

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

Tikus jantan galur *Sprague dawley* yang digunakan dalam penelitian ini berumur 9 minggu sebanyak 18 ekor dibagi menjadi 3 kelompok ( kontrol, P1 dan P2 ), selama penelitian semua tikus memenuhi kriteria inklusi dan semua tikus hidup sampai akhir penelitian. Pengolahan data menggunakan SPSS 17.0 version for windows

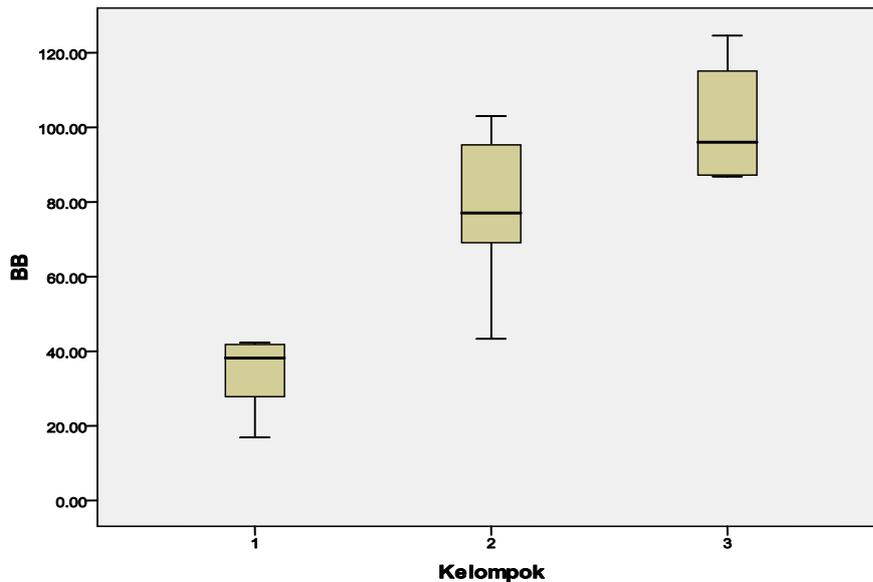
#### V.1 Perkembangan dan Status Nutrisi Tikus

##### V.1.1. Pertambahan Berat Badan

Berat badan tikus ditimbang setiap minggu menggunakan timbangan elektrik dengan ukuran gram. Pertambahan berat badan tikus untuk semua kelompok ( K, P1 dan P2 ) setiap minggu naik secara konsisten sampai 8 minggu perlakuan. Rerata pertambahan berat badan tikus yang ditunjukkan dalam tabel 3, kelompok P2 yang diberi asam lemak *trans* 10 % menunjukkan rerata tertinggi dengan rata-rata 100,95 gram dibandingkan kelompok kontrol maupun kelompok yang diberi asam lemak *trans* 5 %.

Tabel 3. Rerata pertambahan berat badan, berat hati, konsumsi makan dan efisiensi makan tikus

Pertambahan berat badan dan status nutrisi tikus				
Kelompok	Kenaikan Berat badan (gr)	Berat hati ( gr )	Konsumsi makan ( gr/hari )	Efisiensi makanan ( BB/ makan )
K	$34,18 \pm 10,04$	$7,80 \pm 0,79$	$14,72 \pm 1,31$	2,32
P1	$77,47 \pm 21,55$	$10,68 \pm 1,18$	$11,32 \pm 0,73$	6,84
P2	$100,95 \pm 16,17$	$11,52 \pm 2,44$	$12,62 \pm 0,56$	8,00



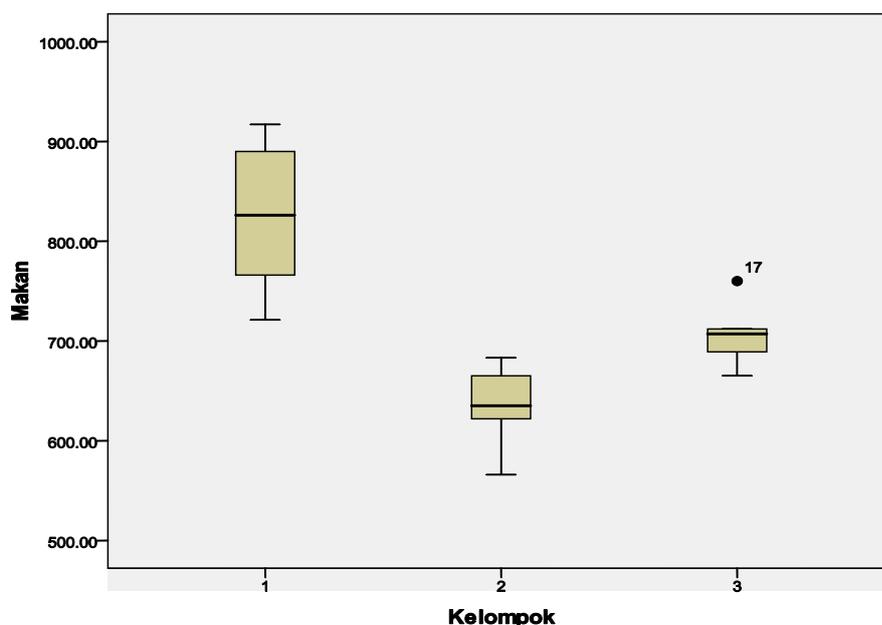
Gambar 11. Grafik *box plot* pertambahan berat badan tikus

Grafik *box plot* pertambahan berat badan tikus ( Gambar 11 ) menunjukkan median P2 tampak lebih tinggi dari median P1 dan K.

Berdasarkan hasil uji normalitas kenaikan berat badan tikus dengan *Saphiro-Wilk* didapatkan data terdistribusi normal  $p > 0,05$ , dan uji homogenitas dengan uji *Levene test* menunjukkan hasil homogen  $p > 0,05$  ( $p = 0,19$ ). Hasil uji statistik dengan *One Way Anova* menunjukkan bahwa kenaikan berat badan tikus berbeda bermakna pada semua kelompok dengan  $p < 0,05$  ( $p < 0,001$  ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok yang berbeda dilakukan dengan uji *Tukey*, hasil yang didapat adanya perbedaan bermakna pada kelompok kontrol dan perlakuan ( P1 dan P2 )  $p < 0,05$  ( $p < 0,001$ ), namun antara kelompok P1 dan P2 tidak ada perbedaan bermakna  $p > 0,05$  ( $p = 0,07$ )

### V.1.2. Konsumsi Makan Tikus

Jumlah makanan yang diberikan pada semua kelompok setiap hari adalah 20 gr, dan dilakukan penimbangan sisa makan setiap hari. Konsumsi makan tikus lebih banyak pada kelompok kontrol dengan rata-rata sebesar 14,72 gr/hari, namun uji efisiensi makanan didapat hasil paling banyak pada kelompok perlakuan sebesar P1=6,84 dan P2= 8,00 ( Tabel 3).



Gambar 12. Grafik *box plot* konsumsi makan tikus

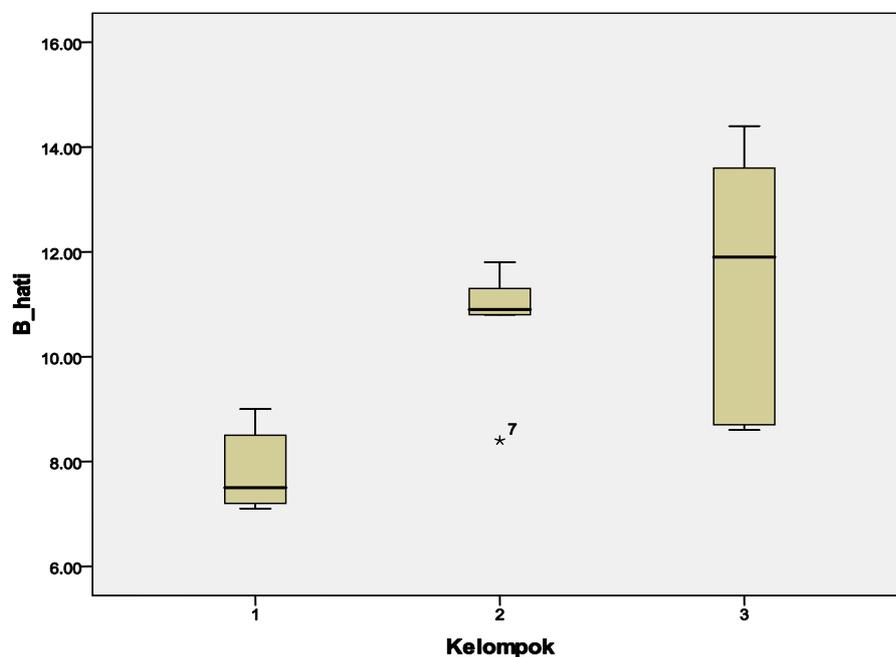
Grafik *box plot* konsumsi makan tikus ( gambar 12 ) menunjukkan median kelompok kontrol lebih tinggi dibanding kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil uji normalitas jumlah makanan yang dikonsumsi tikus dengan *Saphiro-Wilk* didapatkan data terdistribusi normal  $p>0,05$ , dan uji homogenitas dengan uji *Levene test* menunjukkan hasil homogen  $p>0,05$  ( $p=0,12$ ) sehingga dilakukan uji *One way Anova*. Hasil uji statistik *One Way Anova* menunjukkan bahwa jumlah makanan yang dikonsumsi tikus berbeda bermakna

pada semua kelompok dengan  $p < 0,05$  ( $p < 0,01$ ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok yang berbeda dilakukan dengan uji *Tukey*, hasil yang didapat adanya perbedaan bermakna pada kelompok kontrol dan perlakuan  $p < 0,05$  ( $p_1 < 0,01$  dan  $p_2 = 0,04$ ), namun kelompok P1 dan P2 tidak ada perbedaan bermakna  $p > 0,05$  ( $p = 0,07$ )

### V.1.3. Berat Hati

Rerata berat hati pada semua kelompok P2 yang diberi asam lemak *trans* 10 % lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun kelompok yang diberi asam lemak *trans* 5 %. ( tabel 3 )



Gambar 13. Grafik *box plot* berat hati tikus

Grafik *box plot* berat hati tikus ( gambar 13 ) menunjukkan median kelompok P2 lebih tinggi dibandingkan kelompok P1 dan K dan terdistribusi tidak normal dengan adanya angka yang ekstrim.

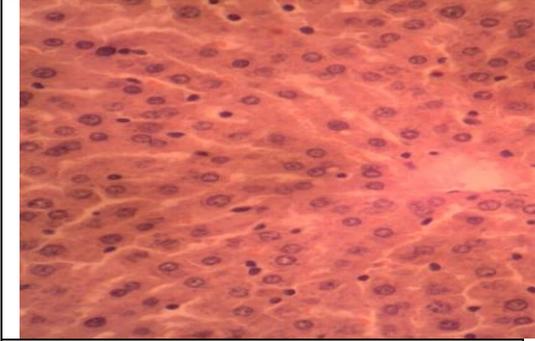
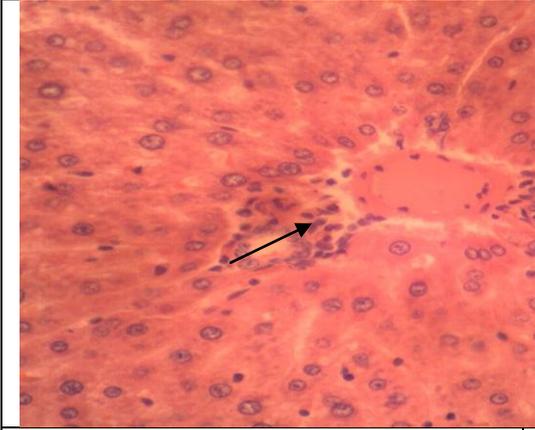
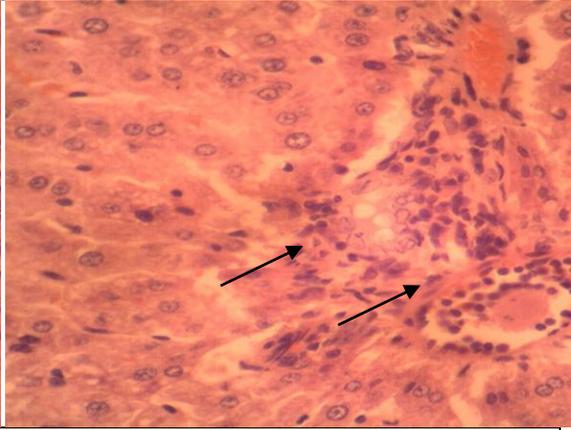
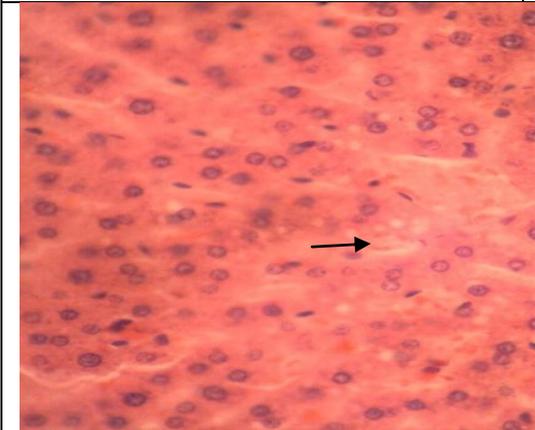
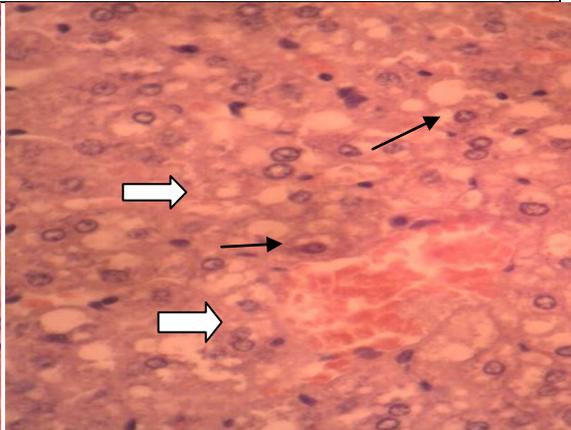
Berdasarkan hasil uji normalitas berat hati tikus dengan *Saphiro-Wilk* didapatkan data terdistribusi tidak normal  $p < 0,05$  sehingga dilakukan uji non parameter *Kruskal-Wallis*. Hasil uji statistik dengan *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa berat hati tikus berbeda bermakna pada semua kelompok dengan  $p < 0,05$  ( $p = 0,008$ ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilakukan dengan uji *Mann-Whitney*, hasil yang didapatkan ada perbedaan bermakna pada kelompok kontrol dan perlakuan  $p < 0,05$  ( $p = 0,01$ ), namun kelompok P1 dan P2 tidak ada perbedaan bermakna  $p > 0,05$  ( $p = 0,27$ )

## **V.2. Histopatologi Sel Hepar Tikus**

Histopatologi hati tikus diperiksa di Laboratorium Patologi Akurat Semarang dengan pewarnaan HE dianalisis oleh ahli patologi yang sudah berpengalaman. Histopatologi hati pada tikus dengan diet standar menunjukkan morfologi yang normal, tidak ditemukan adanya steatosis (perlemakan hati), ditemukan sedikit adanya sel radang namun sangat jarang yang terdiri dari limfosit, dan degenerasi *ballooning* juga tidak ditemukan

Kelompok P 1 dengan asam lemak *trans* 5 % ditemukan adanya perubahan pada histopatologi hati, ditemukan adanya steatosis dan inflamasi lobuler derajat ringan ke sedang, dan degenerasi *ballooning* sangat jarang ditemukan hanya ada pada 1 ekor tikus dengan jumlah yang sedikit.

Kelompok perlakuan 2 dengan asam lemak *trans* 10 % ditemukan adanya perubahan jaringan dengan steatosis dan inflamasi lobular ditemukan pada semua tikus dengan derajat sedang hingga berat dan degenerasi *ballooning* rata-rata ditemukan dalam jumlah yang sedikit. ( gambar.14 )

	
Jaringan hati normal kelompok kontrol ( pembesaran 400X )	
	
Jaringan hati kelompok P1 Dengan sel inflamasi derajat ringan ( pembesaran 400 X )	Jaringan hati kelompok P2 dengan sel inflamasi derajat berat ( pembesaran 400 X )
	
Jaringan hati kelompok P1 Steatosis ringan ( pembesaran 400 X )	Jaringan hati kelompok P-2 Steatosis derajat sedang ke berat ( panah tipis ) dan degenerasi <i>ballooning</i> yang sedikit. ( panah tebal ) ( pembesaran 400 X )

Gambar 14. histopatologi hepar tikus

### V.2.1 Steatosis hati

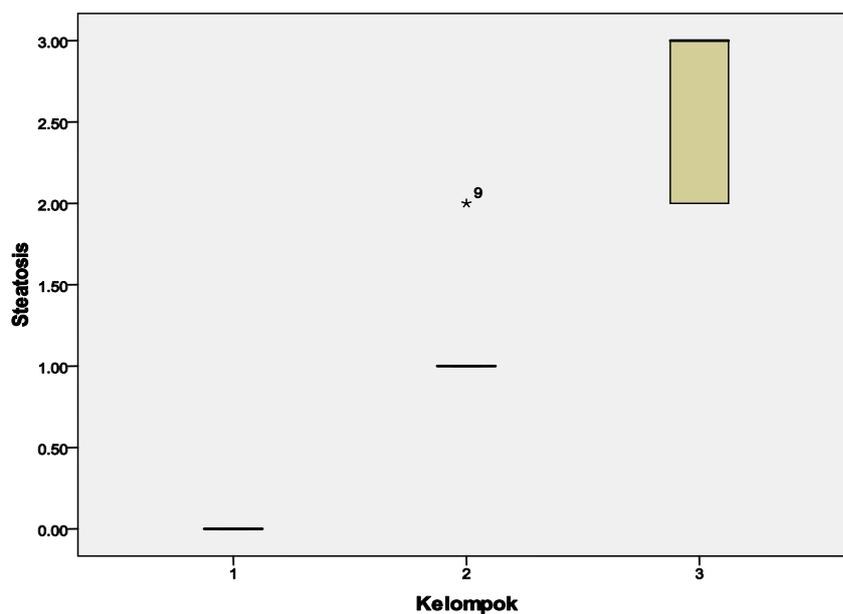
Steatosis hati hanya ditemukan pada kelompok perlakuan. Rerata derajat steatosis disajikan pada tabel 4, dimana kelompok yang diberi asam lemak *trans* mengalami steatosis hati, dan pemberian asam lemak *trans* 10 % menunjukkan rerata derajat steatosis tertinggi yaitu 2,67 dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok asam lemak *trans* 5 %..

Tabel.4. Rerata Steatosis semua tikus

Kelompok	Rerata $\pm$ SD	Median
K	0	0
P1	1,17 $\pm$ 0,41	1,00
P2	2,67 $\pm$ 0,52	3,00

$p^*$  <0,01

Ket :  $p^*$  = *Kruskal-Wallis*  $p < 0,05$



Gambar 15. Grafik *box plot* derajat steatosis hepatosit

Gambar *box plot* steatosis hepatosit ( gambar 15 ) menunjukkan median perlakuan P2 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P1 dan K, memiliki nilai ekstrim pada P1, sehingga data tidak terdistribusi normal

Berdasarkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* data derajat steatosis semua tikus pada tiap kelompok menunjukkan distribusi tidak normal  $p < 0,05$  ( $p = 0,01$ ), maka dilakukan uji nonparametrik menggunakan *Kruskal-Wallis*. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok penelitian dengan  $p < 0,05$  ( $p < 0,001$  ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji *Mann-Whitney*, hasil uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada semua kelompok dengan signifikansi  $p < 0,05$ . Nilai signifikansi hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Ringkasan nilai signifikansi ( $p$ ) hasil uji *post Hoc test Mann-Whitney* antar kelompok untuk rerata derajat steatosis hati

Kelompok	Nilai Media	Nilai-p
K dan P1	Kontrol dan dosis 5 %	0,01
K dan P2	Kontrol dan dosis 10%	0,002
P1 dan P2	Dosis 5 % dan 10 %	0,004

### V.2.2 Inflamasi lobular hati

Inflamasi Lobular hati hanya ditemukan pada kelompok P1 dan P2 . Rerata derajat inflamasi lobuler disajikan pada tabel 6, dimana kelompok yang diberi asam lemak *trans* mengalami inflamasi lobuler dan pemberian asam lemak

*trans* 10 % menunjukkan rerata derajat inflamasi tertinggi yaitu 3,00 dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok asam lemak *trans* 5 %.

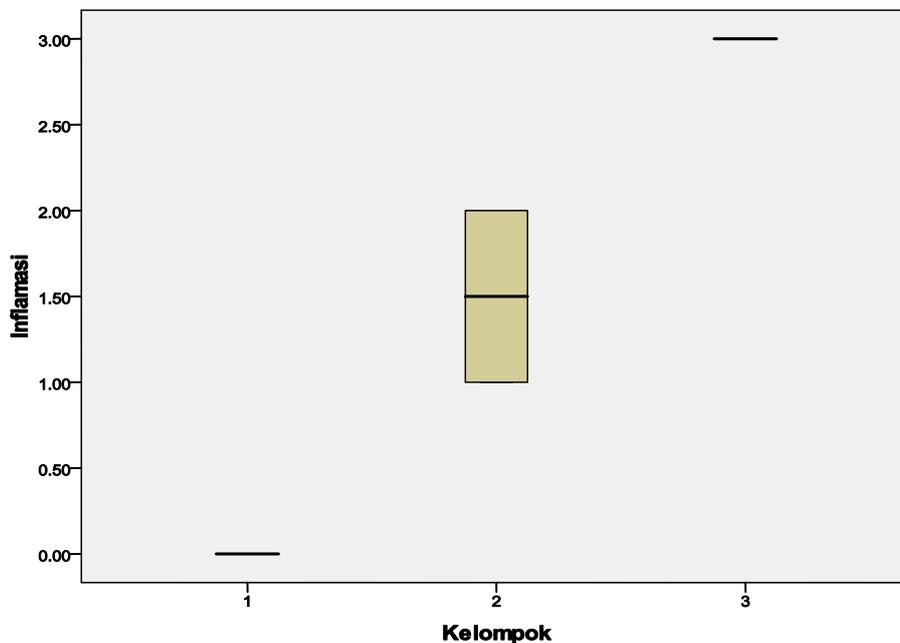
Tabel 6. Rerata Inflamasi Lobular hati semua tikus

Kelompok	Rerata $\pm$ SD	Median
K	0	0
P1	1,50 $\pm$ 0,55	1,50
P2	3,00 $\pm$ 3,00	3,00

$p^*$

<0,001

Ket :  $p^* = \text{Kruskal Wallis } p < 0,05$



Gambar 16. Grafik *box plot* derajat inflamasi lobuler hati

Grafik *box plot* derajat inflamasi lobuler tikus ( gambar 16 ) menunjukkan median P2 lebih tinggi dari P1 dan K, serta data yang terdistribusi tidak normal.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* data derajat inflamasi lobuler semua tikus pada tiap kelompok menunjukkan distribusi tidak normal  $p < 0,05$  maka dilakukan uji nonparametrik menggunakan *Kruskal-Wallis*. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok

penelitian dengan  $p < 0,05$  ( $p < 0,001$ ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji *Mann-Whitney*, hasil uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada semua kelompok dengan signifikansi  $p < 0,05$ . Nilai signifikansi hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Ringkasan nilai signifikansi ( $p$ ) hasil uji *post Hoc test Mann-Whitney* antar kelompok untuk rerata derajat inflamasi lobuler

Kelompok	Nilai Media	Nilai-p
K dan P1	Kontrol dan dosis 5 %	0,002
K dan P2	Kontrol dan dosis 10%	0,001
P1 dan P2	Dosis 5 % dan 10 %	0,002

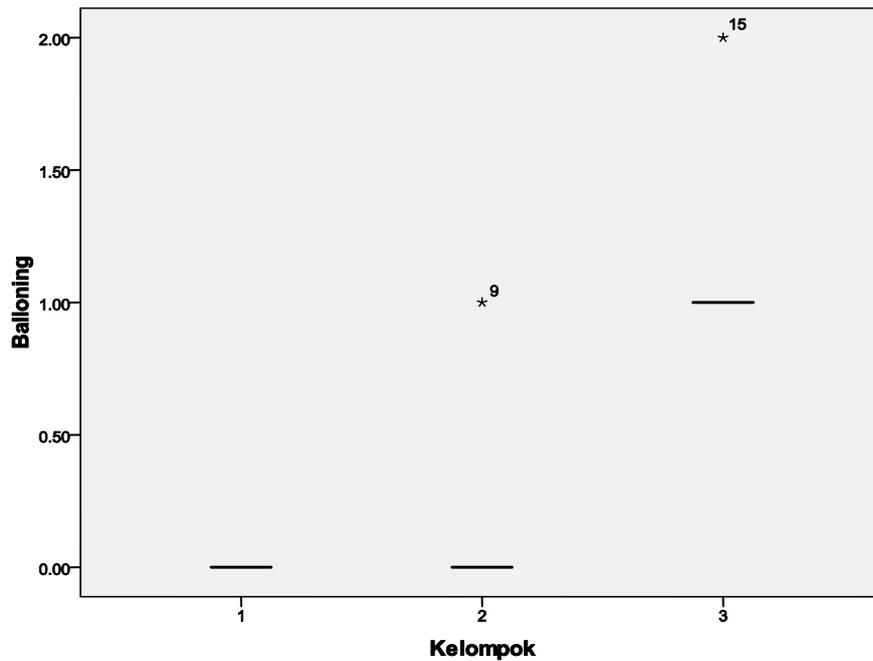
### V.2.3 Degenerasi *Ballooning*

Degenerasi *ballooning* hanya ditemukan pada kelompok perlakuan dengan asam lemak *trans*. Rerata derajat degenerasi *ballooning* disajikan pada tabel 8 dimana kelompok yang diberi asam lemak *trans* 10 % mengalami degenerasi *ballooning* lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok asam lemak *trans* 5 %.

Tabel 8. Rerata Degenerasi *Ballooning* semua tikus

Kelompok	Rerata $\pm$ SD	Median
K	0	0
P1	0,17 $\pm$ 0,41	0
P2	1,17 $\pm$ 0,41	1,00
p*	0,001	

Ket :  $p^* = \text{Kruskal -Wallis } p < 0,05$



Gambar 17. *box plot* derajat degenerasi *ballooning*

Grafik *box plot* derajat degenerasi *ballooning* ( gambar 17 ) menunjukkan median kelompok P2 lebih tinggi dari P1 dan K, serta memiliki nilai ekstrim pada P1 sehingga data tidak terdistribusi dengan normal.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* data derajat degenerasi *ballooning* semua tikus pada tiap kelompok menunjukkan distribusi tidak normal  $p < 0,05$  (0,01), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan *Kruskal -Wallis*. Hasil uji statistik *Kruskal Wallis* terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok penelitian dengan  $p < 0,05$  (0,01 ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji *Mann-Whitney*, hasil uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok P2 dengan kelompok kontrol dan P1 dengan signifikansi  $p < 0,05$ , sedangkan perbedaan antara kelompok P1 dengan

kontrol tidak ada perbedaan yang bermakna  $p > 0,05$ . Nilai signifikansi hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Ringkasan nilai signifikansi (p) hasil uji *post Hoc test Mann Whitney* antar kelompok untuk rerata derajat degenerasi *ballooning*

Kelompok	Nilai Media	Nilai-p
K dan P1	Kontrol dan dosis 5 %	0,32
K dan P2	Kontrol dan dosis 10%	0,001
P1 dan P2	Dosis 5 % dan 10 %	0,006

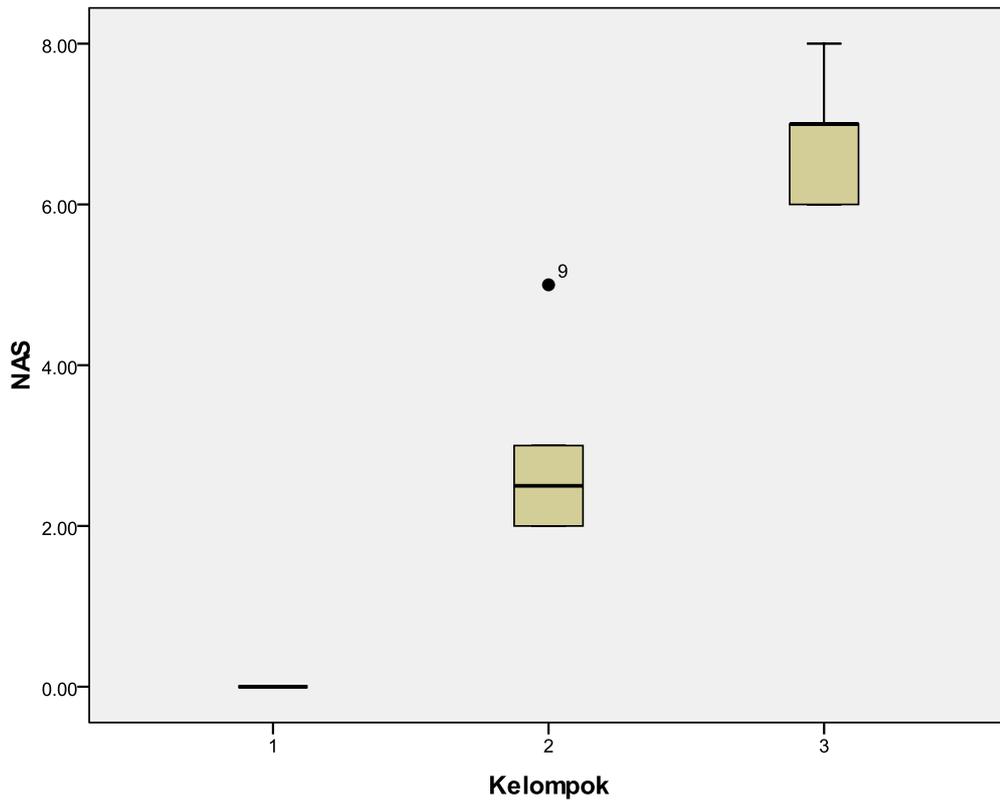
#### V.2.4. Nilai NAFLD *activity score* ( NAS )

Penghitungan skoring penyakit perlemakan hati yang telah berlanjut menjadi steatohepatitis adalah dengan melihat jumlah dari semua skor steatosis, inflamasi lobuler dan degenerasi *ballooning*. Penyakit NAFLD dengan derajat yang berat yang disebut dengan *steatohepatitis non alkohol* ( NASH ) terdapat pada kelompok perlakuan 2 dengan rerata 6,80. Sedangkan kelompok perlakuan 1 masih dalam batas *borderline* ( antara NAFLD dan NASH ).

Tabel.10. Rerata NAS

Kelompok	Rerata $\pm$ SD	Median
K	0	0
P1	2,83 $\pm$ 1,17	2,50
P2	6,80 $\pm$ 0,75	7,00
$p^*$	0,03	

Ket :  $p^* = \text{Kruskal-Wallis } p < 0,05$



Gambar 18. *box plot* NAS

Grafik *box plot* NAS ( gambar 18 ) menunjukkan median kelompok P2 lebih tinggi dari P1 dan kontrol, distribusi tidak normal.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* data NAS semua tikus pada tiap kelompok menunjukkan distribusi tidak normal  $p < 0,05$  (0,03), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan *Kruskal -Wallis*. Hasil uji statistik *Kruskal Wallis* terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok penelitian dengan  $p < 0,05$  ( $p < 0,001$  ), selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji *Mann-Whitney*, hasil uji menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada semua kelompok . Nilai signifikansi hasil uji *Mann-Whitney* dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Ringkasan nilai signifikansi (p) hasil uji *post Hoc test Mann Whitney* antar kelompok untuk rerata NAS

Kelompok	Nilai Media	Nilai-p
K dan P1	Kontrol dan dosis 5 %	0,002
K dan P2	Kontrol dan dosis 10%	0,002
P1 dan P2	Dosis 5 % dan 10 %	0,003

### V.2.5 Hubungan Steatosis dengan Inflamasi Hepatosit

Hubungan steatosis dengan inflamasi hepatosit dilakukan dengan uji *crosstabulation* dan analisa statistik *Fisher's Exact Test* .

Tabel 12. Hubungan steatosis terhadap inflamasi hepatosit

Kelompok	Variabel	Inflamasi					Total	Nilai p
		Derajat	Tidak ada	Ringan	Sedang	Berat		
K	Steatosis	Tidak ada	6				6	
	Jumlah		6				6	
P1	Steatosis	Ringan		3	2		5	1
		Sedang			1		1	
	Jumlah			3	3		6	
P2	Steatosis	Sedang				2	2	
		Berat				4	4	
	Jumlah					6	6	

Berdasarkan tabel 12 didapat data kelompok P1 dengan steatosis ringan mengalami inflamasi derajat ringan dan sedang, kelompok P2 dengan steatosis derajat sedang dan berat mengalami inflamasi berat. Uji statistik dengan *Fisher's Exact Test* nilai p kelompok K dan P2 tidak ada ( konstan ) karena kelompok K

tidak mengalami inflamasi dan semua steatosis kelompok P2 mengalami inflamasi derajat berat. Hubungan steatosis dan inflamasi kelompok P2 tidak signifikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p = 1$ ).

### V.2.6 Hubungan Steatosis dengan Degenerasi *Ballooning* Hepatosit

Hubungan steatosis dengan inflamasi hepatosit dilakukan dengan uji *crosstabulation* dan analisa statistik *Fisher's Exact Test*.

Tabel 13. Hubungan steatosis terhadap degenerasi *ballooning* hepatosit

Kelompok	Variabel	Derajat	<i>Ballooning</i>			Total	Nilai p
			Tidak ada	Sedikit	Banyak		
K	Steatosis	Tidak ada	6			6	
		Jumlah	6			6	
P1	Steatosis	Ringan	5			5	
		Sedang		1		1	
	Jumlah		5	1		6	0,17
P2	Steatosis	Sedang		2		2	
		Berat		3	1	4	
	Jumlah			5	1	6	1

Berdasarkan tabel 13 didapat data kelompok P1 dengan steatosis ringan tidak mengalami *ballooning* dan derajat sedang mengalami *ballooning* dengan jumlah sedikit, kelompok P2 dengan steatosis berat lebih banyak mengalami *ballooning* dengan jumlah sedikit meskipun ada tikus yang mengalami *ballooning* yang banyak. Hubungan steatosis dengan degenerasi *ballooning* menggunakan Uji statistik *Fisher's Exact Test* didapat nilai p kelompok P1 dan P2 tidak signifikan dengan nilai  $p > 0,05$  ( $p_{P1} = 0,17$ ,  $p_{P2} = 1$ ).

### **V.3. Nilai *Kappa* (*k*)**

Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang handal (*reliable*) dan sah (*valid*) pengukuran histopatologi hepar diukur oleh dua pembaca. Untuk menilai keandalan dan kesahihan kedua data dilakukan penentuan nilai *Kappa*. Nilai *Kappa* untuk steatosis hepatosit adalah 0,70 dengan kesalahan standar 0,13, nilai *Kappa* untuk derajat inflamasi lobuler adalah 0,70 dengan kesalahan standar 0,13 dan nilai *Kappa* untuk degenerasi *ballooning* adalah 0,61 dengan kesalahan standar 0,17. Pada penelitian ini penilaian *kappa* memberi nilai diatas 0,60 menunjukkan data mempunyai keandalan dan kesahihan yang memuaskan.