

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Imunosupresi merupakan proses pengaturan atau penekanan aktivitas sistem imun tubuh untuk mengendalikan respons inflamasi berlebihan (Cain & Cidlowski, 2017). Pada penelitian hewan, kondisi imunosupresi sering dimanfaatkan agar efek obat atau perlakuan dapat diamati dengan lebih jelas. Salah satu cara induksi imunosupresi adalah melalui pemberian glukokortikoid seperti deksametason, yang menurunkan aktivasi dan proliferasi sel-sel imun (Strehl et al., 2019). Glukokortikoid banyak digunakan karena efektif menekan jalur respon imun bawaan dan adaptif, meskipun dosis tinggi atau penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan efek samping sistemik, termasuk gangguan metabolik dan kerusakan organ seperti hati dan ginjal (Reichardt et al., 2021).

Deksametason merupakan glukokortikoid sintetis yang mulai dikenal dalam dunia kedokteran dan pertama kali dikenal sekitar tahun 1950 dan terus berkembang hingga saat ini. Dalam praktik klinis, kortikosteroid umumnya dibagi menjadi dua golongan utama, yaitu glukokortikosteroid dan mineralokortikoid (Insani et al., 2015). Deksametason termasuk dalam golongan obat yang banyak digunakan dalam dunia kesehatan karena memiliki potensi antiinflamasi yang sangat kuat dan durasi kerja sekitar 36–72 jam. Meskipun memiliki efek samping yang signifikan, deksametason masih banyak digunakan. Hal ini disebabkan oleh harganya yang relatif terjangkau serta ketersediaannya yang mudah diperoleh. Deksametason obat yang sangat efektif sebagai anti-inflamasi, imunosupresan, dan dekonjestan. Penggunaan obat deksametason yang luas ini banyak digunakan dalam pengobatan berbagai kondisi medis. Meskipun memiliki aktivitas terapeutik yang luas, penggunaan dalam dosis tinggi dan jangka panjang dapat menimbulkan efek samping serius, seperti diabetes melitus, gangguan hati, penyakit kardiovaskular, hipertensi, dislipidemia, dan osteoarthritis (Hasona et al., 2017).

Efek penggunaan glukokortikoid dalam jangka panjang atau dosis tinggi dapat menimbulkan efek samping yang signifikan, salah satunya adalah gangguan pada metabolisme lipid di hati. Glukokortikoid diketahui berperan dalam pembentukan *fatty liver* (perlemakan hati) dengan meningkatkan produksi asam lemak dan mengurangi proses β -oksidasi, yaitu mekanisme pemecahan asam lemak untuk menghasilkan energi (Shaaban et al., 2018). Glukokortikoid eksogen diketahui bersifat toksik terhadap sel T imatur dan dapat menekan proliferasi sel T yang dimediasi IL-2 serta produksi sitokin, meskipun juga dapat menginduksi ekspresi reseptor bertahan hidup seperti IL-7R α (Giels et al., 2018). Hati adalah organ organ vital multifungsi yang berperan penting dalam pemeliharaan homeostatis tubuh (Khudir et al., 2019). Hati berperan sejumlah mineral, seperti besi dan tembaga, serta vitamin yang larut dalam lemak. Selain itu, hati juga dapat menyimpan toksin dan obat-obatan yang tidak dapat dipecah atau diekskresi oleh tubuh (Yolanda et al., 2022). Hati salah satu organ vital, jika terjadi kerusakan pada hati maka akan mempengaruhi tubuh lainnya karena hati berperan dalam berbagai proses penting

seperti detoksifikasi, sehingga dapat diketahui batas aman penggunaan obat ini sebagai imunomodulator (Fitmawati et al., 2018).

Penentuan dosis yang tepat dalam pemberian deksametason sangat krusial yang digunakan sebagai agen immunosupresif dalam penelitian eksperimental dan protokol pengobatan. Dosis anjuran untuk tikus putih (*Rattus norvegicus*) untuk tujuan terapeutik berkisar antara 0,6 mg/kg BB yang digunakan sebagai anti inflamasi (Budde dan McCluskey, 2023). Sementara itu, dosis yang lebih tinggi seperti 7,2mg/kg dan dosis sangat tinggi yaitu 16mg/kg menunjukkan dosis tersebut cukup untuk menghasilkan efek immunosupresif yang kuat tanpa menimbulkan kematian, namun tetap berisiko memicu toksisitas sistemik atau lethal dalam kondisi tertentu seperti trauma jaringan berat (Al Abrori et al., 2020). Namun, pada saat uji eksperimental dilapangan dosis 7,2-16mg/kg BB khususnya riset tentang immunosupresi masih butuh penelitian lebih lanjut. Penelitian ini mengkaji secara khusus dosis dengan rentang 8 dan 10 mg/kg BB dengan beberapa pertimbangan. Dosis 8 mg/kg BB dipilih karena merepresentasikan dosis minimal yang telah dilaporkan menimbulkan efek yang umum digunakan untuk protokol immunosupresi eksperimental. Sementara itu, dosis 10 mg/kg BB dipilih karena mendekati batas dosis tinggi yang masih di bawah lethal dose (Al Abrori et al., 2020). Sehingga dapat diamati efek immunosupresi yang lebih nyata tanpa menyebabkan mortalitas yang tinggi pada hewan coba.

Berdasarkan masalah diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian deksametason dengan rentang dosis 8 dan 10 mg/kg berat badan terhadap perubahan histopatologi hati serta efektivitasnya sebagai agen immunosupresif pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Dengan pendekatan eksperimental, diharapkan dapat diperoleh data yang lebih akurat mengenai dampak immunosupresi dengan pemberian deksametason terhadap hati dari kedua dosis tersebut. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada penelitian immunosupresi yang lebih baik dan mengenai efek samping dari penggunaan deksametason.

1.2 Kajian Pustaka

1.2.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Menurut Rejeki et al. (2018), dalam sistematika (taksonomi) hewan kedudukan tikus putih (*Rattus Norvegicus*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih (*Rattus Norvegicus*) merupakan salah satu model hewan percobaan yang paling sering digunakan dalam berbagai penelitian ilmiah. Hewan ini telah banyak dipelajari karena memiliki karakteristik yang mendukung, karakteristik

biologisnya diketahui dengan baik, mudah dipelihara, dan informasi mengenai status kesehatan dan latar belakang genetiknya yang telah diketahui dengan baik sehingga sesuai untuk beragam jenis penelitian (Husna et al., 2019). Jenis tikus yang umum digunakan adalah tikus putih karena memiliki sifat yang jinak, tidak terlalu sensitif terhadap cahaya, serta relatif kooperatif dalam pelaksanaan penelitian eksperimental. Selain itu, tikus putih cenderung tidak berkelompok dan aktivitasnya tidak mudah terganggu oleh keberadaan manusia. Tikus memiliki sejumlah kesamaan fisiologis dengan manusia, terutama pada sistem reproduksi, sistem saraf, serta kerentanan terhadap penyakit seperti kanker dan diabetes, termasuk respon terhadap kecemasan. Kesamaan ini disebabkan oleh kemiripan organisasi DNA dan ekspresi genetik, di mana sekitar 98% gen pada manusia memiliki padanan yang serupa pada tikus (Rejeki et al., 2018).



Gambar 1. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Rosidah et al., 2020)

Morfologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) memiliki ciri morfologis berupa kepala yang lebar, telinga panjang, serta ekor yang panjangnya sebanding namun lebih pendek dari panjang tubuh. Fenotipe albino pada tikus ini ditandai dengan warna bulu yang pucat dan mata yang tampak menonjol berwarna merah muda atau merah, dan termasuk kategori berukuran tubuh sedang hingga besar dibandingkan dengan jenis tikus laboratorium lainnya (Wati et al., 2024). Tikus telah lama digunakan sebagai hewan model standar dalam berbagai pengujian, seperti toksikologi, teratologi, dan karsinogenesis. Saat ini, penggunaannya telah berkembang luas mencakup bidang penelitian lain seperti perilaku, neurologi, nutrisi, genetika, imunologi, serta penyakit infeksi dan metabolic (Husna et al., 2019).

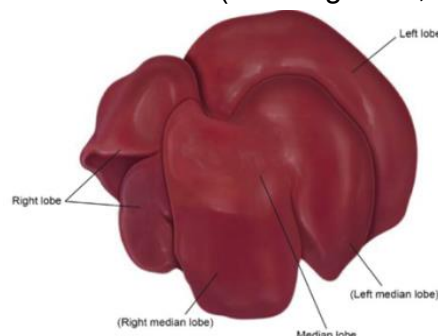
Tabel 1. Data fisiologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Sirois, 2022).

Rentang hidup	2,5-3,5 tahun
Berat badan jantan	267-500 g
Berat badan betina	225-325 g
Detak jantung	313-493 kali/menit
Tingkat pernapasan	71-146 kali/menit
Suhu tubuh	37,7 °C
Konsumsi air harian	22-33 mL
Konsumsi makanan harian	15-20 g
Kematangan seksual	6-8 minggu
Umur sapih	21-23 hari

1.2.2 Anatomi dan Histologi Hati

Secara anatomi, hati terletak di dalam rongga abdomen, berdekatan dengan lambung dan tepat di bawah diafragma. Organ ini memiliki dua permukaan utama, yaitu permukaan diafragmatika dan permukaan viseral. Permukaan diafragmatika merupakan bagian yang berbentuk cembung dan langsung berhubungan dengan diafragma, sedangkan permukaan viseral berhadapan dengan organ-organ dalam rongga perut, seperti ginjal kanan, lambung, duodenum, kolon, dan jejunum. Hubungan hati dengan diafragma diperkuat oleh adanya ligamen falciform, yang berfungsi sebagai pengikat antara hati dan dinding tubuh bagian dalam (Colville dan Bassert, 2018). Berat hati pada rodensia bervariasi tergantung pada spesies dan strain, namun secara umum, berat hati tikus berada pada kisaran 2–3 gram, yang setara dengan 3–5% dari berat badan total. Pada rodensia, hati membentang hampir atau seluruhnya di area subdiaphragma, dan terdiri dari empat lobus utama, yaitu lobus kanan, median, kiri, dan kaudat. Pada lobus kanan, terdapat *septum transversal* yang membagi hampir seluruh lobus ini, yang kemudian mengarah pada klasifikasi sebagai lobus kanan kranial (anterior) dan lobus kanan kaudal (posterior) (Treuting et al., 2018).

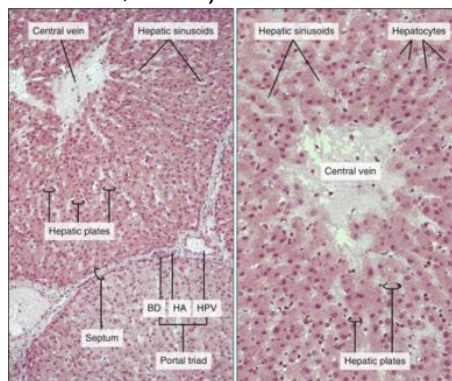
Lobus median terletak di bagian ventral dan merupakan lobus pertama yang terlihat saat rongga perut tikus didekati dari arah ventral. Pada tikus percobaan, sayap kanan lobus median lebih besar dibandingkan dengan sayap kiri, dan tidak ditemukan kantong empedu. Lobus kiri adalah lobus terbesar pada tikus dan sering dijadikan tempat pengambilan sampel untuk analisis histologi, sedangkan pada tikus percobaan, lobus ini menyumbang lebih sedikit pada total volume hati. Lobus kaudat memiliki ukuran kecil dan terdiri dari dua segmen berbentuk telinga yang lebih jelas terlihat dengan memiringkan tubuh utama hati ke arah kranial dan perut ke arah kaudal saat dilakukan pemotongan. Posisi dan ukuran masing-masing lobus hati dapat bervariasi tergantung pada usia, jenis kelamin, dan kondisi fisiologis tikus. Perbedaan morfologi antar lobus ini perlu diperhatikan karena dapat memengaruhi distribusi zat yang diberikan secara sistemik (Treuting et al., 2018).



Gambar 2. Anatomi hati tikus (Treuting et al., 2018).

Parenkim hati tikus terdiri dari lobulus-lobulus hepatic yang berbentuk angular dan disusun oleh sel-sel epitelial yang dikenal sebagai hepatosit. Hepatosit ini tersusun dalam bentuk pelat atau kord, yang dapat diamati pada potongan dua dimensi. Di antara pelat-pelat hepatosit tersebut terdapat sinusoid vena yang saling berhubungan melalui celah di antara lempengan sel. Sinusoid ini berfungsi

memperlambat aliran darah sehingga memungkinkan hepatosit menjalankan aktivitas metabolik secara optimal. Setiap lobulus dikelilingi oleh septa jaringan ikat, di mana di dalamnya terdapat cabang dari arteri hepatis, vena porta hepatis, dan sistem saluran empedu yang tergabung dalam struktur yang disebut triad portal. Darah dari vena portal dan arteri hepatis akan mengalir ke dalam sinusoid, sedangkan empedu yang dihasilkan oleh hepatosit disalurkan melalui canaliculi empedu yang terpisah dari aliran darah dan bermuara ke saluran empedu di septa antar lobulus. Pemahaman tentang struktur histologis ini sangat penting karena mencerminkan peran hati dalam berbagai proses metabolisme dan fungsi vital lainnya di dalam tubuh (Low et al., 2016).



Gambar 3. Histologi hati tikus; elemen utama lobulus hati (HE), *Bile Duct* (BD), *Hepatic Artery* (HA), *Hepatic Portal Vein* (HPV) (Low et al., 2016).

Selain tersusun oleh hepatosit, sinusoid hati tikus juga dilapisi oleh sel endotel dengan struktur fenestrasi yang memungkinkan pertukaran zat antara plasma darah dan hepatosit. Di dalam sinusoid tersebut juga terdapat sel Kupffer yang berfungsi sebagai makrofag dan berperan dalam sistem imun. Selain itu, terdapat pula sel stellate (sel Ito) yang menyimpan vitamin A dan terlibat dalam proses fibrosis jika terjadi cedera hati. Di antara dinding sinusoid dan permukaan hepatosit terdapat ruang Disse, yang menjadi jalur pertukaran nutrisi, hormon, dan metabolit lain dari plasma darah ke hepatosit (Treuting et al., 2018).



Gambar 4. Zona hati (Trefts et al., 2017).

Hati tikus putih juga menunjukkan pembagian zona fungsional yang dikenal sebagai zona asinus Rappaport, yang terdiri atas zona periportal (zona 1), midzonal (zona 2), dan centrilobular (zona 3). Setiap zona memiliki perbedaan karakter dalam hal suplai oksigen, aktivitas metabolisme, dan sensitivitas terhadap zat toksik. Pada jaringan hati yang sehat, hepatosit tampak tersusun rapi dan seragam dengan inti

sel yang jelas dan sitoplasma homogen. Fenomena hepatosit binukleat merupakan ciri khas fisiologis yang umum dijumpai dalam hati tikus sebagai bagian dari proses pertumbuhan dan regenerasi sel (Treuting et al., 2018).

1.2.3 Deksametason

Deksametason adalah glukokortikoid sintetis yang memiliki berbagai penggunaan dalam pengobatan. Deksametason juga dikenal sebagai agen anti-inflamasi yang efektif dalam mengurangi peradangan pada berbagai kondisi, anti-alergi, dan obat ini berperan dalam menekan sistem kekebalan tubuh (Budde dan McCluskey, 2023). Golongan glukokortikoid memiliki peran penting dalam mengatur metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein dalam tubuh. Sebagai kortikosteroid, deksametason sebagai immunosupresan dan antiinflamasi, sehingga digunakan untuk berbagai kondisi yang melibatkan peradangan. Indikasi dalam pengaplikasian pengobatan ini mencakup dalam berbagai kondisi medis (Hidayati et al., 2018).

Secara farmakologis, efek antiinflamasi dan immunosupresif deksametason terjadi melalui interaksi obat dengan reseptor glukokortikoid di dalam sel. Deksametason akan berikatan dengan *glucocorticoid receptor* (GR) di sitoplasma sel dan membentuk kompleks hormon–reseptor yang kemudian berpindah ke dalam nukleus. Kompleks ini selanjutnya memodulasi ekspresi berbagai gen yang berperan dalam regulasi respon imun dan inflamasi. Aktivasi reseptor glukokortikoid tersebut meningkatkan sintesis protein lipocortin-1 (annexin-A1) yang berfungsi menghambat aktivitas enzim phospholipase A2. Penghambatan enzim ini menyebabkan berkurangnya pelepasan asam arakidonat dari membran fosfolipid sel sehingga sintesis mediator inflamasi seperti prostaglandin dan leukotrien menurun. Penurunan mediator inflamasi ini berkontribusi terhadap berkurangnya migrasi leukosit ke jaringan serta penekanan aktivitas berbagai sel imun seperti limfosit dan makrofag (Goodman dan Gilman, 2018).

Deksametason memiliki potensi 50 hingga 100 kali lebih besar dibandingkan hormon kortisol endogen dalam tubuh. Namun, penggunaan deksametason dalam dosis tinggi atau jangka panjang dapat menyebabkan berbagai perubahan metabolik, termasuk hiperglikemia, resistensi insulin, peningkatan lipolisis, dan gangguan metabolisme protein. Selain memicu perubahan metabolik sistemik, deksametason juga diketahui berkontribusi terhadap peningkatan produksi radikal bebas seperti superoksida, hidrogen peroksida, dan hidroksil radikal. Peningkatan stres oksidatif akibat radikal bebas ini dapat memperburuk kerusakan jaringan, termasuk pada sel-sel hati, dan mempercepat terjadinya gangguan metabolisme yang berujung pada resistensi insulin dan diabetes melitus tipe 2 (Batista et al., 2024).

Dari segi fungsi hati, deksametason dapat menyebabkan peningkatan deposit lemak dan glikogen di dalam hepatosit, sel-sel hati. Selain itu, kadar enzim hati dalam serum, seperti *alanine aminotransferase* (ALT) dan *gamma-glutamyl transpeptidase* (GGT), dapat meningkat. Peningkatan signifikan juga dapat terjadi pada kadar *alkaline phosphatase* (ALP) dalam serum, yang menunjukkan adanya perubahan fungsi hati. Deksametason juga dapat menyebabkan peningkatan waktu retensi *bromosulfophthalein* (BSP), yang merupakan indikator fungsi hati. Oleh

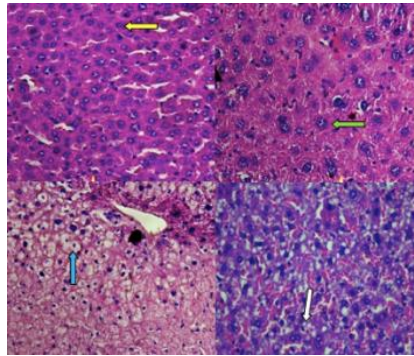
karena itu, pemantauan fungsi hati dan efek samping lainnya sangat penting selama penggunaan deksametason (Budde dan McCluskey, 2023).

1.2.4 Pengaruh Deksametason terhadap Histopatologi Hati

Hati merupakan organ utama yang berperan penting dalam proses metabolisme dan detoksifikasi berbagai senyawa yang masuk ke dalam tubuh. Organ ini juga berfungsi dalam biotransformasi obat serta pengaturan berbagai proses metabolik di dalam tubuh. Oleh karena itu, paparan obat dalam dosis tinggi maupun dalam jangka waktu yang lama dapat mempengaruhi struktur dan fungsi sel hati atau hepatosit. Perubahan tersebut dapat menimbulkan gangguan fungsi hati yang bersifat akut maupun kronis. Secara histologis, gangguan pada jaringan hati dapat ditandai dengan berbagai perubahan morfologi sel, seperti infiltrasi sel inflamasi, degenerasi hidropik, degenerasi lemak, serta nekrosis hepatosit (Taek et al., 2020). Deksametason sebagai salah satu glukokortikoid sintesis diketahui memiliki efek antiinflamasi dan immunosupresif yang kuat. Namun, penggunaan deksametason dalam dosis tinggi atau dalam jangka waktu yang lama dapat mempengaruhi metabolisme hepatosit dan memicu terjadinya perubahan struktur jaringan hati yang ditandai dengan perubahan degeneratif pada sel hati serta gangguan arsitektur jaringan hati (Shaaban et al., 2018).

Kerusakan hati akibat paparan deksametason berkaitan dengan perubahan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Pemberian deksametason akan meningkatkan kadar glukosa darah dengan merangsang pelepasan insulin, namun sekaligus menghambat masuknya glukosa ke dalam sel otot, sehingga kadar glukosa tetap tinggi dalam sirkulasi darah dalam jumlah tinggi. Selain itu, deksametason juga merangsang aktivitas enzim lipase yang sensitif terhadap hormon sehingga memicu proses lipolisis, yakni pemecahan lemak di jaringan adiposa, yang menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol dalam jumlah tinggi di dalam darah. Peningkatan asam lemak bebas ini kemudian dimobilisasi menuju hati, yang menyebabkan penumpukan lemak (steatosis) di dalam jaringan hati (Insani et al., 2015).

Lipogenesis berlebih akibat pengaruh glukokortikoid juga menghambat sintesis apoprotein, sehingga lemak tidak dapat dikeluarkan dari hepatosit. Akumulasi lemak ini diikuti penurunan sintesis protein dan produksi ATP, Kekurangan ATP mengakibatkan sel tidak mampu mempertahankan keseimbangan ion dan air, sehingga terjadi penumpukan natrium (Na^+) dan air di dalam sel, serta berkurangnya kalium (K^+) intraseluler. Kondisi ini menyebabkan sel mengalami perubahan morfologi, seperti pembengkakan, penurunan pH intrasel, penggumpalan kromatin, hingga akhirnya berujung pada nekrosis (Insani et al., 2015).



Gambar 5. Pengaruh deksametason pada struktur histologi hati (perbesaran 400x-pewarnaan HE); perubahan degenerasi lemak, degenerasi parenkim, pelebaran sinusoid, dan nekrosis (Insani et al., 2015).

Perubahan histopatologi hati paling lengkap dan parah diamati secara mikroskopis terlihat beberapa kelainan yaitu, degenerasi lemak (steatosis) yang luas, vakuolisasi sitoplasma hepatosit, kongesti sinusoid dan vena sentralis, infiltrasi sel-sel radang di area periportal dan sentral, disorganisasi susunan hepatosit, serta indikasi awal fibrosis di sekitar vena portal. Temuan ini memperkuat dugaan bahwa semakin tinggi dosis atau semakin lama paparan deksametason, maka tingkat kerusakan jaringan hati yang terjadi semakin berat (Shaaban et al., 2018).

1.2.5 Parameter pengukuran efektivitas imunosupresi

Efektivitas induksi imunosupresi pada hewan coba seperti tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat diukur melalui dua pendekatan utama, yaitu pengamatan perubahan klinis serta evaluasi makroskopis terhadap organ limfoid, khususnya timus dan limpa. Pendekatan ini digunakan untuk memastikan bahwa agen imunosupresif seperti deksametason telah memberikan dampak sistemik yang sesuai. Pemberian deksametason dapat menyebabkan penurunan berat badan hingga 20% dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kondisi ini disertai dengan gangguan metabolik yang mencerminkan efek sistemik dari imunosupresi (Mehrvan et al., 2018). Kondisi stres metabolik, kekurangan energi, dan paparan agen imunosupresif dalam jangka panjang dapat memicu penurunan berat badan, hilangnya nafsu makan, dan kelelahan fisik pada hewan uji (Sarin et al., 2019).

Organ limfoid seperti limpa dan timus merupakan indikator utama dalam mengevaluasi efek imunosupresif. Tikus yang diinduksi deksametason menunjukkan penyusutan limpa secara visual dan pengurangan ukuran organ dibandingkan kelompok kontrol, sebagai indikasi terjadinya atrofi akibat efek imunosupresi (Mehrvan et al., 2025). Kuper et al. (2016) juga menyatakan bahwa penurunan berat organ limfoid seperti timus dan limpa merupakan indikator utama dalam evaluasi toksisitas imunosupresif pada model hewan (Diehl et al., 2017).

1.2.6 Kaitan Imunosupresi Terhadap Kerusakan Hati

Glukokortikoid seperti deksametason merupakan agen imunosupresan kuat yang bekerja menurunkan aktivitas sistem imun melalui penghambatan produksi mediator inflamasi serta penekanan aktivasi sel-sel imun, terutama limfosit dan sel fagosit. Pemberian deksametason secara sistemik menyebabkan penurunan

respons imun adaptif dan innate, sehingga tubuh kehilangan kemampuan mempertahankan respons inflamasi protektif (Giles et al. 2018). Penurunan sitokin dan sel efektor imun terjadi secara terukur, sesuai dosis dan waktu paparan. Deksametason dapat menimbulkan fase imunosupresi yang jelas, yang sangat penting untuk dikorelasikan dengan kerusakan organ termasuk hati (Li et al. 2017).

Pada saat yang sama, deksametason memicu gangguan metabolik dan oksidatif yang memperberat kerentanan jaringan hepar. Deksametason dapat menimbulkan gangguan metabolik dan redoks yang bersifat *dose-dependent* dan *time-dependent*, seperti peningkatan peroksidasi lipid, penurunan aktivitas antioksidan, serta perubahan enzim hati. Kondisi ini menyebabkan hepatosit berada dalam lingkungan stres oksidatif yang tinggi (Nguelefack-Mbuyo et al. 2022). Stabilitas hepatosit sangat dipengaruhi regulasi modifikasi RNA, sehingga gangguan pada mekanisme epitranskriptomik yang dapat dipicu oleh stres metabolik dan imunosupresi meningkatkan kerentanan sel hati terhadap kerusakan oksidatif dan apoptosis (Zhao et al. 2020).

Kerusakan hepatoseluler seperti degenerasi hepatosit, vakuolisasi sitoplasma, piknosis, dan aktivasi jalur apoptosis dapat terjadi setelah pemberian deksametason. Kerusakan ini dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif serta penurunan kemampuan hepatosit mempertahankan integritas membran dan fungsi mitokondria. Menariknya, dalam kondisi imunosupresi, penurunan mediator inflamasi protektif seperti IL-6 dan TNF- α justru memperlemah mekanisme regeneratif hepatosit. Imunosupresi tidak hanya menjadi kondisi paralel, tetapi juga berkontribusi pada meningkatnya kerentanan hepatosit terhadap stres oksidatif, sehingga kerusakan hati lebih mudah terjadi dan progresif (Elkhrashy et al. 2021).

1.2.7 Rentang Dosis Deksametason dan Efek Farmakologisnya

Deksametason digunakan dalam rentang dosis yang luas untuk menghasilkan variasi respons farmakologis, mulai dari efek metabolik ringan hingga imunosupresi sistemik dan toksisitas organ pada dosis yang lebih tinggi. Pemberian deksametason pada dosis rendah (0,5–2 mg/kg BB) umumnya dimanfaatkan untuk menghasilkan efek antiinflamasi atau modulasi stres tanpa menimbulkan perubahan histopatologi organ yang nyata, serta dalam periode pemberian singkat tidak menyebabkan perubahan histopatologi hati yang signifikan. Hal ini menegaskan bahwa pada dosis rendah, efek deksametason terhadap jaringan hati masih bersifat minimal secara morfologis (Kumar et al., 2015).

Seiring dengan peningkatan dosis, deksametason pada dosis intermediet menimbulkan perubahan biologis yang bersifat *dose dependent*, baik pada tingkat metabolik maupun morfologis jaringan hati. Pada dosis sekitar ≥ 4 mg/kg BB telah memicu perubahan histologis awal pada hepar berupa steatosis ringan, vakuolisasi sitoplasma, serta degenerasi hepatosit yang ditandai dengan pembesaran sel dan akumulasi lipid intraseluler, sehingga adanya gangguan metabolisme hepatoseluler. Pada dosis sekitar 8 mg/kg BB, gambaran histopatologi berupa steatosis, vakuolisasi sitoplasma, dan degenerasi hepatosit menunjukkan adanya respons jaringan hati terhadap paparan glukokortikoid dosis menengah. Meskipun perubahan tersebut

bukan merupakan indikator spesifik immunosupresi, perubahan degeneratif metabolik pada hepatosit dapat dipandang sebagai salah satu konsekuensi biologis yang menyertai induksi immunosupresi oleh deksametason, terutama ketika respons inflamasi jaringan berada dalam keadaan tertekan (Kumar et al., 2015). Selain itu, peningkatan dosis dan lama pemberian deksametason berkaitan dengan gangguan metabolik dan redoks yang bersifat *dose dependent* dan *time dependent*, ditandai oleh perubahan parameter stres oksidatif seperti malondialdehida, glutathione, dan aktivitas enzim antioksidan. Gangguan redoks ini menunjukkan meningkatnya stres oksidatif sistemik yang secara biologis berpotensi berkontribusi terhadap terjadinya cedera seluler pada organ target, termasuk hati (Nguelefack-Mbuyo et al., 2022).

Pada dosis tinggi, khususnya pada kisaran 10 mg/kg BB, deksametason dapat menimbulkan kerusakan histopatologis hati yang lebih nyata sehingga dapat menyebabkan degenerasi hidropik hepatosit, gangguan arsitektur jaringan hati, dan peningkatan derajat kerusakan seluler. Kondisi ini disebabkan efek glukokortikoid dosis tinggi yang memicu perubahan metabolisme hepatoseluler melalui peningkatan glukoneogenesis, gangguan metabolisme lipid, serta penurunan kemampuan sel hati dalam mempertahankan keseimbangan osmotik dan struktur sitoplasma. Akumulasi perubahan metabolik tersebut berkontribusi terhadap pembengkakan sel dan disorganisasi jaringan hati sebagaimana tampak pada gambaran histopatologi (Terzi dan Erol, 2022). Selain itu, pemberian deksametason dosis tinggi dalam jangka pendek dapat menginduksi gangguan metabolik sistemik berupa resistensi insulin yang berat, yang secara tidak langsung dapat memperburuk homeostasis metabolik hati (Nagendranayak et al., 2021).

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juli 2025. Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa *Rattus norvegicus* atau tikus putih berkelamin jantan. Tikus yang digunakan memiliki bobot 250-300 gram yang diperoleh dari Kabupaten Maros. Kemudian akan diaklimatisasi dan diberikan perlakuan di Animal Lab Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel serta analisis sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Seluruh prosedur penggunaan hewan coba dalam penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Hewan dan Penelitian Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin dengan Nomor: 012/UN4.1.RSHUH/B/PP36/2025

2.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratoris untuk melihat pengaruh gambaran histopatologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi deksametason.

2.3 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan metode *Simple Random Sampling* untuk pemilihan sampel. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan bobot 250-300 gram. Sampel berasal dari populasi tikus yang tersedia, dan jumlahnya ditentukan berdasarkan rumus Federer:

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

Keterangan:

n = jumlah sampel per kelompok

t = jumlah kelompok perlakuan

Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan dan pengambilan sampel dilakukan dua kali (dua waktu pengamatan). Perhitungannya sebagai berikut:

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

$$(n-1)(2) \geq 15$$

$$n - 1 \geq \frac{15}{2}$$

$$n - 1 \geq 7,5$$

$$n \geq 8,5$$

Karena jumlah sampel harus dinyatakan dalam bilangan bulat, maka nilai n dibulatkan menjadi 9. Dengan demikian, setiap kelompok perlakuan memerlukan 9 ekor tikus putih dari total kebutuhan sampel dihitung berdasarkan 3 kelompok perlakuan. Jadi, total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 27 ekor tikus putih.

2.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu *blade*, botol minum tikus, *cassette*, *cover glass*, gelas ukur, gunting, *handscoon*, incubator, kandang ukuran 45 cm x 35 cm, kompor

portable, label nama, masker, mikroskop olympus CX23[®] beserta optilab 23, mikrotom HM325S[®], nampan, *object glass*, pemanas, pinset, *scalpel*, spuit 3 ml, tabung reaksi, pot sampel, dan timbangan elektrik (Ohaus[®]).

Bahan yang digunakan yaitu 27 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat 200- 300 gram, air, alkohol bertingkat (75%, 80%, 90%), anastesi eter, alkohol absolut I, alkohol absolut II, *Hematoksilin-Eosin* (HE), *Neutral Buffered Formalin* (NBF) 10%, pakan konsentrat, *paraffin*, *tissue embedding* dan *xylol*.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Kandang tikus terlebih dahulu disterilkan dengan cara dijemur di bawah paparan sinar matahari hingga kering sebelum digunakan, kemudian dilapisi dengan sekam padi sebagai alas. Setelah proses sterilisasi selesai, tikus ditempatkan di dalam kandang dan diberikan pakan berupa pelet standar serta air minum yang disediakan secara *ad libitum*. Kandang ditutup menggunakan anyaman kawat guna mencegah tikus keluar, dan selanjutnya tikus menjalani proses aklimatisasi selama 14 hari sebelum perlakuan dimulai.

2.5.2 Perlakuan Sampel

Rumus yang digunakan untuk menentukan besar sampel yaitu menggunakan rumus *Federer*. Total sampel pada penelitian ini yaitu 27 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, untuk setiap kelompok perlakuan terdapat 9 ekor tikus wistar.

- K0 merupakan kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diinduksi *dexamethasone* dan diberikan makanan standar pakan dan minum
- KP1 merupakan kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) induksi *dexamethasone* dengan dosis tinggi 10mg/kg selama 6 hari
- KP2 merupakan kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) induksi *dexamethasone* dengan dosis intermediet 8mg/kg selama 6 hari

2.5.3 Perlakuan Induksi Deksametason

Berdasarkan penelitian Kumar et al. (2015), deksametason dengan dosis 4 mg/kg sampai 16 mg/kg berat badan pada tikus putih yang diberikan pada waktu singkat menyebabkan terjadinya perubahan patologi pada hepar, kondisi ini menunjukkan bahwa deksametason, sebagai salah satu golongan glukokortikoid sintetik, dapat memengaruhi metabolisme lemak, protein, dan karbohidrat dalam hati secara tidak seimbang. Deksametason disuntikkan secara intraperitoneal selama 6 hari. Selama masa perlakuan, tikus percobaan mendapatkan pakan standar dan air minum secara *ad libitum*. Pada hari keenam, deksametason diberikan sesuai dengan jadwal yang telah ditetapkan.

2.5.4 Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histopatologi terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

a. Fiksasi

Proses fiksasi dilakukan dengan merendam jaringan dalam larutan formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pemotongan jaringan

(*trimming*) dengan ketebalan sekitar 3 mm agar muat dalam kaset dan tergantung jaringan yang ingin diamati, dan dapat diproses lebih lanjut menggunakan tissue processor (Nuralifah et al., 2022).

b. *Dehidrasi*

Jaringan yang sudah ditempatkan dalam kaset dimasukkan ke dalam alat tissue processor untuk menjalani proses dehidrasi. Dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan secara bertahap dalam alkohol 70%, 80%, dan 96%, masing-masing selama dua jam. Selanjutnya, jaringan dijernihkan (*clearing*) menggunakan xylol dalam tiga tahap: xylol I, xylol II, dan xylol III (Nuralifah et al., 2022).

c. *Clearing*

Sebanyak 0,5 gram salep ditempatkan di atas kaca bulat, kemudian ditutup dengan kaca bulat lainnya dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu, diameter sebaran salep diukur, lalu diberikan tambahan beban seberat 100 gram dan didiamkan kembali selama 1 menit sebelum dilakukan pengukuran diameter yang stabil (Ardiansyah et al., 2023).

d. *Embedding* (Perendaman) dan *Blocking* (Pencetakan)

Tahap ini dilakukan dengan merendam jaringan ke dalam parafin cair bersuhu 56°C selama dua jam sebanyak dua kali. Kemudian, jaringan diangkat dengan pinset dan diblok menggunakan parafin padat untuk pembentukan blok jaringan (Ardiansyah et al., 2023).

e. *Cutting*

Pemotongan jaringan dilakukan menggunakan mikrotom hingga menghasilkan irisan setebal 4–5 µm. Irisan tersebut kemudian diletakkan di atas permukaan air hangat dalam waterbath dan dipindahkan ke kaca objek. Setelah dikeringkan pada suhu kamar, preparat siap untuk proses pewarnaan dengan Hematoxylin dan Eosin (HE) (Ardiansyah et al., 2023).

f. *Staining* (Pewarnaan)

Preparat yang telah diletakkan di kaca objek direndam masing-masing selama 5 menit dalam xylol I, II, dan III, kemudian dilanjutkan dengan perendaman dalam alkohol 96%, 80%, dan 70%, masing-masing selama 5 menit. Setelah itu, preparat dicuci dengan air suling (aquades), lalu direndam dalam Hematoxylin Meyer selama 7 menit dan dibilas dengan air mengalir selama 5 menit. Selanjutnya, preparat dicelupkan dalam Eosin selama 10 detik. Proses dehidrasi kembali dilakukan menggunakan alkohol 70%, 80%, dan 96%, masing-masing selama 5 menit, diikuti oleh clearing dalam xylol I, II, dan III masing-masing selama 5 menit. Setelah dikeringkan, preparat dimounting menggunakan entelan dan siap diperiksa di bawah mikroskop (Ardiansyah et al., 2023).

g. *Mounting* (Penempelan)

Proses penutupan kaca objek, atau yang dikenal sebagai tahap *mounting*, merupakan langkah akhir dalam pembuatan preparat histologi. Tahapan ini bertujuan untuk melindungi sel dari kerusakan serta membantu menyamakan indeks bias jaringan dengan lensa objektif, sehingga struktur sel dapat terlihat lebih jelas di bawah mikroskop. Untuk mendapatkan visualisasi yang optimal saat mengamati

karakteristik sel, penting agar indeks bias dari kaca objek, jaringan, kaca penutup, dan media mounting saling sesuai (Khristian dan Purnama, 2020).

h. *Skoring*

Parameter *skoring* histopatologi pada perubahan histopatologi pada jaringan hati dilakukan dengan membandingkan kriteria skoring pada kelompok kontrol dan kelompok yang mendapatkan perlakuan

Tabel 2. Tabel skor penilaian derajat histopatologi hepatosit

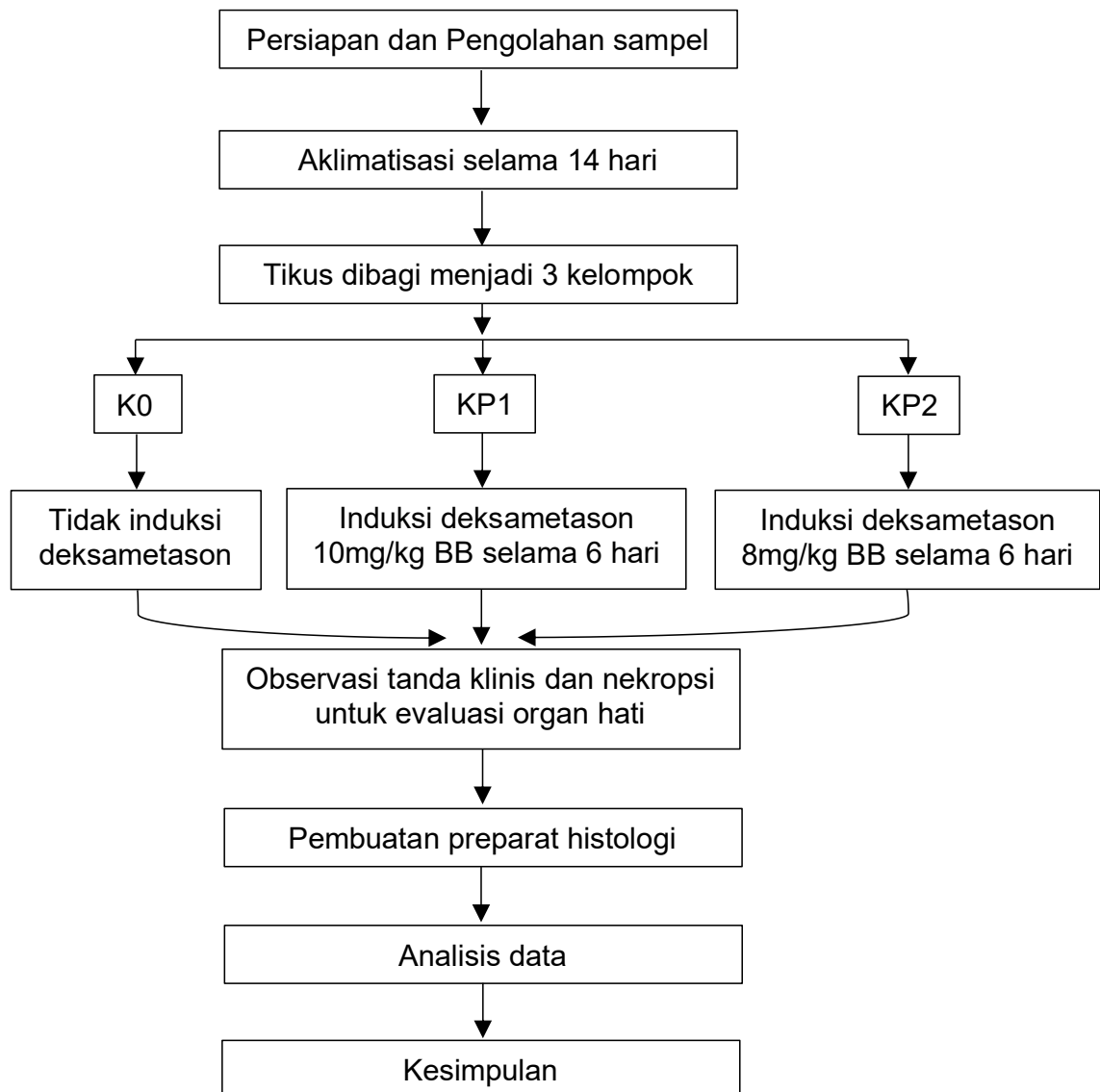
Skor	Interpretasi
0	Satu lapang pandang tidak dijumpai degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
1	Satu lapang pandang dijumpai 1-20% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
2	Satu lapang pandang dijumpai 21-50% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
3	Satu lapang pandang dijumpai 51-75% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati (kerusakan ringan)
4	Satu lapang pandang dijumpai 75% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati (kerusakan berat)

Sumber: Mustofa, S., Hutami, I. P., & Sarwindah, D. (2023). Acute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on rat liver and kidney histology using fixed dose method. *Acta Biochimica Indonesiana*, 6(2), 144-144. doi: [10.32889/actabioina.144](https://doi.org/10.32889/actabioina.144)

2.5.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Statistical Program for Social Science* (SPSS). Uji statistik yang digunakan adalah uji *non-parametrik Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan struktur histopatologi hepar tikus putih antar kelompok perlakuan. Jika hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

2.6 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur penelitian