

Studi Histopatologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) yang Diberi Deksametason dan Suplementasi Vitamin E

(HISTOPATHOLOGICAL STUDIES OF WHITE RATS' PANCREAS ADMINISTERED WITH DEXAMETHASONE AND VITAMIN E)

I Gusti Bagus Sathya Dharma¹, I Ketut Berata², Samsuri³

¹Mahasiswa Program Profesi Kedokteran Hewan

²Laboratorium Patologi Veteriner

³Laboratorium Farmakologi Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jalan PB. SUDirman Denpasar, Bali

Telp. 0361-223791 Faks (0361) 223791

Email : latedio.hika.dharma@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian vitamin E terhadap pankreas tikus putih yang diberi deksametason. Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan berumur 2-3 bulan dengan bobot 100-200 gram dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok P0 adalah tikus yang diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Kelompok P1 adalah tikus yang diberi deksametason 0,13mg/kgBB/hari. Kelompok P2 adalah tikus yang diberikan deksametason 0,13 mg/kg BB/hari secara subkutan dan vitamin E 100 mg/kg BB/ hari per oral. Kelompok P3 diberikan deksametason 0,13 mg/kg BB/hari dan vitamin E 150 mg/kg BB/hari. Kelompok P4 diberikan deksametason 0,13 mg/kg BB/hari dan vitamin E 200 mg/kg BB/hari. Pada hari ke 14, tikus dikorbankan nyawama dan pankreas diambil. Preparat histopatologi dibuat sesuai prosedur baku dengan pewarnaan hematoksin-eosin. Variabel yang diperiksa dalam penelitian ini adalah nekrosis sel eksokrin dan endokrin pankreas. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Data dianalisis secara statistik nonparametrik dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Hasil pengamatan histopatologi menunjukkan adanya nekrosis pada sel eksokrin dan endokrin pankreas, dimana tertinggi pada kelompok P1 dan terendah adalah kelompok P4. Simpulan dari penelitian ini adalah pemberian vitamin E dosis 200 mg/kg berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap perbaikan jaringan pankreas tikus putih yang diberikan deksametason 0,13 mg/kg.

Kata- Kata kunci : deksametason, vitamin E, pankreas.

ABSTRACT

The objective of this the study is to know the effect of vitamin E in rats' pancreas administered with dexamethasone. Subject of this experiment are 2-3 months old 100-200 g weight 25 male rats divided randomly into 5 groups. Group P0 is rats that fed standard diet and *ad libitum* water. Group P1 is rats that administered dexamethasone 0,13 mg/kg bw/d. Group P2 administered dexamethasone 0,13 mg/kg bw/d and vitamin E 100 mg/kg bw/d. Group P3 administered dexamethasone 0,13 mg/kg bw/d and vitamin E 150 mg/kg bw/d. Group P4 administered dexamethasone 0,13 mg/kg bw/d and vitamin E 200 mg/kg bw/d. In day 14th rats euthanized for sacrifice by cervical dislocation. Pancreas collected and prepared into histopathological sample according to Kiernan (1990). Variable in this experiment is the necrosis of the pancreas endocrine and exocrine cell. The experiment used complete randomized design. The data then analyzed with nonparametric statistic used Kruskal-Wallis and continued with Mann-Whitney test. Histopathological result showed that necrosis of exocrine and endocrine pancreas occurred.

The most severe necrosis occurred in group P1 and the lowest necrosis occurred in group P4. The conclusion of this experiment is administration of 200 mg/kg of vitamin E was highly significant ($P < 0,01$) for improving the repairment of rats' pancreas tissue damage.

Keywords : dexamethasone, vitamin E, pancreas.

PENDAHULUAN

Deksametason merupakan salah satu obat yang digunakan secara luas dalam dunia kesehatan dan pertama kali dikenal pada tahun 1950. Deksametason tergolong dalam obat kortikosteroid sintetik. Kortikosteroid adalah hormon yang secara alami diproduksi oleh bagian korteks dari kelenjar adrenal. Hormon ini terbagi menjadi dua kelompok tergantung berdasarkan zat yang dipengaruhi yakni glukokortikoid dan mineralokortikoid. Deksametason tergolong ke dalam kelompok glukokortikoid (Olson, 2004). Glukokortikoid berperan mengendalikan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Deksametason memiliki efek farmakologis yang luas, harga yang terjangkau, mudah didapat dan dapat digunakan untuk berbagai macam kondisi penyakit.

Efek samping penggunaan deksametason dapat terjadi di beberapa organ termasuk pada pankreas. Pada pankreas, efek samping deksametason diantaranya : menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel pankreas (Ranta *et al.*, 2006). Kerusakan sel tersebut dapat mengakibatkan timbulnya penyakit diabetes mellitus tipe I dan beragam kondisi penyakit lain yang disebabkan oleh gangguan pankreas.

Pankreas merupakan organ kelenjar penting dalam tubuh yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin (Sherwood, 2001). Bagian eksokrin terdiri atas sel asinar pankreas yang mensekresikan enzim melalui saluran ke dalam duodenum. Sementara, bagian endokrin yang terdiri dari pulau Langerhans mengekskresikan enzim langsung ke dalam darah (Luo, 2011).

Penelitian tentang efek samping deksametason terhadap pankreas sudah banyak dipublikasi, tetapi belum ada yang melaporkan bagaimana mengatasi efek samping tersebut. Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan dengan pemberian vitamin E.

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki fungsi antioksidan yang tinggi (Brigelius-Flohe, 1999). Antioksidan sangat penting dalam memerangi radikal bebas sehingga mencegah kerusakan sel.

MATERI DAN METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan berumur 2 – 3 bulan berat badan 100 – 200 gram yang didapatkan di kota Denpasar, provinsi Bali. Tikus dibagi ke dalam lima kelompok secara acak yang terdiri dari : kelompok kontrol negatif (P0) yang diberi pakan dan minum saja. Kelompok kontrol positif (P1) yang diberikan deksametason secara subkutan dosis 0,13 mg/kg. kelompok (P2) yang diberikan deksametason secara injeksi subkutan dosis 0,13 mg/kg dan vitamin E peroral dengan dosis 100 mg/kg; kelompok (P3) yang diberikan deksametason secara injeksi subkutan dosis 0,13 mg/kg dan vitamin E peroral dengan dosis 150mg/kg; kelompok (P4) yang diberikan deksametason secara injeksi subkutan dosis 0,13 mg/kg dan vitamin E peroral dosis 200 mg/kg. Injeksi deksametason dan pemberian vitamin E diberikan sekali setiap hari selama 14 hari. Lima kelompok tikus percobaan yang telah diberikan perlakuan selama dua minggu diterminasi dengan cara dislokasi leher kemudian diambil organ pankreasnya untuk selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histopatologi dengan metode pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) (Kiernan, 1990). Preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan pada 5 lapang pandang.

Preparat histopatologi diamati dan diskoring berdasarkan kategori berikut :

Keterangan : skor 0 yaitu tidak ada nekrosis sel pankreas, skor 1 yaitu $\frac{1}{4}$ total nekrosis sel pankreas, skor 2 yaitu $\frac{1}{2}$ total nekrosis sel pankreas, skor 3 yaitu $\frac{3}{4}$ total nekrosis sel pankreas dan skor 4 yaitu nekrosis seluruh sel pankreas.

Data hasil pengamatan histopatologi dikumpulkan dan dianalisis secara statistik nonparametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan pengaruh gambaran histopatologi pankreas tikus putih pada masing-masing dosis yang diberikan (Steel dan Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Histopatologi

Hasil pengamatan histopatologi pada kelompok kontrol negatif menunjukkan penampakan histopatologi yang normal. Seluruh subyek penelitian yang tergolong dalam

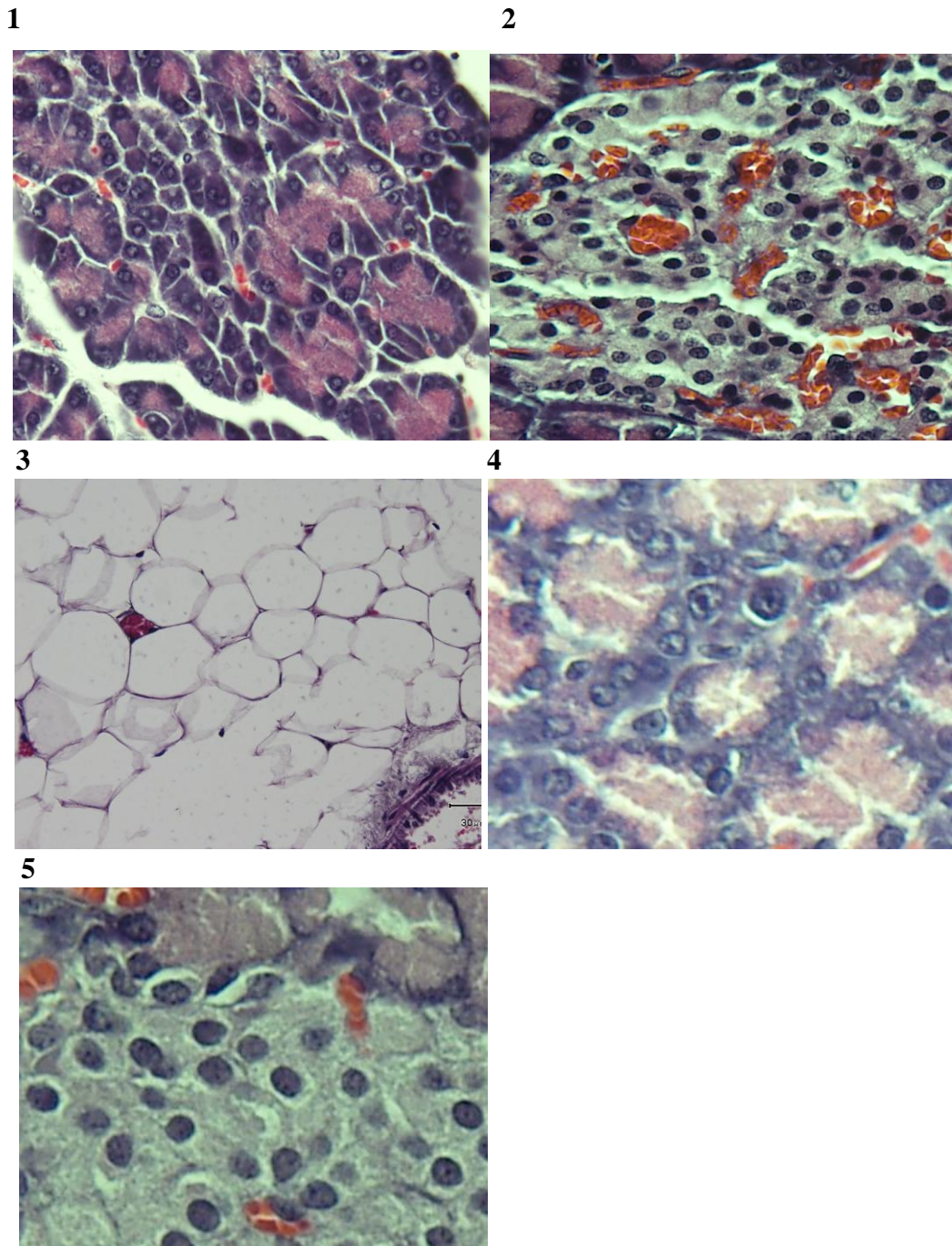
kategori ini masuk ke dalam skor 0 yakni tidak ditemukannya abnormalitas dalam struktur histopatologi sel eksokrin dan pulau Langerhans pankreas tikus putih, yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2. Kelompok kontrol positif menunjukkan seluruh subyek dalam kelompok ini tergolong ke dalam skor 4 yakni kerusakan paling parah. Ditemukan autolisis pada gambaran histopatologi kelompok ini yang dapat dilihat pada Gambar 3.

Perolehan skor pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perolehan Skor Masing-Masing Perlakuan.

KELOMPOK	SKOR				
	0	1	2	3	4
Kontrol Negatif (P0)	5	-	-	-	-
Kontrol Positif (P1)	-	-	-	-	5
Vitamin E 100mg/kg (P2)	-	-	2	3	-
Vitamin E 150 mg/kg (P3)	-	-	2	2	1
Vitamin E 200 mg/kg (P4)	3	2	-	-	-

Kelompok P4 merupakan kelompok yang secara pengamatan histopatologi memiliki gambaran yang paling baik. Terbukti dari gambaran preparat yang disajikan pada Gambar 4 dan Gambar 5, menunjukkan jaringan pankreas mendekati normal. Sebanyak 2 subjek masuk dalam kategori 2 dan 3 subjek masuk ke dalam kategori 1. Pada gambaran histopatologi sel-sel pulau Langerhans kelompok P4 yaitu tikus putih yang diberi perlakuan injeksi deksametason dan vitamin E dosis 200 mg/kg menunjukkan tingkat nekrosis paling ringan dan banyak dari sel pulau Langerhans yang mendekati gambaran normal.



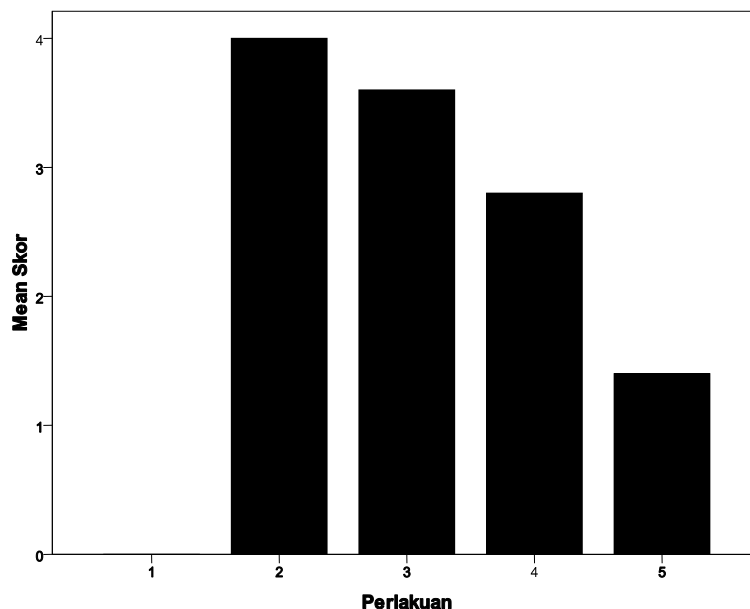
Gambar 1. Preparat Histopatologi Sel-Sel Eksokrin Pankreas Tikus Putih Kelompok Kontrol Negatif, (HE, 400x). **Gambar 2.** Gambaran Sel Pulau Langerhans yang Normal Kelompok Kontrol Negatif, (HE, 400x). **Gambar 3.** Autolisis pada Preparat Histopatologi Pankreas Tikus Putih Kelompok Kontrol Positif (HE, 400x).

pISSN : 2301-7848;eISSN : 2477-6637

(HE, 400x). **Gambar 4.** Preparat Histopatologi Pankreas Tikus Putih Kelompok Dosis Vitamin E 200 mg/kg (HE, 400x). **Gambar 5.** Preparat Histopatologi Sel-Sel Pulau Langerhans Pankreas Tikus Putih Kelompok Dosis Vitamin E 200 mg/kg (HE, 400x).

Berdasarkan uji Kruskal-Wallis terlihat bahwa ada perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) diantara 5 perlakuan diatas.. Uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) antara perlakuan kontrol Positif dan P(5) yakni tikus putih yang diberikan injeksi deksametason 0,13 mg/kg dan vitamin E dengan dosis 200 mg/kg per oral.

Grafik juga menunjukkan bahwa perlakuan ke 5 yakni tikus yang diberi injeksi deksametason secara subkutan dengan dosis 0,13 mg/kg dan vitamin E per oral dengan dosis 200 mg/kg menunjukkan gambaran histopatologi yang mendekati normal.



Gambar 6. Grafik Tiap Perlakuan Terhadap Skoring Kerusakan Pankreas.

Tampak kontrol negatif tidak ada perubahan histopatologi, sedangkan perubahan terparah terjadi pada kontrol positif (P1).

Glukokortikoid memiliki efek samping menyebabkan diabetes mellitus akibat steroid (Hoogwerf dan Danese, 1999; Schacke dan Docke, 2002). Sekresi insulin juga dihambat oleh glukokortikoid yang menyebabkan individu mengalami kondisi hiperglikemia (Jeong *et al*, 2001; Lambillotte *et al.*, 1997). Penelitian oleh Samsuri *et al.* (2011), menyebutkan secara spesifik bahwa deksametason berpengaruh terhadap hiperfungsi sel β pankreas.

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan akibat proses degenerasi yang reversibel. Kondisi ini dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya toksin, obat, suplai darah yang kurang, tidak ada inervasi syaraf, suhu, sinar radioaktif dan trauma mekanik (Berata *et al.*, 2011). Mekanisme kematian sel oleh deksametason terjadi karena obat ini berikatan dengan reseptor glukokortikoid pada sel. Deksametason menghambat transkripsi dari protein Bcl-2 yakni protein yang bertanggung jawab sebagai anti apoptosis. Deksametason juga mengganggu polaritas membran mitokondria, yaitu salah satu bagian dari sel berfungsi sebagai pabrik energi dari sebuah sel (Ranta *et al.*, 2006). Selain itu, obat golongan ini merupakan penyebab terjadinya stres oksidatif pada sel (Hegardt, 2003; Renner, 2002; Renner 2003; Tome, 2004; Tonomura, 2003). Vitamin E dikenal sebagai antioksidan yang baik untuk melawan radikal bebas seperti contohnya stres oksidatif yang dialami sel, sehingga efektif dalam menjaga integritas lipid dan membran fosfolipid (Sokol, 1996).

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak (Brigelius-Flohe, 1999). Vitamin E diserap secara difusi pasif di dalam dinding usus, digabungkan dengan kilomikron (lipoprotein) di usus yang kemudian diserap sistem limfatik. Dari sistem ini vitamin E kemudian ditransportasikan ke hati. Hati akan memasangkan vitamin E ini dengan *very low-density lipoprotein* (VLDL) dan dipecah oleh lipoprotein lipase menghasilkan *low-density lipoprotein* (LDL). Lipoprotein densitas rendah (LDL) secara bebas bertukaran vitamin E dengan *high density lipoprotein* (HDL) yang kemudian bersama-sama di sirkulasi mendistribusikan vitamin E ke dalam jaringan (Papas, 2008). Pada kelompok kontrol positif, nekrosis yang sangat parah disebabkan karena efek samping deksametason dan tidak diimbangi dengan zat-zat yang dapat mempertahankan kondisi normal pankreas (Sokol, 1996).

Pada kelompok tikus putih yang diberi vitamin E dosis 100 mg/kg dan 150 mg/kg, tampak perbaikan jaringan memang sudah terlihat namun dosis tersebut ternyata belum mampu memberikan kompensasi atas efek samping deksametason. Penelitian menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kg adalah dosis terbaik dibanding vitamin E dosis lain. Hal ini dapat dilihat pada gambaran histopatologi pankreas vitamin E dosis 200 mg/kg yang mendekati normal seperti yang ditunjukkan kelompok kontrol negatif.

SIMPULAN

Pemberian deksametason secara subkutan dengan dosis 0,13 mg/kg dapat menyebabkan nekrosis hingga autolisis pada pankreas tikus putih. Pemberian vitamin E dosis oral 200 mg/kg pada tikus putih dapat mengurangi efek samping deksametason yaitu nekrosis dan autolisis ($P < 0,01$) dibandingkan dosis 100 mg/kg dan 150 mg/kg.

SARAN

Perlu diadakan penelitian tentang pemberian deksametason dan vitamin E dengan dosis diatas 200 mg/kg terhadap gambaran histopatologi pankreas dan mengenai mekanisme lebih spesifik mengapa vitamin E dapat mengurangi efek samping pemberian deksametason.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada staff Balai Besar Veteriner Denpasar, laboratorium patologi dan farmakologi Universitas Udayana yang telah membantu selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Berata IK, Winaya IBO, Adi AAAM, Adnyana IBW. 2011. *Patologi Veteriner Umum*. Denpasar: Swasta Nulus.
- Brigelius-Flohe R, Traber MG. 1999. Vitamin E : Function and Metabolism. Maryland : *FASEB Journal* Vol 13.
- Hegardt C, Andersson G, Oredsson SM. 2003. Spermine prevents cytochrome c release in glucocorticoid-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Cellular Biology International* 27.
- Hoogwerf B, Danese RD. 1999. *Drug selection the management of corticosteroid related diabetes mellitus*. North America : Rheum Dis Clin.
- Jeong IK, Oh SH, Kim BJ, Chung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW. 2001. The effects of dexamethasone on insulin release and biosynthesis are dependent on the dose and duration of treatment. *Diabetes Res Clin Pract* 51.
- Schacke H, Docke WD, Asadullah K. 2002. *Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids*. Pharmacology Therapy.
- Kiernan JA. 1990. *Histological & Histochemical Methods : Theory & Practice. Second Edition*. Pergamon Press. 330-354.

Lambillotte C, Gilon P, Henquin JC. 1997. Direct glucocorticoid inhibition of insulin secretion: an in vitro study of dexamethasone effects in mouse islets. *J Clin Invest*.

Luo D. 2011. *Pankreatic Disease. Macmurray Gastroenterolgy*. Institute of Digestive Disease. The Chinese University of Hongkong.

Olson J. 2004. *Belajar Mudah Farmakologi*. Jakarta : EGC.

Papas AM. 2008. Vitamin E : A new Perspective. *Nutri News*, Februari 2008.

Ranta F, Avram D, Berchtolf S, Dufer M, Drews G, Lang F. dan Ullrich S. 2006. Original Article : *Dexamethasone Induces Cell Death in Insulin-Secreting Cells, an Effect Reversed by Exendin-4*. USA. American Diabetes Association.

Renner K, Kofler R, Gnaiger E. 2002. Mitochondrial function in glucocorticoid triggered T-ALL cells with transgenic bcl-2 expression. *Molecular Biology Report*.

Samsuri, Rahardjo dan Surdjarwo. 2011 . *The influences of Dexamethasone sodium phosphate to Insulin and Glucose level in young male rats body (Rattus norvegicus)*. Denpasar : Asosiasi Farmakologi dan Farmasi Veteriner.

Sherwood L. 2001. *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem Edisi ke-2*. Alih bahasa: Brahn U, editor: Beatricia IS. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC

Sokol RJ. 1996. Vitamin E. In: Ziegler EE, Filer, LJ, eds. *Present Knowledge in Nutrition*. 7th edition. Washington, DC: ILSI Press; 130–136.

Stell RGD and Torrie JH. (1991). *Principles and Procedures of Statistic. A Biomedical Approach. Second Edition*. Tokyo : Mc. Grow Hill.

Tome ME, Lutz NW, Briehl MM. 2004. Overexpression of catalase or Bcl-2 alters glucose and energy metabolism concomitant with dexamethasone resistance. *Biochim Biophys Acta* 1693:57–72.

Tonomura N, McLaughlin K, Grimm L, Goldsby RA, Osborne BA. 2003: Glucocorticoid-induced apoptosis of thymocytes: requirement of proteasome-dependent mitochondrial activity. *Journal of Immunology* 170:2469–2478.

