktikan bahwa cuka nanas dapat menurunkan enzim hepar dalam serum, mengembalikan tingkat antioksidan hepar, dan menurunkan ekspresi protein sitokrom P450 pada kerusakan hepar mencit yang

diinduksi parasetamol. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek hepatoprotektor cuka apel *Anna* dosis 0,4 ml/200 gram BB terhadap kerusakan histologis sel hepar wistar yang diinduksi parasetamol.

Penelitian ini menggunakan 27 ekor wistar yang dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol negatif, dan perlakuan. Cuka apel pada kelompok perlakuan diberikan pada hari ke-1 sampai ke-14, induksi parasetamol dilakukan satu jam setelah pemberian cuka apel pada hari ke-12 sampai ke-14, dan terminasi dilakukan pada hari ke-15. Data diperoleh melalui pengamatan mikroskopik dengan menilai gambaran degenerasi dan nekrosis sel hepar. Gambaran degenerasi sel hepar, yaitu ada atau tidaknya respon sel inflamasi, sitoplasma keruh atau granula meningkat, pembengkakan sel (*blebbing*), vakuola lemak pada sitoplasma (*microvesicular* atau *macrovesicular*), dan inti sel terdesak ke tepi. Gambaran nekrosis sel hepar, yaitu inti piknotik atau memadat, karioreksis atau fragmentasi inti sel, dan kariolisis atau hilangnya inti. Untuk membedakan tingkat keparahan sel hepar antara satu tikus dengan tikus lainnya, peneliti mengklasifikasikannya ke dalam empat kategori berdasarkan persentase rata-rata sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis (Dewi, 2006), yaitu:

0 : tidak terjadi kerusakan sel hepar

1 : < 25% sel-sel hepar mengalami degenerasi

2 : 25%-50% sel-sel hepar mengalami degenerasi

3 : > 50% sel-sel hepar mengalami degenerasi dan atau sel-sel hepar mengalami nekrosis

Dari hasil penelitian didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan, dan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian cuka apel *Anna* dosis 0,4 ml/200 gram BB memiliki efek hepatoprotektor terhadap kerusakan histologis sel hepar wistar yang diinduksi parasetamol.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Hepatoprotektor Cuka Apel Anna terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Wistar yang Diinduksi Parasetamol”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si dan dr. Rosita Dewi selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. dr. Jane Kosasih, Sp. PA dan dr. Muh. Hasan, M. Kes., Sp. OT selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Ali Santosa, Sp. PD selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi selama perkuliahan;
5. dr. Ancah Caesarina Novi M., Ph. D selaku Koordinator KTI yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
6. dr. Rini Riyanti, Sp. PK dan dr. Cholis Abrori, M. Kes selaku Komisi Etik yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
7. Bu Lilik dan Pak Agus yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

8. orangtua dan keluargaku yang telah memberikan perhatian, dukungan, dan doa;
9. sahabatku Putri, Samiyah, Intan, Laily, Anggita, Niki, Silvi, Fida, dan Ica yang telah mengingatkanku dan menemaniku dalam masa hijrahku, serta memberikan dukungan, doa, dan kesabaran dalam mendengarkan setiap keluh kesah selama menimba ilmu sampai proses penyelesaian skripsi ini;
10. rekan-rekan Panacea angkatan 2012 Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah berjuang bersama-sama;
11. semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Parasetamol	4
2.1.1 Farmakodinamik	4
2.1.2 Farmakokinetik	4
2.1.3 Dosis Toksik	5
2.1.4 Mekanisme Toksisitas.....	5
2.2 Organ Hepar	6

2.2.1 Struktur Histologis Hepar	6
2.2.2 Kerusakan Hepar.....	12
2.3 Cuka Apel.....	13
2.4 Antioksidan	15
2.5 Kerangka Konsep	17
2.6 Hipotesis Penelitian	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Jenis Penelitian	19
3.2 Rancangan Penelitian.....	19
3.3 Populasi dan Sampel	20
3.3.1 Populasi.....	20
3.3.2 Sampel.....	20
3.3.3 Jumlah Sampel.....	20
3.4 Tempat dan Waktu.....	21
3.5 Variabel Penelitian	21
3.5.1 Variabel Bebas	21
3.5.2 Variabel Terikat	21
3.5.3 Variabel Terkendali	21
3.6 Definisi Operasional	22
3.6.1 Cuka Apel	22
3.6.2 Histopatologi Sel Hepar	22
3.6.3 Parasetamol Dosis Toksik.....	23
3.7 Bahan dan Alat Uji.....	23
3.7.1 Bahan	23
3.7.2 Alat.....	23
3.8 Prosedur Penelitian	24
3.8.1 Pembuatan Sediaan Cuka Apel Tahesta.....	24
3.8.2 Pembuatan Sediaan Parasetamol.....	24

3.8.3 Perlakuan terhadap Hewan Coba	24
3.8.4 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar Wistar	25
3.8.5 Pengukuran Hasil	25
3.9 Analisis Data	26
3.10 Alur Penelitian	27
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Hasil Penelitian	28
4.2 Analisis Data	32
4.3 Pembahasan	33
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Histologi hepar	7
2.2 Konsep hubungan antara struktur dan fungsi hepar.....	11
2.3 Kandungan cuka apel Tahesta.....	15
2.4 Kerangka konsep.....	17
3.1 Rancangan penelitian	19
3.2 Perlakuan terhadap hewan coba.....	27
4.1 Hasil pengamatan histopatologi sampel.....	29
4.2 Histogram rata-rata nilai kelompok	29
4.3 Foto preparat hepar tikus kelompok kontrol normal.....	30
4.4 Foto preparat hepar tikus kelompok kontrol negatif.....	31
4.5 Foto preparat hepar tikus kelompok perlakuan.....	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Keterangan Persetujuan Etik	38
Lampiran B Laporan Hasil Pemeriksaan Patologi Anatomi	40
Lampiran C Hasil Uji Analisis Data	41
Lampiran D Tabel Dosis Cuka Apel Tahesta Sampel	43
Lampiran E Tabel Dosis Parasetamol Sampel	44
Lampiran F Dokumentasi Penelitian	45

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Parasetamol atau asetaminofen merupakan salah satu obat golongan NSAID (*Non-Steroid Anti Inflammatory Drug*) yang digunakan sebagai analgesik dan antipiretik. Efek analgesik parasetamol serupa dengan salisilat, yaitu mengurangi nyeri ringan sampai sedang, sedangkan efek antipiretik, yaitu menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga berdasarkan efek sentral. Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna, dimetabolisme oleh enzim mikrosom hepar, dan diekskresi melalui ginjal (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2012). Obat ini dapat diperoleh dan dikonsumsi masyarakat secara bebas dalam bentuk OT-BKO (Obat Tradisional dengan Bahan Kimia Obat). Penggunaan parasetamol yang bebas ini menimbulkan beberapa kasus keracunan. FDA (*Formerly Office of Drug Safety*) USA menyatakan bahwa lebih dari 100.000 kasus per tahun yang menghubungi pusat informasi keracunan; 56.000 kasus datang ke unit gawat darurat, 26.000 kasus memerlukan perawatan intensif di rumah sakit, dan 450 orang meninggal akibat keracunan parasetamol (Nourjah, 2006). Menurut data RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) tahun 2010, 39% kasus toksisitas obat pada hepar disebabkan oleh parasetamol (Depkes, 2010).

Parasetamol dimetabolisme di hepar dan menghasilkan radikal bebas, yaitu NAPQI (*N-acetyl-pbenzoquinoneimine*) yang diaktivasi oleh enzim hepar sitokrom P-450. Radikal bebas ini akan dikendalikan oleh antioksidan endogen tubuh, yaitu GSH (*Glutathione*). Apabila parasetamol diberikan dalam dosis toksik, maka akan terjadi deplesi GSH dan mengakibatkan kerusakan berupa nekrosis hepar yang dapat diamati pada gambaran histologis sel hepar (Marzullo, 2005:1-2).

Salah satu bahan yang dapat berperan sebagai antioksidan guna menangkap radikal bebas di dalam tubuh adalah cuka apel. Cuka atau dikenal dengan asam asetat adalah cairan masam yang didapatkan dari proses fermentasi alkohol dan fermentasi asetat. Cuka dapat diproduksi dari berbagai bahan yang mengandung gula atau pati, yaitu apel, *wine*, gandum, dan sebagainya. Cuka apel adalah salah satu jenis cuka dari buah-buahan yang sekarang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Cuka apel yang beredar di masyarakat di antaranya adalah merk Tahesta dari apel Anna Malang. Cuka apel Tahesta ini telah banyak dikonsumsi masyarakat secara bebas karena diyakini dapat menjaga kesehatan. Kandungan fenol dan asam asetat yang terdapat dalam cuka apel mempunyai khasiat antioksidan alami yang mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh (Mohamad *et al*, 2015).

Kandungan cuka apel berupa asam asetat dan fenol yang tinggi dapat menjadi zat alternatif untuk melindungi hepar dari kerusakan yang diakibatkan oleh keracunan parasetamol. Asam asetat berperan dalam meningkatkan kadar GSH, sedangkan fenol berperan sebagai antioksidan yang akan mengikat radikal bebas (Mohamad *et al*, 2015). Apabila kadar GSH meningkat, metabolit NAPQI yang akan berikatan dengan protein sel hepar menurun. Jika radikal bebas dalam hepar menurun karena aktivitas fenol, aktivitas oksidasi juga akan menurun dan kerusakan sel hepar dapat dicegah. Dengan adanya perlindungan aktivitas antioksidan endogen dan eksogen terhadap sel hepar tersebut, nekrosis sel hepar dapat dicegah. Berdasarkan penelitian sebelumnya, cuka apel dengan dosis 0,4 ml dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diberi diet tinggi gula (Zubaidah, 2011). Penelitian pada cuka buah lainnya membuktikan bahwa cuka nanas dapat menurunkan enzim hepar dalam serum, mengembalikan tingkat antioksidan hepar, dan menurunkan ekspresi protein sitokrom P450 pada kerusakan hepar mencit yang diinduksi parasetamol (Mohamad *et al*, 2015).

Cuka apel Tahesta sudah banyak beredar di masyarakat, namun belum ada penelitian tentang cuka apel Tahesta sebagai antioksidan khususnya pada kerusakan

hepar. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui efek hepatoprotektor cuka apel *Anna* terhadap kerusakan histologis sel hepar wistar yang diinduksi parasetamol.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana efek hepatoprotektor cuka apel *Anna* dosis 0,4 ml/200 gram BB terhadap kerusakan histologis sel hepar wistar yang diinduksi parasetamol?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek hepatoprotektor cuka apel *Anna* dosis 0,4 ml/200 gram BB terhadap kerusakan histologis sel hepar wistar yang diinduksi parasetamol.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

- a. bagi peneliti selanjutnya, sebagai bahan informasi penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas berbagai macam dosis cuka apel *Anna* guna mencegah kerusakan histologis sel hepar tikus wistar pada konsumsi parasetamol dosis toksik;
- b. bagi pembaca, memberikan informasi mengenai efek hepatoprotektor cuka apel *Anna*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Parasetamol

Parasetamol (asetaminofen) merupakan derivat para amino fenol. Efek antipiretik parasetamol ditimbulkan oleh gugus aminobenzen. Di Indonesia parasetamol tersedia sebagai obat bebas. Walau demikian, laporan kerusakan faal hepar akibat takar lajak akut perlu diperhatikan. Perlu diperhatikan pula pemakai maupun dokter bahwa efek anti-inflamasi parasetamol hampir tidak ada (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2012:237).

2.1.1 Farmakodinamik

Efek analgesik parasetamol serupa dengan salisilat yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Keduanya menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral seperti salisilat. Efek anti-inflamasinya sangat lemah, oleh karena itu parasetamol tidak digunakan sebagai antireumatik. Parasetamol merupakan penghambat biosintesis PG yang lemah. Efek iritasi, erosi, dan perdarahan lambung tidak terlihat pada kedua obat ini, demikian juga gangguan pernapasan dan keseimbangan asam basa (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2012:238).

2.1.2 Farmakokinetik

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu $\frac{1}{2}$ jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam. Obat ini tersebar ke seluruh cairan tubuh. Dalam plasma, 25% parasetamol terikat protein plasma. Obat ini dimetabolisme oleh enzim mikrosom hepar. Sebagian asetaminofen (80%) dikonjugasi dengan asam glukoronat dan sebagian lainnya dengan asam sulfat. Selain itu obat ini juga dapat mengalami

hidroksilasi. Metabolit hasil hidroksilasi ini dapat menimbulkan methemoglobinemia dan hemolisis eritrosit. Obat ini diekskresi melalui ginjal, sebagian kecil parasetamol (3%) dan sebagian besar dalam bentuk terkonjugasi (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2012:238).

2.1.3 Dosis Toksik

Akibat dosis toksik yang paling serius adalah nekrosis hepar. Nekrosis tubuli renalis serta koma hipoglikemik dapat juga terjadi. Hepatotoksisitas dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kgBB) parasetamol. Gejala pada hari pertama keracunan akut parasetamol belum mencerminkan bahaya yang mengancam. Anoreksia, mual, muntah serta sakit perut terjadi dalam 24 jam pertama dan dapat berlangsung selama seminggu atau lebih. Gangguan hepar dapat terjadi pada hari kedua, dengan gejala peningkatan aktivitas serum transaminase, laktat dehydrogenase, kadar bilirubin serum, serta pemanjangan masa protrombin. Aktivitas alkali fosfatase dan kadar albumin serum tetap normal. Kerusakan hepar dapat menyebabkan ensefalopati, koma, dan kematian. Kerusakan hepar yang tidak berat pulih dalam beberapa minggu sampai beberapa bulan (Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2012:238).

2.1.4 Mekanisme Toksisitas

Parasetamol dimetabolisme sebagian besar di hepar, dengan lebih dari 90% menjadi non toksik konjugasi glukuronida dan sulfat, dan kurang dari 5% diekskresikan di urin. 5% lainnya dimetabolisme oleh enzim sitokrom P450 menjadi *n-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) yang bersifat reaktif. Faktor resiko menjadi lebih besar pada pasien yang menderita penyakit hepar kronis, mengkonsumsi alkohol, serta obat yang menginduksi enzim sitokrom P450. Pada pemakaian parasetamol dosis non toksik, NAPQI akan berikatan dengan kelompok *sulphydryl* dari glutation endogen membentuk konjugasi mercaptide yang bersifat non toksik. Pada pemakaian parasetamol dosis toksis, NAPQI akan dibentuk berlebihan, dan

glutation yang tersimpan semakin berkurang. Bila persediaan glutathione jatuh di bawah 30%, NAPQI menjadi bersifat toksik pada sel hepar. Nekrosis sentrolobular pada sel hepar akan mendominasi pada mekanisme toksisitas parasetamol oleh karena ikatan NAPQI secara kovalen terhadap kelompok *cysteinyl sulfhydryl* pada sel hepar, dan diikuti kerusakan fungsi pada mitokondria, inhibisi enzim siklus kreb, dan gangguan gradien kalsium yang ada pada beberapa fungsi sel lainnya (Marzullo, 2005:1-2).

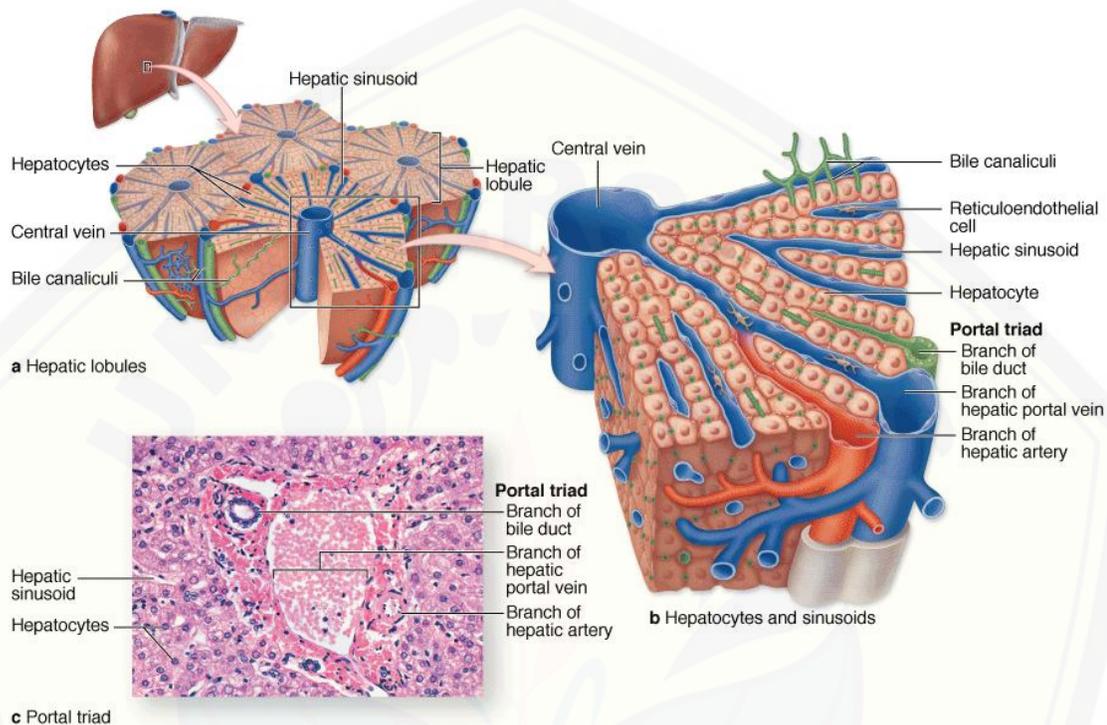
2.2 Organ Hepar

Hepar merupakan organ terbesar pada tubuh, menyumbang sekitar 2 persen berat tubuh total, atau sekitar 1,5 kg pada rata-rata manusia dewasa. Unit fungsional dasar hepar adalah lobulus hepar, dimana hepar manusia mengandung 50.000 sampai 100.000 lobulus. Hepar terdiri dari kumpulan besar sel reaktan kimia dengan laju metabolisme yang tinggi, saling memberikan substrat dan energi dari suatu sistem metabolisme ke sistem yang lain, mengolah dan menyintesis berbagai zat yang diangkut ke daerah tubuh lainnya, dan melakukan berbagai fungsi metabolisme lain seperti metabolisme karbohidrat, lemak, protein, vitamin, dan sebagainya (Guyton dan Hall, 2012).

2.2.1 Struktur Histologis Hepar

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. Diantara 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 dalam Ilmu Penyakit Dalam, 2009: 628-629). Secara garis besar gambaran histologis hepar dapat dilihat di gambar 2.1.



Gambar 2.1 Histologi hepar (Sumber: Mescher, 2010)

a. Stroma

Hepar diselubungi oleh kapsul fibrosa jaringan ikat tipis yang menebal ke daerah hilus, dimana vena portal dan arteri hepatica memasuki organ dan dimana duktus hepaticus kanan dan kiri serta duktus dimfatikus keluar. Pembuluh darah dan duktus ini dikelilingi oleh jaringan ikat sampai ke daerah porta di antara lobules hepar.

b. Lobulus Hepar

Sel hepar atau hepatosit adalah sel epitel yang tersusun sebagai lembaran-lembaran sel yang saling berhubungan, membentuk suatu lobulus hepar poligonal yang merupakan unit struktural dan fungsional terkecil di hepar. Setiap lobulus

memiliki tiga sampai enam daerah porta di tepinya dan sebuah vena yang disebut vena sentralis di tengahnya. Pada daerah porta di tepi lobulus terdapat jaringan ikat yang menyatukan sebuah vena (cabang dari vena porta), sebuah arteriola (cabang dari arteri hepatica), dan sebuah duktus yang mempunyai epitel kubus (cabang dari system duktus biliaris) – tiga struktur yang disebut trias porta. Vena berisi darah dari superior dan inferior vena mesenterika dan splenikus. Arteriola berisi darah dari trunkus seliaka dan aorta abdominal. Duktus membawa hasil sintesis biliaris oleh sel parenkim (hepatosit) dan secara rutin mengeluarkan semuanya ke duktus hepaticus. Pada area porta juga terdapat nervus dan saluran limfa.

Lembaran lobulus terdiri dari hepatosit-hepatosit yang tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Dari tepi ke tengah lobulus, hepatosit beranastomosis bebas, membentuk *sponge-like structure*. Daerah di antara anastomose hepatosit satu dengan lainnya adalah sinusoid hepar. Sinusoid yang berdilatasi ireguler ini tersusun oleh selapis sel endothelial. Sel endothelial ini dipisahkan dari hepatosit oleh lamina basalis tipis dan celah perisinusoid yang sangat sempit yang disebut *celah disse*. Pada celah ini mikrovili hepatosit akan melakukan pertukaran antara sel dengan plasma. Pertukaran ini merupakan kunci dari fungsi hepar, bukan hanya karena banyaknya makromolekul (seperti lipoprotein, albumin, dan fibrinogen) yang disekresikan ke dalam darah oleh hepatosit, melainkan juga karena hepar mengambil dan mengatabolis banyak makromolekul lainnya.

c. Sinusoid hepar

Darah yang kaya nutrisi dari vena porta dan darah yang kaya oksigen dari arteriola bercampur di dalam sinusoid di antara hepatosit berjalan dari area porta menuju vena sentralis. Molekul-molekul ini dimetabolisme terutama oleh hepatosit, tetapi sel lain atau sel yang terletak di dekat sinusoid juga berperan penting. Terdapat makrofag yang berbentuk steleata yang disebut sel kupfer, terikat pada lumen endothelial pada sinusoid, dimana sel-sel ini mendeteksi dan

menfagosit eritrosit yang rusak, membebaskan heme untuk digunakan kembali, memusnahkan bakteri maupun debris yang masuk lewat area porta, dan berperan sebagai *antigen-presenting cells* dalam imunitas adaptif. Selain itu, di dalam celah perisinusoid terdapat *fat storing cell* atau disebut juga sel Ito dengan droplet lemak kecil yang mengandung vitamin A, memproduksi komponen ECM, dan juga mempunyai peran dalam imunitas lokal.

d. Sirkulasi darah

Vena porta mendapatkan darah dari pankreas, limfa, dan usus. Nutrisi dikumpulkan dan dimetabolisme di hepar dan substansi toksik dinetralisir dan dieliminasi disini. Vena porta bercabang menjadi venula yang berjalan dari tepi lobulus ke sinusoid. Darah dari venula berjalan ke sinusoid secara radial ke tengah menuju vena sentralis. Selanjutnya darah dari vena sentralis berjalan melalui vena hepatica menuju vena cava inferior.

Arteri hepatica bercabang menjadi arteriola di area porta dan bergabung ke tengah secara radial menjadi sinusoid. Darah selalu mengalir ke tengah dalam setiap lobulus hepar. Akibatnya, oksigen dan hasil metabolit, begitu juga dengan substansi toksik maupun non-toksik yang diserap oleh saluran intestinal, mencapai tepi lobulus atau daerah porta pertama kali selanjutnya baru mencapai vena sentralis. Arah aliran darah ini menjelaskan mengapa sel-sel serta fungsi hepatosit bagian perifer atau tepi berbeda dengan bagian sentral. Hepatosit di dekat area porta lebih banyak melakukan metabolisme aerobik dan sintesis protein, sedangkan hepatosit di daerah sentral yang terpajan konsentrasi nutrisi dan oksigen lebih rendah lebih banyak terlibat dalam proses detoksifikasi dan metabolisme glikogen.

e. Hepatosit

Hepatosit adalah sel polihidra dengan enam atau lebih permukaan berdiameter 20-30 μ m. Pada pengecatan H&E, sitoplasma hepatosit biasanya bersifat eosinofilik karena banyaknya jumlah mitokondria, lebih dari 20 per sel. Hepatosit memiliki nucleus silinder besar beserta nukleolinya. Hepatosit biasanya memiliki dua atau

lebih nukleus dan sekitar 50%nya adalah poliploid, dengan dua, empat, delapan, atau lebih kali lipat dari nomor kromosom diploid normal. Nucleus poliploid dikarakteristikan dengan ukuran yang lebih besar, yang proporsional dengan jumlah ploidinya masing-masing.

Permukaan setiap hepatosit bertemu dengan dinding sinusoid melalui celah perisinusoid dan dengan permukaan hepatosit lain. Dimana dua hepatosit yang berdekatan berbatasan dengan celah tubular yang disebut kanalikuli biliaris. Di dekat daerah porta, kanalikuli biliaris mengosongkan isinya ke duktulus biliaris, dan kemudian ke duktus biliaris pada area porta. Duktus biliaris dilapisi oleh epitel kuboid atau kolumnar dan memiliki selubung jaringan ikat yang berbeda. Jaringan ikat ini melebar dan memisah membentuk duktus hepaticus kanan dan kiri yang meninggalkan hepar.

Terdapat beberapa konsep untuk melihat histologi hepar berdasarkan aspek aktivitas hepatosit. Konsep tersebut antara lain adalah sebagai berikut.

a. Konsep lobulus klasik

Konsep yang menekankan hubungan struktur dan fungsi hepar berdasarkan fungsi endokrin sel hepar yang memproduksi berbagai faktor untuk didistribusikan melalui darah, serta berdasarkan sirkulasi darah menuju vena sentralis.

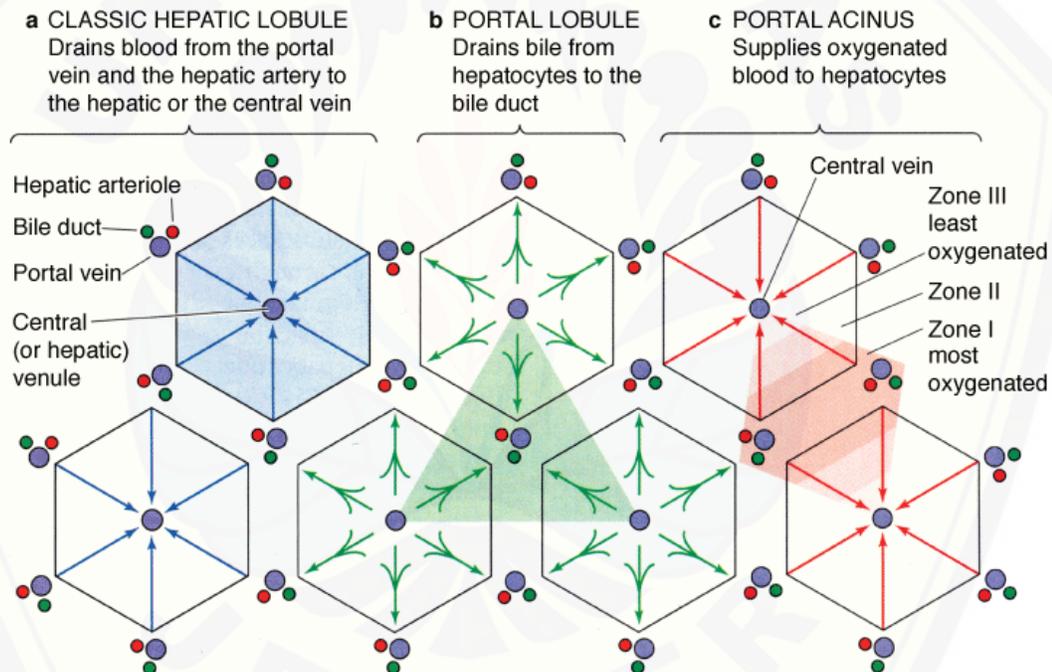
b. Konsep lobulus porta

Konsep yang menekankan hubungan struktur dan fungsi hepar berdasarkan fungsi eksokrin sel hepar, yaitu sistem biliaris yang berasal dari tiga lobulus klasik menuju duktus biliaris pada area porta di tengahnya.

c. Konsep asinus hepar

Konsep yang menekankan perbedaan konsentrasi nutrisi dan oksigen darah sepanjang sinusoid, dengan darah di setiap area porta mensuplai sel-sel pada dua atau lebih lobulus klasik. Asinus terdiri dari hepatosit-hepatosit dalam area berbentuk diamond di antara dua trias porta dan dua vena sentralis terdekat. Aktivitas utama hepatosit menggambarkan lokasinya berdasarkan konsentrasi nutrisi dan oksigen: sel-sel periporta pada zona I mendapat nutrisi dan oksigen

paling banyak sehingga menunjukkan aktivitas metabolisme yang umumnya berbeda dari sel-sel perisentral pada zona III, yaitu yang mendapat nutrisi dan oksigen dengan konsentrasi paling rendah. Hepatosit pada zona I berperan dalam metabolisme oksidatif seperti sintesis protein. Hepatosit pada zona III berperan dalam proses glikolisis, pembentukan lipid, dan biotransformasi obat. Akumulasi lemak dan nekrosis iskemik lebih mudah terjadi di zona III. Perubahan patologis pada hepar paling baik dilihat menggunakan konsep asinus hepar. Gambar konsep hubungan antara struktur dan fungsi hepar dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Konsep hubungan antara struktur dan fungsi hepar (Sumber: Mescher, 2010)

Hepatosit mempunyai fungsi yang banyak bagi tubuh. Hepatosit mempunyai banyak retikulum endoplasma, baik yang halus dan kasar. Retikulum endoplasma kasar berfungsi untuk sintesis protein plasma sehingga menyebabkan sitoplasma basofil, dimana lebih sering ditemukan pada hepatosit di dekat area porta. Berbagai macam proses penting lainnya berada pada retikulum endoplasma halus yang tersebar

dalam sitoplasma. Organel sel ini bertanggung jawab dalam proses oksidasi, metilasi, dan konjugasi yang dibutuhkan untuk inaktivasi atau detoksifikasi macam-macam substansi sebelum diekskresikan. Retikulum endoplasma halus merupakan sebuah sistem yang cepat bereaksi terhadap molekul yang ditangkap oleh hepatosit (Mescher, 2010).

2.2.2 Kerusakan Hepar

Hepar normal memiliki kapasitas regenerasi yang luar biasa karena hepar merupakan organ tubuh yang paling sering menerima jejas. Hepar rentan terhadap berbagai gangguan metabolik, toksik, mikroba, dan sirkulasi. Pada jejas ringan, sel-sel hepar dapat segera beregenerasi kembali pada fungsi semula. Namun, kapasitasnya dapat habis apabila hepar terkena penyakit yang menyerang seluruh parenkim sehingga timbul kerusakan pada hepar. Apabila sel hepar terkena rangsangan patologik secara terus menerus, akan menyebabkan beberapa respon yang berbeda, sesuai dengan jenis pajanan dan lama pajanan dari rangsangan patologik. Terdapat lima respon umum yang dihasilkan hepar ketika mengalami jejas.

Respon pertama adalah peradangan. Peradangan mungkin terbatas di saluran porta atau mungkin terbatas ke dalam parenkim. Jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag akan segera menelan sel yang mati, membentuk gumpalan sel radang di parenkim yang normal. Benda asing, organisme, dan berbagai obat dapat memicu reaksi granulomatosa (Kumar *et al.*, 2012).

Respon kedua adalah degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan morfologi dan fungsi yang sifatnya reversibel. Degenerasi yang paling ringan yaitu degenerasi parenkimatososa atau degenerasi albumin. Degenerasi parenkimatososa membuat sel menjadi tampak bengkak dan keruh. Hal ini terjadi karena adanya sekresi protein yang berlebih pada ekstra sel dan metabolisme protein terjadi masih normal. Maka dari itu, sel melakukan pinositosis pada protein yang menyebabkan sitoplasma sel mengalami kekeruhan. Bila degenerasi parenkimatososa ini diteruskan, maka akan terjadi degenerasi hidropik. Degenerasi hidropik terjadi karena adanya gangguan

membran sel sehingga banyak cairan masuk dalam sitoplasma, menimbulkan beberapa vakuola berukuran kecil samapai besar. Kerusakan pada degenerasi hidropik ini berada pada mitokondria sel (Sudiono *et al.*, 2001).

Respon ketiga adalah kematian sel. Kematian sel atau nekrosis merupakan kematian sel yang ireversibel. 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. Kematian sel yang bersifat toksik atau diperantarai oleh sistem imun terjadi melalui apoptosis. Tanda nekrosis sel hepar memiliki ciri piknosis (inti hiperkromatik dan mengecil), karioreksis (fragmentasi inti yang meninggalkan pecahan-pecahan sisa inti berupa zat kromatin yang tersebar di dalam sel dan kariolisis (inti hilang dan kromatin basofil menjadi pucat).

Respon keempat adalah fibrosis. Jaringan fibrosa terbentuk sebagai respon terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hepar. Pengendapan kolagen akan menimbulkan dampak permanen pada pola aliran darah hepar. Awalnya, fibrosis terbentuk di dalam atau di sekitar sauran porta atau vena sentralis atau mungkin mengendap langsung dalam sinusoid. Untaian dari fibrosa akan menghubungkan regio hepar yang disebut bridging fibrosis.

Respon terakhir adalah sirosis. Hepar terbagi menjadi beberapa nodus hepatosit yang sekelilingnya mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut yang disebut sirosis. Sirosis merupakan stadium akhir dari perjalanan penyakit hepar (Kumar *et al.*, 2012).

2.3 Cuka Apel

Cuka atau dikenal dengan asam asetat adalah cairan masam yang didapatkan dari proses fermentasi alkohol dan fermentasi asetat. Cuka dapat diproduksi dari berbagai bahan yang mengandung gula atau pati, yaitu apel, *wine*, gandum, dan sebagainya. Cuka apel, yang merupakan hasil fermentasi asam asetat dan alkohol dari buah apel, adalah salah satu jenis cuka dari buah-buahan yang sekarang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Kandungan cuka apel tidak jauh berbeda dengan

kandungan buah apel segar. Asam asetat adalah komposisi kimia yang paling mendominasi di dalam cuka apel. Di Amerika Serikat, produk cuka harus mengandung minimal 4% keasaman. Terdapat beberapa senyawa yang berbeda dalam setiap asam cuka, perbedaan ini disebabkan adanya perbedaan bahan baku apel yang digunakan serta perlakuan yang berbeda saat proses fermentasinya (Karim, 2011). Kandungan fenol dan asam asetat dalam cuka apel diyakini mempunyai khasiat berupa antioksidan alami yang mampu menangkal radikal bebas dalam tubuh. Fenol berfungsi sebagai antioksidan dengan menurunkan lipid peroksidasi sehingga mencegah kerusakan sel hepar. Asam asetat juga berperan dalam aktivitas antioksidan berupa perbaikan kadar enzim hepar dan menaikkan GSH (Mohamad *et al*, 2015). Selain itu, cuka apel mengandung nutrisi yang sama dengan apel, yaitu pektin, beta karoten, potasium, enzim, dan asam amino yang terbentuk selama proses fermentasi. Kandungan potasium yang tinggi mendorong pembentukan sel, jaringan dan organ tubuh, sementara enzim membantu meningkatkan reaksi kimia dalam tubuh. Cuka sari buah apel juga mengandung kalsium yang menjaga kesehatan tulang, membantu mengalirkan gerak saraf, dan mengatur kontraksi otot sedangkan zat besi yang penting bagi kesehatan darah. Magnesium adalah komponen lain yang banyak bermanfaat bagi tubuh terutama jantung (Pranowo, 2006).

Salah satu cuka apel yang telah banyak beredar di masyarakat adalah Tahesta. Cuka apel Tahesta memiliki kandungan sebagai berikut (Tahesta, 2015).

Tabel 2.3 Kandungan cuka apel Tahesta

Kandungan	Jumlah
Protein	0 g
Lemak	0 g
Karbohidrat	5,597 g
Serat kasar	1,139 g
Kalium	16,843 mg
Kalsium	4,346 mg
Magnesium	0,0086 mg
Besi	0,257 mg
Boron	0,891 mg
Total karoten	0,599 µg
Vitamin C	13,706 mg
Antosianin	14,399 ppm
Total Asam	6,23%

Sumber: Tahesta (2015).

2.4 Antioksidan

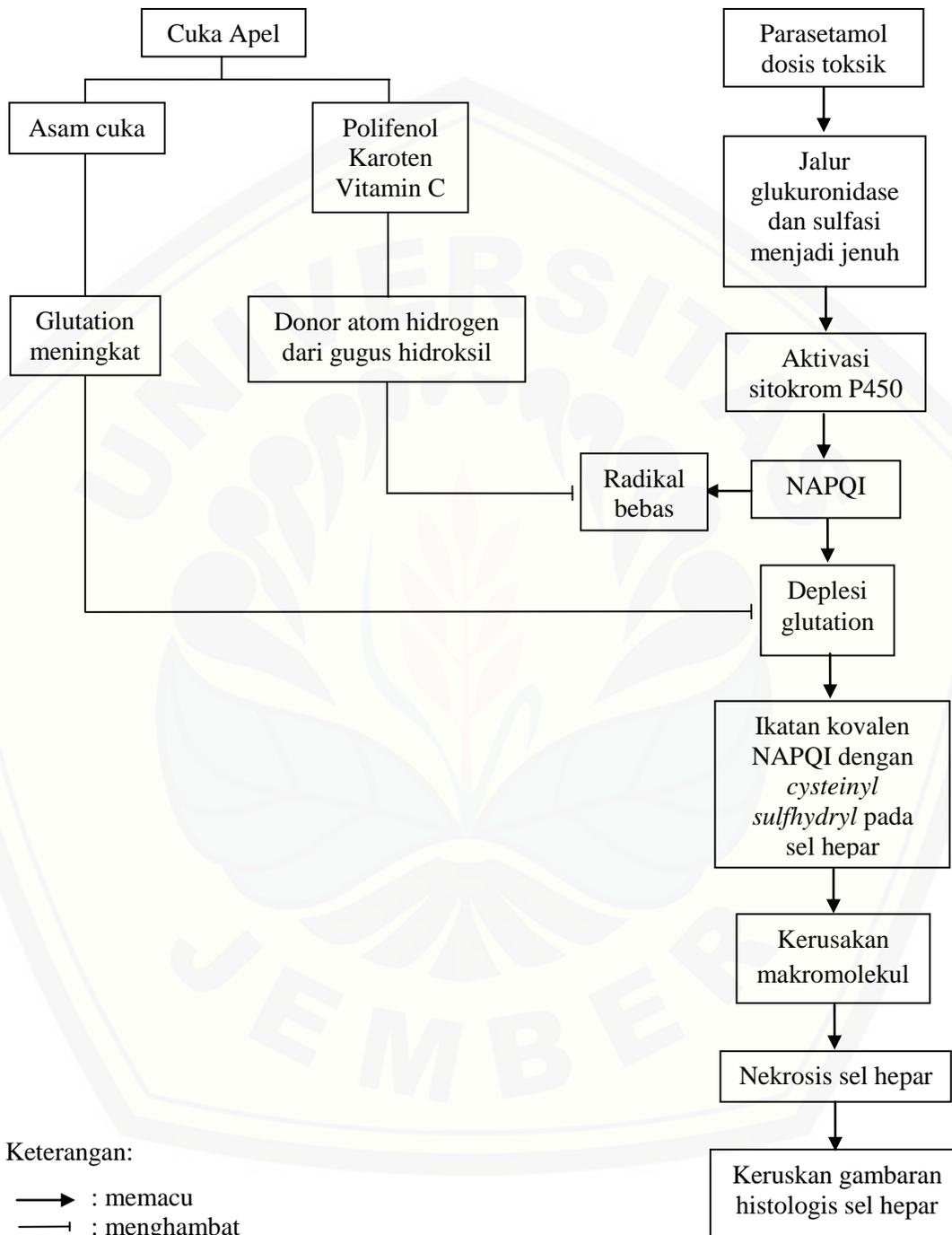
Antioksidan adalah substansi yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul yang tidak stabil yaitu radikal bebas. Antioksidan berinteraksi dan menstabilkan radikal bebas, serta mencegah kerusakan yang akan ditimbulkan radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan kanker. Contoh dari antioksidan adalah beta-karoten, likopen, vitamin C, E, A dan lain-lain. Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat atau mencegah proses oksidasi dari molekul lainnya. Oksidasi adalah reaksi kimia suatu substansi yang memberikan elektronnya kepada pengoksidasi. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas, dan memulai siklus reaksi pengrusakan sel. Antioksidan mengakhiri siklus reaksi ini dengan membuang radikal bebas antara dan mencegah reaksi oksidasi lainnya dengan mengoksidasi diri sendiri, sehingga antioksidan akan sering menjadi agen pereduksi, seperti tiol, asam askorbat, atau polifenol.

Walaupun reaksi oksidasi sangat penting bagi tubuh, reaksi ini juga dapat berbahaya. Dimana pada tumbuhan maupun hewan mengandung sistem kompleks dari berbagai antioksidan seperti, glutathione, vitamin C, dan vitamin E, maupun enzim antioksidan seperti katalase, superoksida dismutasi, dan berbagai macam peroksidase.

Kadar antioksidan yang rendah maupun inhibisi enzim antioksidan menyebabkan stres oksidatif dan mampu menyebabkan kerusakan bahkan membunuh sel. Stres oksidatif mempunyai peran besar dalam menyebabkan penyakit seperti stroke, neurodegeneratif, kanker, dan penyakit jantung koroner (Hamid, *et al*, 2010)



2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep

Pada kondisi normal, parasetamol mengalami glukuronidasi dan sulfasi yang 80% nya dikonjugasi dengan asam glukoronat dan sebagian kecil lainnya dengan asam sulfat. Selain itu, dalam jumlah kecil diubah menjadi metabolit reaktif berupa senyawa antara yang reaktif dan toksik, yaitu Nasetil- p-benzoquinonimin (NAPQI). Metabolit NAPQI dibentuk dengan adanya bioaktivasi parasetamol melalui sistem sitokrom P-450. Metabolit tersebut kemudian didetoksifikasi oleh glutation hati (GSH) menjadi non toksik. Pada dosis tinggi, jalur konjugasi parasetamol oleh asam glukoronat dan asam sulfat menjadi jenuh sehingga banyak menjadi metabolit NAPQI yang mengakibatkan penurunan GSH. NAPQI akan membentuk ikatan kovalen dengan protein sel hati secara *irreversible* sehingga akan menyebabkan terjadinya degenerasi bahkan sampai nekrosis sel hati. Selain itu, NAPQI juga akan mempermudah radikal bebas lainnya untuk menyebabkan kerusakan pada sel hepar. Cuka apel mengandung antioksidan yang dapat mencegah kerusakan sel hepar oleh radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen pada gugus hidroksilnya dan asam cuka yang dapat meningkatkan kadar GSH. Apabila kadar GSH meningkat dan antioksidan luar ikut berperan, maka metabolit NAPQI yang akan berikatan dengan sel hepar dan menyebabkan nekrosis sel hati akan menurun sehingga mampu mencegah nekrosis sel hepar.

2.6 Hipotesis Penelitian

Pemberian cuka apel *Anna* dosis 0,4 ml/200 gram BB memiliki efek hepatoprotektor terhadap kerusakan histologis sel hepar wistar yang diinduksi parasetamol.

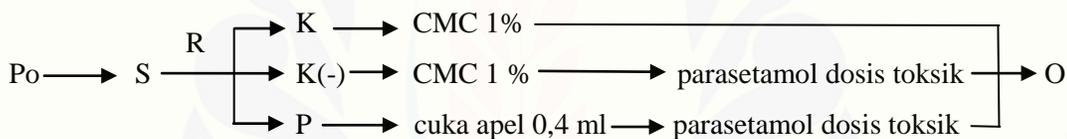
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental laboratories*. Penelitian ini bertujuan mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.2.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

Po : Populasi

R : Randomisasi sampel

S : Sampel

K : Kelompok kontrol dengan pemberian CMC (*carboxymethyl cellulose*) 1% selama 14 hari

K(-) : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian CMC (*carboxymethyl cellulose*) 1% selama 14 hari dan parasetamol dosis toksik 291,6 mg/200 gram BB pada hari ke-12, 13, dan 14

P : Kelompok perlakuan dengan pemberian cuka apel 0,4 ml/200 gram BB per oral selama 14 hari dan parasetamol dosis toksik 291,6 mg/200 gram BB satu jam setelahnya pada hari ke-12, 13, dan 14

O : Observasi gambaran histopatologi kerusakan sel hepar secara mikroskopis

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah Tikus Jantan *Rattus norvegicus* galur Wistar yang diperoleh dari peternakan tikus yang ada di Malang.

3.3.2 Sampel

Pada penelitian ini terdapat kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk membuat homogen sampel yang akan digunakan. Kriteria inklusi sampel penelitian adalah:

- a. *Rattus norvegicus* galur wistar jantan;
- b. tikus bulu putih dan sehat (bergerak aktif);
- c. umur 2-3 bulan;
- d. berat 150-200 gram.

Kriteria eksklusi sampel penelitian adalah:

- a. tikus yang sakit sebelum proses randomisasi;
- b. tikus yang mati sebelum proses randomisasi.

3.3.3 Jumlah Sampel

Sampel dipilih dengan menggunakan teknik *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi 3 kelompok. Penelitian eksperimen dengan rancangan acak lengkap, acak kelompok, atau faktorial sederhana untuk estimasi jumlah pengulangan atau besar sampel dalam penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus *Federer* sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$2r \geq 15 + 2$$

$$r \geq 8 \sim 9$$

Keterangan:

r = jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

t = jumlah kelompok perlakuan

Besar sampel yang dibutuhkan berdasarkan perhitungan dengan rumus di atas minimal sebanyak 9 ekor tikus masing-masing kelompok. Jadi dalam penelitian ini jumlah sampel yang digunakan untuk 3 kelompok adalah 27 ekor tikus.

3.4 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di tiga tempat, yaitu Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan sampel tikus, Laboratorium Parasitologi untuk mengambil foto gambaran histologi sel hepar sampel, dan Laboratorium Patologi Anatomi untuk pembacaan preparat pada Bulan November sampai Desember 2015.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah cuka apel *Anna*.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kerusakan histologis sel hepar tikus.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. usia tikus, yaitu 2-3 bulan;
- b. jenis kelamin jantan dan galih hewan coba, yaitu *Rattus novergicus* galur wistar;
- c. berat badan tikus 150-200 gram;
- d. pemeliharaan dan perlakuan hewan coba;
- e. lama perlakuan hewan coba;
- f. dosis dan frekuensi pemberian parasetamol;
- g. frekuensi pemberian cuka apel Tahesta.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Cuka Apel

Cuka apel *Anna* adalah cuka apel Tahesta yang pembuatannya berasal dari Apel Anna dengan dosis 0,4 ml/200 gram BB per hari.

3.6.2 Kerusakan Histologis Sel Hepar

Pengamatan kerusakan histologis sel hepar tikus dilakukan secara umum meliputi gambaran degenerasi dan nekrosis sel hepar. Gambaran degenerasi sel hepar, yaitu ada atau tidaknya respon sel inflamasi, sitoplasma keruh atau granula meningkat, pembengkakan sel (*blebbing*), vakuola lemak pada sitoplasma (*microvesicular* atau *macrovesicular*), dan inti sel terdesak ke tepi. Gambaran nekrosis sel hepar, yaitu inti piknotik atau memadat, karioreksis atau fragmentasi inti sel, dan kariolisis atau hilangnya inti. Untuk membedakan tingkat keparahan sel hepar antara satu tikus dengan tikus lainnya, peneliti mengklasifikasikannya ke dalam empat kategori berdasarkan persentase rata-rata sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis (Dewi, 2006), yaitu:

0 : tidak terjadi kerusakan sel hepar

1 : < 25% sel-sel hepar mengalami degenerasi

2 : 25%-50% sel-sel hepar mengalami degenerasi

3 : > 50% sel-sel hepar mengalami degenerasi dan atau sel-sel hepar mengalami nekrosis

Perbesaran yang digunakan adalah perbesaran 100 kali untuk menentukan persentase rata-rata sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis dari seluruh lapangan pandang, perbesaran 400 kali digunakan untuk mengamati ciri-ciri sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis secara detil. Pengamatan saat penelitian menggunakan mikroskop *Olympus*. Data hasil pengamatan berdasarkan tingkat keparahan sel hati dianalisis secara statistik.

3.6.3 Parasetamol dosis toksik

Parasetamol dosis toksik adalah dosis $\frac{3}{4}$ LD₅₀ parasetamol pada tikus wistar per hari, yaitu 291,6 mg parasetamol yang dilarutkan dalam larutan CMC 1%.

3.7 Bahan dan Alat Uji

3.7.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- bahan untuk pemeliharaan tikus adalah makanan standar, akuades, minuman, dan sekam;
- bahan untuk kelompok perlakuan adalah cuka apel Tahesta;
- bahan untuk induksi adalah parasetamol dalam larutan CMC;
- bahan untuk kontrol normal adalah larutan CMC;
- bahan untuk terminasi dan pengambilan organ hepar adalah eter, hepar tikus, dan formalin 10%;
- bahan pembuatan preparat histologis wistar dengan pengecatan HE.

3.7.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- alat untuk pemeliharaan tikus adalah bak plastik ukuran 40 cm x 15 cm x 10 cm, penutup kawat ukuran 40 cm x 15 cm x 10 cm, botol air, dan label;
- alat untuk menyonde tikus adalah *hand scoon*, masker, *beaker glass*, pengaduk, dan spuit sonde;
- alat yang digunakan untuk terminasi dan pengambilan organ hepar adalah toples, kapas, *minor set*, *hand scoon*, dan plastik;
- alat untuk pemeriksaan histopatologi hepar adalah mikroskop.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Pembuatan Sediaan Cuka Apel Tahesta

Dosis cuka apel yang digunakan sebagai antioksidan pada penelitian sebelumnya adalah 0,4 ml untuk wistar 200 gram (Zubaidah, 2011). Dosis diberikan sesuai dengan berat badan masing-masing sampel.

3.8.2 Pembuatan Sediaan Parasetamol

LD-50 untuk tikus wistar secara per oral yang telah diketahui adalah 1944 mg/kg BB atau 388,8 mg/200 gram BB tikus. Dosis parasetamol yang dapat menimbulkan efek kerusakan hepar berupa nekrosis sel hepar tanpa menyebabkan kematian mencit adalah dosis $\frac{3}{4}$ LD-50 per hari (Shiddiqi, 2008). Dosis yang digunakan adalah $388,8 \text{ mg/200 gram BB} \times 0,75 = 291,6 \text{ mg/200 gram BB}$ tikus. Parasetamol 500 mg dilarutkan dalam 4 ml CMC 1% sehingga didapatkan larutan parasetamol 125 mg/ml. Dosis diberikan sesuai dengan berat badan masing-masing sampel.

Parasetamol diberikan selama 3 hari berturut-turut, yaitu pada hari ke-12, 13, dan 14. Pemberian parasetamol dengan cara ini dimaksudkan untuk menimbulkan kerusakan pada sel hepar berupa nekrosis pada daerah sentrolobularis tanpa menimbulkan kematian pada tikus (Yugo, 2011).

3.8.3 Perlakuan terhadap Hewan Coba

Sejumlah 27 ekor tikus jantan wistar ditempatkan dalam kandang dengan diberi makan dan minum standar secara *ad libitum* dan diadaptasikan selama satu minggu, tikus dibagi menjadi 3 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas 9 ekor tikus yang dipilih secara acak. Kelompok kontrol normal diberi CMC 1% selama 14 hari. Kelompok kontrol negatif diberi CMC 1% selama 14 hari dan diinduksi parasetamol satu jam setelah pemberian CMC 1% pada hari ke-12, 13, dan 14. Kelompok perlakuan diberi cuka apel Tahesta selama 14 hari dan diinduksi parasetamol satu jam setelah pemberian cuka apel Tahesta pada hari ke-12, 13, dan

14. Pada hari ke-15 dilakukan terminasi seluruh kelompok tikus dengan cara pembiusan menggunakan larutan eter, kemudian diambil jaringan hepar.

3.8.4 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar Wistar

Organ hepar diambil dan dipotong, kemudian difiksasi dalam larutan formalin 10%. Selanjutnya organ hepar melalui tahap dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan dengan mikrotom setebal 4 μm , staining atau proses pewarnaan menggunakan *hematoksilin eosin* (HE). Setelah dikeringkan dan ditutup dengan *cover glass* (*mounting*), preparat siap diperiksa di bawah mikroskop.

3.8.5 Pengukuran Hasil

Pengamatan kerusakan histologis sel hepar tikus dilakukan secara umum meliputi gambaran degenerasi dan nekrosis sel hepar. Gambaran degenerasi sel hepar, yaitu ada atau tidaknya respon sel inflamasi, sitoplasma keruh atau granula meningkat, pembengkakan sel (*blebbing*), vakuola lemak pada sitoplasma (*microvesicular* atau *macrovesicular*), dan inti sel terdesak ke tepi. Gambaran nekrosis sel hepar, yaitu inti piknotik atau memadat, karioreksis atau fragmentasi inti sel, dan kariolisis atau hilangnya inti. Untuk membedakan tingkat keparahan sel hepar antara satu tikus dengan tikus lainnya, peneliti mengklasifikasikannya ke dalam empat kategori berdasarkan persentase rata-rata sel hepar yang mengalami degenerasi dan nekrosis (Dewi, 2006), yaitu:

0 : tidak terjadi kerusakan sel hepar

1 : < 25% sel-sel hepar mengalami degenerasi

2 : 25%-50% sel-sel hepar mengalami degenerasi

3 : > 50% sel-sel hepar mengalami degenerasi dan atau sel-sel hepar mengalami nekrosis

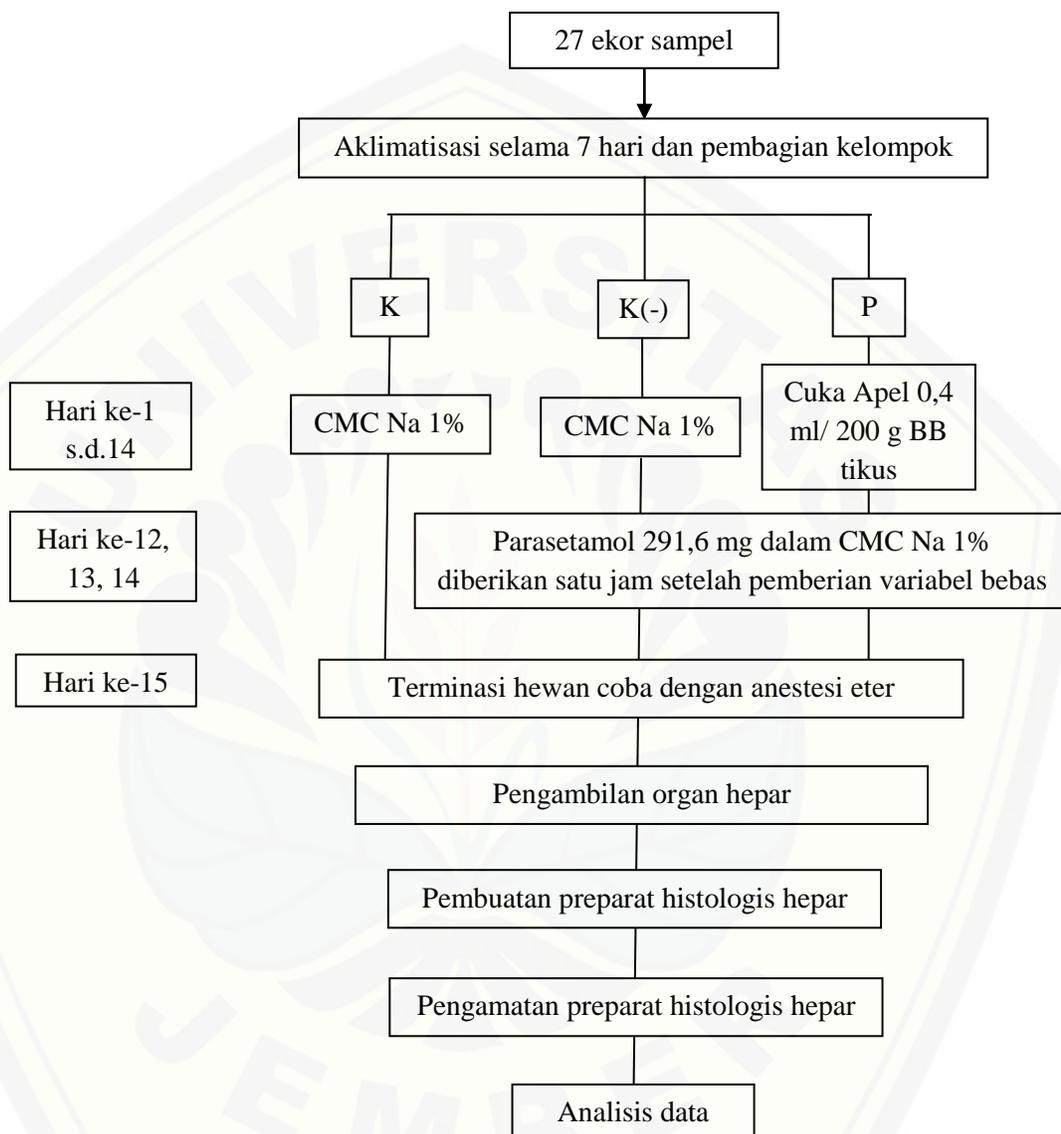
3.9 Analisis Data

Dari hasil pemeriksaan kerusakan histologis sel hepar didapatkan data tingkatan kerusakan sel hepar tikus berupa data semikuantitatif. Data tersebut akan diuji dengan analisis statistik *Kruskal Wallis*. Apabila hasil yang didapat signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc Mann Whitney*.



3.10 Alur Penelitian

Gambar perlakuan terhadap hewan coba.



Gambar 3.2 Perlakuan terhadap hewan coba