

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar sebagai hewan coba. Mekanisme dasar dalam pengaturan perkembangan hepar pada tikus, seperti halnya spesies vertebrata lain, mempunyai kemiripan dengan manusia. Sehingga studi dengan memakai tikus secara bermakna dapat dipakai untuk menggantikan hepar manusia sebagai bahan percobaan.⁴⁹

Karena penelitian dilakukan pada dua kelompok perlakuan, maka tikus yang dipakai sebanyak 12 ekor. Hal ini sesuai dengan rekomendasi WHO bahwa untuk penelitian pada hewan coba, sebaiknya memakai jumlah hewan coba seminimal mungkin (5-6 ekor tiap kelompok perlakuan) yang masih memungkinkan untuk uji statistik (memenuhi prinsip *Reduction* dari “3R”)⁵⁰.

Walaupun tikus telah diberi dosis toksik asetaminofen, tidak didapatkan tikus yang mati pada akhir percobaan.. Hal ini terjadi karena sel hepatosit tikus mempunyai kemampuan regenerasi yang lebih besar dibandingkan manusia. Pada kerusakan hepar yang hebat, tikus mampu melakukan regenerasi sampai 75 % sel yang rusak dalam waktu 1 bulan⁴⁹.

Pemberian asetaminofen dosis toksik menyebabkan akumulasi NAPQI yang berlebih di hepar. Target sel yang terkena efek langsung dari akumulasi NAPQI di hepar adalah sel hepatosit. Kematian sel hepatosit melewati dua cara, yaitu nekrosis dan apoptosis. Nekrosis sel ditandai dengan pembengkakan sel, kebocoran membran dan

disintegrasi inti. Apoptosis ditandai dengan penyusutan sel, fragmentasi inti serta pembentukan badan-badan apoptotik. Secara histologis apoptosis lebih sulit dideteksi, sedangkan sel yang nekrotik dapat bertahan sampai beberapa hari. Saat kematian hepatosit terjadi, enzim-enzim sitosolik hepatosit dapat dideteksi di dalam plasma. Enzim sitosolik hepatosit yang paling banyak untuk menilai derajat kerusakan hepatosit adalah Alanine Aminotransferase (ALT). Selain kadar ALT darah, kadar AST juga dapat dipakai sebagai tolok ukur derajat kerusakan hepatosit walaupun kurang spesifik. Meskipun demikian, hasil bagi antara kadar AST dengan ALT (rasio de ritis) dapat dipakai sebagai kontrol, apakah kelainan pada hepar berlangsung akut atau kronik²⁵. Pada penelitian ini, rasio de ritis semua sampel adalah kurang dari 1,5 yang menunjukkan bahwa proses keracunan terjadi secara akut.

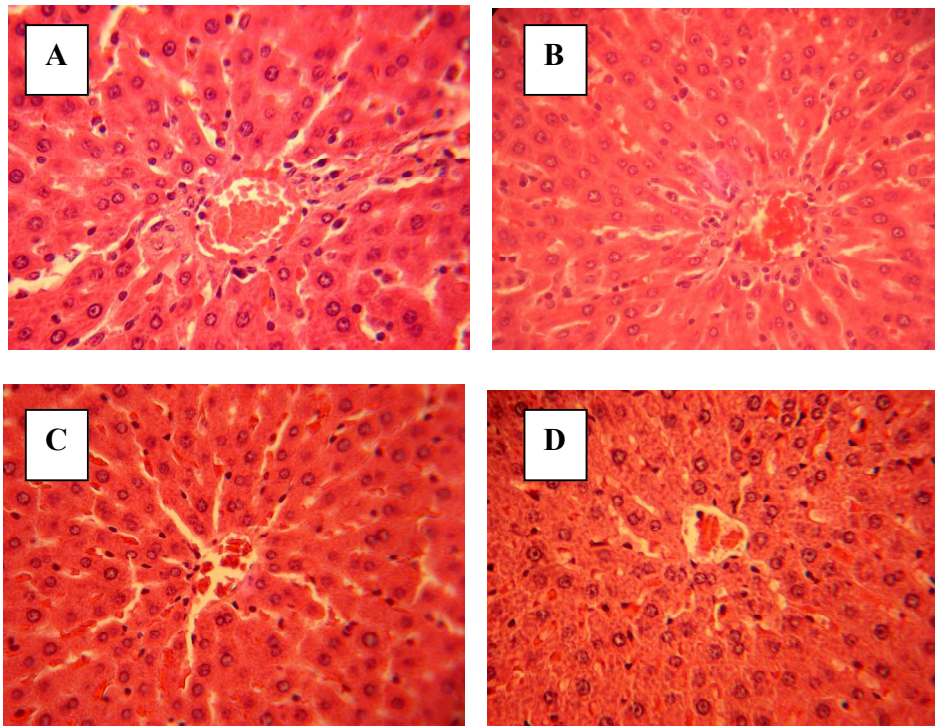
Sementara itu, Pada penelitian ini didapatkan nekrosis di zone sentral pada kelompok perlakuan dengan kerusakan moderat (26 – 40 %) terjadi pada 4 sampel. Sedangkan nekrosis dengan derajat berat terjadi pada 2 sampel. Sementara itu, pada kelompok kontrol terjadi kerusakan sangat berat (> 50%) pada 4 sampel serta kerusakan sedang (26 – 40 %) dan berat (41 – 50 %) masing-masing pada satu sampel. Pada uji kolmogorov-smirnov didapatkan perbedaan bermakna derajat kerusakan hepatosit di zona sentral antara kelompok kontrol dan perlakuan.

Walaupun terdapat perbedaan derajat kerusakan pada zona sentral, namun pada pemeriksaan ALT darah tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini dapat terjadi karena pemberian asetaminofen *pretreatment* mengubah lokasi metabolisme asetaminofen dan formasi NAPQI.

Sitokrom P450 (terutama fraksi CYP2E1 dan CYP1A2) di zone sentral menjadi *down regulated* dan metabolisme asetaminofen bergeser ke periportal. NAPQI yang terbentuk sebagai hasil reaksi antara CYP2E1 ataupun CYP1A2 tidak terkonsentrasi di zone sentral saja, namun juga terjadi pada seluruh area hepar memiliki gradien yang berbeda dengan konsentrasi terbesar di zone sentral. Glutathion yang terdapat dalam jumlah besar di periportal menyebabkan NAPQI yang terbentuk di periportal dapat di metabolisme secara efektif menjadi bentuk yang tidak aktif. Setelah pemberian dosis toksik asetaminofen, metabolit toksik (NAPQI) juga terdistribusi sampai ke periportal dengan jumlah yang lebih besar dibandingkan *pretreatment*. Karena kadar glutathion lebih banyak di periportal dibandingkan midzone dan zone sentral, maka jumlah ikatan kovalen NAPQI dengan hepatosit secara gradual juga lebih banyak di zone sentral dibandingkan midzone dan periportal. Keadaan ini menyebabkan beberapa konsekuensi:

- Sel yang mengalami nekrosis di zone sentral menjadi lebih sedikit dibandingkan kontrol.
- Ikatan kovalen antara hepatosit dengan NAPQI yang tersebar di mid zone dan periportal yang tidak sebanyak di zone sentral menyebabkan tidak seluruh mitokondria di dalam hepatosit di kedua zona tersebut berikatan kovalen dengan NAPQI. Hal ini menyebabkan aktivasi caspase pada beberapa sel di luar zone sentral, sehingga terjadi apoptosis di luar zone sentral. Sel yang mengalami apoptosis juga melepaskan ALT kedalam darah.
- Secara keseluruhan, dalam lobulus hepar terjadi kematian hepatosit dalam jumlah yang relatif sama antara kelompok Perlakuan dengan kelompok Kontrol. Namun mekanisme kematian dengan cara nekrosis hepatosit lebih banyak terjadi pada

kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok Perlakuan mekanisme kematian hepatosit dengan cara nekrosis dan apoptosis. Hal ini yang menyebabkan kadar ALT darah pada kedua kelompok tidak berbeda bermakna.



Gambar 10. Gambaran histopatologi hepar 6 hari setelah dosis toksik asetaminofen pada kelompok kontrol (gambar A dan B) serta pada kelompok perlakuan (gambar C dan D)

Selain itu, produksi glutathion yang lebih efektif di area periportal setelah pemberian asetaminofen *pretreatment* menyebabkan terjadinya peningkatan kemampuan detoksifikasi NAPQI. Hal ini membuat rerata kadar ALT setelah pemberian asetaminofen *pretreatment* tidak jauh berbeda secara bermakna dibandingkan dengan awal penelitian. Demikian pula setelah pemberian dosis toksik asetaminofen, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kadar ALT setelah pemberian asetaminofen *pretreatment* dibandingkan dengan setelah

pemberian dosis toksik asetaminofen. Walaupun demikian, terdapat perbedaan bermakna rerata kadar ALT awal penelitian dengan akhir penelitian pada kelompok Perlakuan yang menunjukkan bahwa pemberian asetaminofen *pretreatment* tidak memberikan efek protektif pada sel hepatosit secara keseluruhan.