

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian “Uji Ketoksikan Akut Produk SOLUDIA<sup>®</sup> Menggunakan Metode OECD 425 pada Tikus Wistar Betina dan Gambaran Histopatologis Hati dan Ginjal” bertujuan untuk mengetahui gambaran ketoksikan akut menggunakan metode OECD 425 serta gambaran histopatologis hati dan ginjal pemberian produk SOLUDIA<sup>®</sup> pada tikus Wistar betina. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia nomor 57/Ka.Kom.Et/70/KE/VII/2019 (lampiran 1). Proses penelitian dilakukan dengan menggunakan lima hewan uji berupa tikus Wistar betina yang diberikan produk SOLUDIA<sup>®</sup> dengan dosis tunggal 2000 mg/kgBB. Kemudian, pengamatan gejala ketoksikan dilakukan selama 14 hari dan dilakukan pengamatan gambaran histopatologis hati dan ginjal pada hari ke-14.

### 4.1 Hasil Pengamatan Berat Badan

Pengamatan terhadap perubahan berat badan bertujuan untuk melihat potensi penggunaan produk SOLUDIA<sup>®</sup> terhadap perubahan berat badan hewan uji dengan menggunakan pengujian *one way* (ANOVA). Pengukuran berat badan dilakukan pada hari ke-1, ke-7 dan ke-14 dengan hasil yang dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Pengamatan Berat Badan Hewan Uji (Gram)

Tikus ke-	Hari ke-		
	1	7	14
1	169 g	159 g	160 g
2	150 g	166 g	144 g
3	150 g	188 g	156 g
4	187 g	214 g	231 g
5	169 g	152 g	190 g
rerata ± SD	165 ± 15,54	175,8 ± 25,26	176,2 ± 35,00

Hasil analisis menggunakan *one way* ANOVA yaitu didapatkan perbedaan yang tidak signifikan karena nilai  $F < F_{crit}$ . Meskipun, berdasarkan tabel 4.1 rata-rata berat badan hewan uji mengalami kenaikan setiap tujuh hari. Sehingga dapat

disimpulkan bahwa pemberian produk SOLUDIA<sup>®</sup> tidak mempengaruhi perubahan berat badan hewan uji.

#### 4.2 Penetapan Dosis dalam Penelitian

Penelitian ini menggunakan pedoman OECD 425 dengan prinsip perlakuan yang diawali dengan *limit test* berupa pemberian Produk SOLUDIA<sup>®</sup> dosis tunggal 2000 mg/kgBB secara oral pada satu ekor hewan uji. Setelah diamati selama 24 jam, hewan uji tidak mengalami kematian. Kemudian dilakukan pemberian dosis yang sama kepada 4 hewan uji lainnya dan dilakukan pengamatan selama 14 hari.

Hasil dari *limit test* dengan dosis 2000 mg/kgBB adalah kelima hewan uji tidak mengalami kematian hingga hari keempatbelas sehingga tidak perlu dilanjutkan pada tahap *main test*. *Main test* dilakukan jika tiga dari lima hewan uji mengalami kematian (OECD, 2008). Maka hasil nilai LD<sub>50</sub> adalah lebih dari 2000 mg/kgBB yang dibuktikan dengan tidak adanya kematian hewan uji selama pengujian *limit test*.

#### 4.3 Hasil Pengamatan Gejala Toksik

Pada penelitian ini, selain melihat gejala kematian juga dilakukan pengamatan gejala ketoksikan pada hewan uji. Adapun gejala ketoksikan yang perlu diamati adalah gejala tremor, lemah, gelisah, terengah-engah, diare, letergi, ekor kaku, iritasi mata, gerakan berlebih, koma, urin, dan mati. Pertama-tama, hewan uji dipuaskan selama 8 jam, kemudian hewan uji diberikan dosis tunggal 2000 mg/kgBB secara oral. Selanjutnya dilakukan pengamatan gejala ketoksikan secara intensif pada 4 jam pertama, lalu secara berkala selama 24 jam dan dilanjutkan dengan pengamatan sekali sehari selama 14 hari. Selama pengamatan, gejala ketoksikan yang muncul hampir sama tiap individu hewan uji yaitu lemah, gelisah, terengah-engah, dan iritasi mata. Munculnya gejala-gejala tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor yaitu kesehatan hewan uji, pemberian perlakuan pada hewan uji maupun efek dari produk SOLUDIA<sup>®</sup>. Adapun gejala-gejala yang muncul pada hewan uji dapat dilihat secara rinci pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.2** Hasil Pengamatan Gejala Ketoksikan pada 4 Jam Pertama Setelah Pemberian Produk SOLUDIA® dengan Dosis 2000 mg/kgBB

Gejala Toksisitas	Hewan Uji				
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5
Tremor	-	-	-	-	-
Lemah	+	-	-	-	-
Gelisah	+	-	+	+	+
Terengah-engah	+	+	-	+	-
Diare	-	-	-	-	-
Letergi	-	-	-	-	-
Ekor Kaku	-	-	-	-	-
Iritasi Mata	-	-	-	-	-
Gerakan berlebihan	-	-	-	-	-
Koma	-	-	-	-	-
Urin	-	-	-	-	-

Keterangan: (+) : hewan uji mengalami gejala ketoksikan  
 (-) : hewan uji tidak mengalami gejala ketoksikan

Selama pengamatan gejala ketoksikan pada 4 jam intensif setelah pemberian dosis yang dapat dilihat pada tabel 4.2, hampir seluruh hewan uji mengalami kegelisahan kecuali tikus nomor dua. Kegelisahan ini ditandai dengan tikus yang menggaruk-garuk hidung dan dapat disebabkan oleh pemberian produk SOLUDIA® yang cukup kental sehingga menimbulkan ketidaknyamanan pada hewan uji. Selain itu, gejala terengah-engah ditandai dengan pernafasan yang sedikit lebih cepat dan tarikan nafas yang cukup terlihat ini dialami oleh tikus nomor satu, dua dan empat dengan frekuensi rendah. Penyebab dari gejala terengah-engah dapat disebabkan oleh tikus panik/cemas segera setelah diberikan perlakuan sehingga gejala ini belum dapat disimpulkan sebagai akibat dari pemberian produk SOLUDIA®. Selain itu, sekitar 30 menit setelah pemberian produk SOLUDIA®, tikus kembali beraktifitas seperti biasa. Gejala lainnya adalah lemah pada tikus nomor satu yang dapat disebabkan oleh pengamatan yang bersamaan dengan waktu tidur hewan uji yaitu pada pagi menjelang siang hari.

Berdasarkan tabel 4.3, pengamatan gejala ketoksikan selama 14 hari setelah pemberian dosis didapatkan bahwa hampir seluruh hewan uji tidak menunjukkan gejala ketoksikan. Namun, terdapat gejala iritasi mata di hari ketujuh yang hanya dialami oleh tikus nomor lima dengan tampak adanya selaput putih pada mata tikus

tersebut. Sehingga gejala ini belum dapat disimpulkan sebagai akibat dari pemberian produk SOLUDIA®.

**Tabel 4.3** Hasil Pengamatan Gejala Ketoksikan selama 14 Hari Setelah Pemberian Produk SOLUDIA® dengan Dosis 2000 mg/kgBB

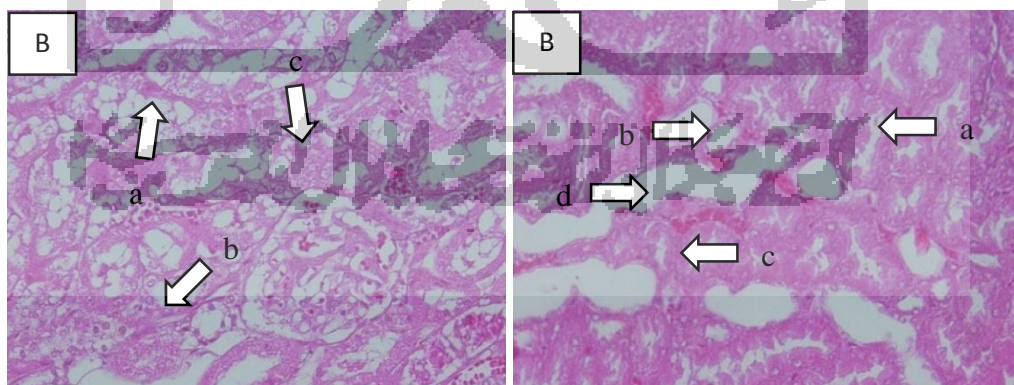
Gejala Toksisitas	Hewan Uji				
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Tikus 5
Tremor	-	-	-	-	-
Lemah	-	-	-	-	-
Gelisah	-	-	-	-	-
Terengah-engah	-	-	-	-	-
Diare	-	-	-	-	-
Letergi	-	-	-	-	-
Ekor Kaku	-	-	-	-	-
Iritasi Mata	-	-	-	-	+
Gerakan berlebih	-	-	-	-	-
Koma	-	-	-	-	-
Urin	-	-	-	-	-

Keterangan: (+) : hewan uji mengalami gejala ketoksikan

(-) : hewan uji tidak mengalami gejala ketoksikan

#### 4.4 Gambaran Histopatologis Ginjal

Pengamatan histopatologis organ ginjal dilakukan dengan tujuan sebagai data tambahan untuk mengkonfirmasi data gejala ketoksikan. Ginjal merupakan organ yang mengekskresi sebagian besar senyawa yang ada di dalam tubuh dan menjadi sasaran utama efek toksik sehingga organ ini memiliki pengaruh terhadap efek ketoksikan (Burcham, 2014).



**Gambar 4.1** Gambaran Histopatologis Ginjal Setelah Pemberian Produk SOLUDIA® dengan Dosis 2000 mg/kgBB

Keterangan: (A) sel epitel tubuli bengkak, vakuola berbatas tidak jelas di sitoplasma, lumen tubuli menyempit; (B) sel epitel tubuli bengkak, vakuola berbatas tidak jelas di sitoplasma, lumen tubuli menyempit disertai dilatasi tubuli; Pewarnaan HE; Perbesaran 400x

Gambar 4.1 (A) merupakan hasil gambaran histopatologis ginjal tikus pertama yang menunjukkan adanya tanda-tanda nefrosis berupa pembengkakan sel epitel tubuli, vakuola berbatas tidak jelas di sitoplasma dan lumen tubuli tampak menyempit. Sedangkan gambar 4.1 (B) merupakan hasil gambaran histopatologis ginjal tikus kedua yang menunjukkan adanya nefrosis disertai dengan dilatasi tubuli. Penyebab terjadinya nefrosis maupun dilatasi tubuli pada ginjal hewan uji dapat dikarenakan oleh adanya pengaruh dari pemberian produk SOLUDIA® yang memicu peningkatan reabsorpsi tubulus sehingga menimbulkan perubahan pada sel epitel tubuli, vakuola berbatas tidak jelas di sitoplasma dan lumen tubuli tampak menyempit (Guyton *and* Hall, 2011).

**Tabel 4.4** Perubahan Histopatologis Ginjal

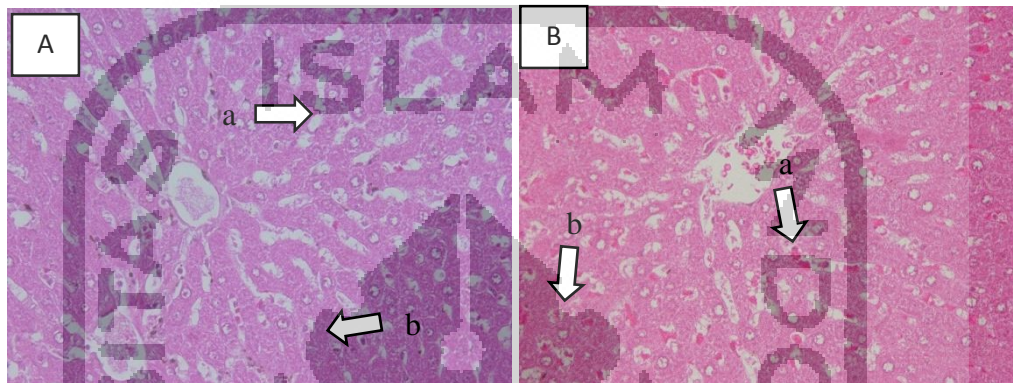
Hewan Uji	Perubahan Histopatologis	Persentase Perubahan
1	Nefrosis	Nefrosis
2	Nefrosis dan dilatasi lumen tubuli	100% Dilatasi lumen tubuli
3	Nefrosis	20%
4	Nefrosis	
5	Nefrosis	

Berdasarkan tabel 4.4, sebanyak 100% hewan uji mengalami nefrosis dan 20% dari hewan uji mengalami dilatasi lumen tubuli. Nefrosis merupakan sindrom pada ginjal yang dikarenakan bocornya protein dalam jumlah besar pada kapiler glomerulus ke dalam filtrat dan urin akibat peningkatan permeabilitas kapiler glomerulus (John, 2014). Adapun fungsi sel epitel tubuli adalah untuk mengatur komposisi cairan ekstraseluler yang berada di ginjal dengan mereabsorpsi atau mensekresi seluruh zat yang larut dalam filtrasi glomerulus. Sehingga jika sel epitel tubuli membengkak, maka dapat menyebabkan ketidakseimbangan cairan yang akan mempengaruhi batas vakuola menjadi tidak jelas dan menyempitnya lumen tubuli (Guyton *and* Hall, 2011)

#### 4.5 Gambaran Histopatologis Hati

Pengamatan histopatologis terhadap organ hati dilakukan dengan tujuan sebagai data tambahan untuk mengkonfirmasi data gejala ketoksikan. Hati merupakan organ pemetabolisme, sehingga seluruh zat yang bersifat lebih toksik

akan dibawa ke hati melalui vena portal hati untuk di metabolisme menjadi zat yang kurang toksik (Burcham, 2014). Hasil pengamatan histopatologis terhadap hati yaitu ditemukan adanya akumulasi glikogen yang ditandai dengan masa granuler eosinofilik di sitoplasma, pembesaran hepatosit (hipertrofi), batas vakuola menjadi tidak jelas, dan adapula yang tidak mengalami perubahan patologis.



**Gambar 4.2** Gambaran Histopatologis Hati Setelah Pemberian Produk SOLUDIA® dengan Dosis 2000 mg/kgBB

Keterangan: (A) masa granular eosinofilik di sitoplasma, hepatosit membesar (hipertrofi); (B) masa granular eosinofilik di sitoplasma, hepatosit membesar (hipertrofi); Pewarnaan HE; Perbesaran 400x

Gambar 4.2 merupakan hasil gambaran histopatologis hati tikus pertama dan kedua yang menunjukkan adanya akumulasi glikogen dengan terlihat masa granular eosinofilik di sitoplasma, ukuran hepatosit yang membesar (hipertrofi), dan vakuola berbatas tidak jelas di sitoplasma.

**Tabel 4.5** Perubahan Histopatologis Hati

Hewan Uji	Perubahan Histopatologis	Persentase Perubahan
1	Akumulasi glikogen	Akumulasi glikogen
2	Akumulasi glikogen	80%
3	Akumulasi glikogen	Tidak mengalami perubahan
4	Tidak Mengalami Perubahan	20%
5	Akumulasi glikogen	

Berdasarkan tabel 4.5, sebanyak 80% hewan uji mengalami akumulasi glikogen dan 20% hewan uji sisanya tidak mengalami perubahan. Akumulasi glikogen terjadi karena hewan uji tidak dipuasakan sebelum dilakukan pembedahan, sehingga dapat terlihat bentuk bulat berwarna merah yang menyebar di sitoplasma sel hepar. Hal yang seharusnya dilakukan sesuai pedoman OECD 425

adalah hewan uji dipuaskan sebelum dilakukan pembedahan. Selain itu, adanya pembesaran hepatosit dan vakuola yang berbatas tidak jelas di sitoplasma dapat disebabkan oleh banyaknya cairan yang masuk ke dalam sitoplasma sehingga menimbulkan degenerasi hidrofilik (Robbins *et al.*, 2007). Maka dapat disimpulkan bahwa perubahan yang terjadi pada hati tidak disebabkan oleh produk SOLUDIA®.

