

## **Kerusakan Sel Hepar Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang di Induksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) setelah Diberi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.)**

### **The Damage of Hepar Cells of White Male Mice (*Rattus norvegicus*) which are induced by Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) after being given Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) Ethanol Extract**

**Aulia Risqi Rohmatin\*, Eko Susetyarini, Samsun Hadi**

PS Pendidik-FKIP-UMM, Jl. Raya Tlogomas No.246, Malang, Indonesia

\*E-mail: auliarohmatin44@yahoo.com

**Abstract:** The purpose of this study is to determine the effect of giving Bawang Dayak extract as a hepatoprotector to CCl<sub>4</sub> induced mice. The research design used in this study was experimental research design by using 25 white male mice aged 2-3 months as samples. The ethanol extract of Bawang Dayak was given orally and induce by using intraperitoneal injection, so the treatment was divided into 5 groups; group 1) negative control (without treatment), 2) positive control which was induced CCl<sub>4</sub> at a dose 1.3 ml/kg BW ip, 3) given Bawang Dayak extract at a dose 90 mg/kg BW po + CCl<sub>4</sub> induced at a dose 1.3 ml/kg BW ip, 4) given Bawang Dayak extract at a dose 100 mg/kg BW po + CCl<sub>4</sub> induced at a dose 1.3 ml/kg BW ip, 5) given Bawang Dayak extract at a dose 110 mg/kg BW po + CCl<sub>4</sub> induced at a dose 1.3 ml/kg BW ip. The treatment was done for 53 days. On the 54<sup>th</sup>-57<sup>th</sup> day, the mice were injected CCl<sub>4</sub> intra peritoneal. On the 58<sup>th</sup> day, the mice were dissected and taken the hepar organ. After that, making the hepar preparat with safranin staining was done. The observation was done by looking at the damaged hepar cells which were classified into piknotik, main karioreksi and kariolisis from 3 fields of view. The data was analyzed by Anova One Way. The result of the study showed the average score of hepar damage of group 1=48, group 2=107.4, group 3=89.2, group 4=61.8, and group 5=45. The analysis showed that giving Bawang Dayak extract at a dose 110 mg/kg BW could improve hepatoprotector CCl<sub>4</sub> induced mice.

**Keywords:** Bawang dayak, CCl<sub>4</sub>, damage histology liver cells.

## **1. PENDAHULUAN**

Hati merupakan organ metabolisme terpenting dalam proses sintesis, penyimpanan, dan metabolisme. Salah satu fungsi hati adalah detoksifikasi (menawarkan racun tubuh), sehingga hati sangat mudah menjadi sasaran utama toksikasi (Diaz, 2006). Hati merupakan organ berbentuk baji dengan berat rata-rata 1,5 kg atau 2,5% berat badan dewasa normal. Menurut Price, S (1995) Hati merupakan organ plastis lunak yang tercetak oleh struktur sekitarnya dan dapat menerima 1.500 ml darah per menit, yakni 28% dari output jantung.

Penyakit hati tergolong sebagai salah satu penyakit yang menjadi problem nasional di Indonesia dan di negara-negara berkembang pada umumnya, bahkan merupakan permasalahan yang hangat di negara-negara maju. Berdasarkan laporan dari semua RSUP tipe A dan B di seluruh Indonesia, ternyata

penyakit hepar menempati urutan ketiga setelah penyakit infeksi dan penyakit paru, bahkan penyakit hepar merupakan penyebab kematian yang tergolong tinggi (Hadi, 1989).

Berdasarkan data WHO, virus hepatitis B kronis diperkirakan menyerang 350 juta orang di dunia, terutama Asia tenggara dan Afrika, dan menyebabkan kematian 1,2 juta orang pertahun. Data WHO menunjukkan 15–25% dari 350 juta orang tersebut terinfeksi hepatitis B kronis dan meninggal dunia karena komplikasi dari sirosis dan kanker hati. Virus hepatitis B menjadi pembunuh nomor 10 di dunia dengan jumlah orang terinfeksi mencapai 2 milyar jiwa. Indonesia pada tahun 2007 sampai 2012 yang terkumpul dari 21 provinsi dan 49 kabupaten didapatkan penderita hepatitis B melebihi 31%. Banyaknya masyarakat terinfeksi hepatitis B ialah yang berumur paling tinggi 29 tahun. Dalam daya cakupan pada 2000-2012 peningkatan penyakit



hepatitis sangatlah signifikan antara 50% sampai 80% Kementerian Kesehatan (kemenkes) 2012 dalam Sindonews (2013).

Karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) adalah zat hepatotoksik yang paling sering digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan hepatotoksitas. CCl<sub>4</sub> dapat menyebabkan kerusakan pada hati yang disebabkan oleh radikal bebas. CCl<sub>4</sub> memerlukan aktivasi metabolisme terutama oleh enzim sitokrom P450 di hati. Aktivasi tersebut akan mengubah CCl<sub>4</sub> menjadi metabolit yang lebih toksik, sehingga dapat menyebabkan kerusakan hati pada hewan coba dan manusia. Pembentukan radikal bebas yang berlebihan akan mengakibatkan stress oksidatif, yang dapat menimbulkan gangguan pada hati. Stres oksidatif yang berlebihan dalam tubuh perlu tambahan antioksidan dari luar. Proses menginduksi peradangan hepar pada hewan coba (tikus putih) sering digunakan CCl<sub>4</sub>, karena gambaran hispatologi yang ditimbulkan mirip dengan penyakit hepatitis virus pada manusia. Cedera hepar akibat toksis CCl<sub>4</sub> diantaranya adalah nekrosis yaitu perubahan morfologis yang menunjukkan kematian sel, terhalangnya sintesa lipoprotein yang membawa trigliserida keluar dari hepar, terjadinya sirosis yaitu tidak efisiennya fungsi regeneratif sel-sel hepar (Widiyanto, 2003).

Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) berasal dari Amerika Tropik. Tanaman ini sudah banyak dikembangkan di Indonesia. Semula dipelihara sebagai tanaman hias, kemudian berubah menjadi tanaman liar. Banyak terdapat di daerah pegunungan antara 600 sampai 1500 m di atas permukaan laut. Bawang dayak merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Bulbus tanaman bawang dayak dimanfaatkan sebagai obat kanker payudara oleh masyarakat lokal Kalimantan, selain itu dapat juga digunakan untuk mengatasi gangguan jantung, meningkatkan daya tahan tubuh, sebagai antiinflamasi, antitumor serta dapat menghentikan pendarahan (Saptowalyono, 2007; Sa'roni dkk., 1987).

Kandungan yang terdapat dalam Bawang Dayak terdiri dari senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, tanin, steroid dan kuinon hasil skrining fitokimia terhadap bawang dayak diperoleh adanya alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, antraknon glikosida, tanin dan triterpenoid/steroid. komponen bawang dayak mengandung antioksidan seperti flavonoid yang berperan sebagai hepatoprotektor terhadap kerusakan hati yang diinduksi hepatotoksik (firdaus, 2006).

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol bawang dayak terhadap gambaran histologi hepar tikus putih jantan yang dikembangkan dalam judul :

Kerusakan Sel Hepar Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang di Induksi Karbon Tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) Setelah Diberi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.)

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian dalam kegiatan ini adalah eksperimental sesungguhnya (*True Experimental Research*) karena dalam penelitian, peneliti dapat mengontrol semua variabel luar yang mempengaruhi jalannya eksperimen. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan the post test only control group design, yaitu rancangan eksperimen tanpa ada pengukuran awal (pretest) tetapi hanya posttest saja (Rofieq, 2001).

### 2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 15 April-18 Juni 2015 di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang.

### 2.3 Alat dan Bahan

- Hewan coba: Tikus putih strain wistar berjumlah 25 ekor, berkelamin jantan, usia 2-3 bulan, berat badan  $\pm$ 200-250 gram.
- Alat dan bahan pembuatan ekstrak Bawang Dayak: timbangan analitik, blender, spatula, mangkok plastik, kain saring, kertas label, beaker glass, gelas ukur, gelas destilasi, destilator, etanol 96%, bawang dayak 1000 gram
- Alat untuk pemberian ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) kepada tikus putih: Sonde 3 ml dengan selang kecil yang dapat dimasukkan pada mulut tikus putih sampai ketenggorokan
- Alat dan bahan pemaparan CCl<sub>4</sub>: *beaker glass*, jarum suntik 1 ml, mikropipet, pipet ukur, CCl<sub>4</sub> 10 ml dan minyak jagung 10 ml
- Alat dan bahan untuk pemeliharaan hewan coba: kandang, tempat pakan dan minum, sekam, BR<sub>1</sub> dan aquades.
- Alat dan bahan pembuatan preparat histologi: alat bedah, tabung kloroform, formalin 10%, alkohol bertingkat 50%, 70%, 100%, xylol, paraffin, safranin, enthilen, mikrotom, kaca objek, kaca penutup, dan mikroskop.

## 2.4 Preparasi Penelitian

Pada tahap ini dilakukan pembuatan ekstrak bawang dayak dengan rincian sebagai berikut :

- Bawang Dayak segar dicuci dan dibersihkan dengan air, kemudian diangin-anginan
- Bawang Dayak yang sudah kering kemudian dihaluskan
- Menimbang 1000 gram bawang dayak
- Dimaserasi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:3 selama 24 jam
- Ekstrak disaring dengan menggunakan kain saring
- Ekstrak didestilasi sehingga dihasilkan ekstrak bawang dayak dengan konsentrasi 100%

Tahap persiapan juga dilakukan proses pengenceran CCl<sub>4</sub>:

- Mengambil CCl<sub>4</sub> dengan pipet ukur sebanyak 5 ml
- Melarutkan CCl<sub>4</sub> dengan minyak jagung didalam *beaker glass* dengan dosis 1:1 sebanyak 5 ml CCl<sub>4</sub> dan minyak jagung 5 ml dengan konsentrasi 50%. Kemudian mengaduk hingga rata.
- Mengambil larutan CCl<sub>4</sub> dengan dosis 1,3 ml/kg Berat Badan tikus kemudian di injeksi intraperitorial

## 2.5 Proses Penelitian

### 2.5.1 Pemeliharaan Tikus

Proses pemeliharaan tikus putih berlangsung selama 53 hari dengan waktu aklimasi 1 minggu, dan dilakukan proses pemeliharaan sebagai berikut:

- Mengaklimasi 25 ekor tikus putih dalam kandang pemeliharaan selama 7 hari
- Memberi makan 1 kali dalam sehari
- Memberi minum dengan aquades
- Mengganti sekam 2 hari sekali, dimaksudkan untuk menjaga kebersihan kandang agar tidak lembab dan tidak kotor
- Setelah masa adaptasi, tikus putih diberi perlakuan sesuai kelompoknya setiap hari selama 53 hari
- Pada hari ke-54 tikus diinduksi CCl<sub>4</sub> setiap hari selama 3 hari

### 2.5.2 Pembedahan Tikus

- Tikus dibius dengan klorofom kemudian dilakukan pembedahan dibagian perut secara horizontal dan vertikal
- Perut tikus dibedah untuk diambil organ heparnya.

### 2.5.3 Pembuatan Preparat Histologi

- Organ hepar diletakkan pada tabung organ dan difiksasi dengan formalin 10% selama 24 jam

- Dilakukan dehidrasi dengan merendam pada alkohol bertingkat yaitu pada konsentrasi 50%, 70%, dan 2 kali alkohol absolut masing-masing 30 menit
- Dilakukan *clearing* dengan menggunakan alkohol dan *xilol* dengan perbandingan alkohol : *xilol* (3:1, 1:1, 1:3) dan dua kali *xilol* masing-masing selama 60 menit
- Dilakukan proses infiltrasi dengan *xilol* dan *paraffin* dengan perbandingan *xilol* : *paraffin* 3:1 1:1 1:3 dan 1 kali *paraffin* murni selama 1 jam pada suhu 46<sup>0</sup> - 52<sup>0</sup> C
- Dilakukan *blocking* dengan *paraffin* keras pada suhu 46<sup>0</sup> - 52<sup>0</sup> C selama 1 jam
- Kemudian dipotong dengan mikrotom yang berukuran 3-5 milimikron dan potongan direkatkan pada kaca objek
- Dilakukan deparafinisasi yaitu dengan perendaman dengan *xilol* 2 kali alkohol absolute, 70%, 50% dan 30% masing selama 3 menit
- Dilakukan pewarnaan *safranin* dengan langkah-langkah sebagai berikut:
  - Perendaman dengan *safranin* selama 3 menit
  - Dehidrasi alkohol bertingkat 50%, 70%, dan 2 kali alkohol absolute
  - Pemberian *xilol* selama 5 menit
  - Mounting* menggunakan perekat entelen
  - Panaskan pada suhu 46<sup>0</sup> - 52<sup>0</sup> C didalam inkubator selama 24 jam
- Diamati dengan mikroskop

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Analisis Data

#### 3.1.1 Skor Kerusakan Hepar (SKH) Tikus Putih Jantan

Pada perhitungan sel hepar yang dilakukan dibawah mikroskop, didapatkan Skor Kerusakan Hati (SKH) tikus putih jantan sebagai berikut:

$$SKH = (\sum \text{sel piknotik} \times 1) + (\sum \text{sel karioreksis} \times 2) + (\sum \text{sel kariolisis} \times 3)$$

$\sum$  sel piknotik : Jumlah inti piknotik dalam 1 lobulus yang diamati

$\sum$  sel karioreksis : Jumlah inti karioreksis dalam 1 lobulus yang diamati

$\sum$  sel kariolisis : Jumlah inti kariolisis dalam 1 lobulus yang diamati

(Alfiansyah, 2008)



Tabel 1. Skor Kerusakan Sel Hati

No.	Normal	Piknotik	Karioreksis	Kariolisis	SKH
<b>Kontrol - (Tanpa Perlakuan)</b>					
1	67	20	12	1	47
2	71	17	10	2	43
3	69	19	8	4	47
4	60	25	10	5	60
5	69	23	4	4	43
Total					240
Rata-Rata					48
<b>Kontrol + (Suntik CCl<sub>4</sub>)</b>					
1	45	38	15	12	104
2	30	36	28	6	110
3	33	39	22	6	101
4	37	22	30	11	115
5	34	32	27	7	107
Total					537
Rata-rata					107.4
<b>90 mg/Kg BB</b>					
1	62	19	11	8	65
2	38	32	21	9	101
3	41	33	9	17	102
4	37	41	15	7	92
5	43	34	17	6	86
Total					446
Rata-Rata					89.2
<b>100 mg/Kg BB</b>					
1	51	38	6	5	65
2	53	36	8	3	61
3	53	34	10	3	63
4	51	39	8	2	61
5	56	35	3	6	59
Total					309
Rata-Rata					61.8
<b>110 mg/Kg BB</b>					
1	68	23	8	1	42
2	66	27	5	2	43
3	68	26	4	2	40
4	62	26	7	5	55
5	64	30	3	3	45
Total					225
Rata-Rata					45

Keterangan :

SKH : Skor kerusakan sel hati

1: Nilai untuk setiap inti piknotik

2 : Nilai untuk setiap inti karioreksis

3 : Nilai untuk setiap inti kariolisis

Hasil SKH Pada Tabel 1, diperoleh data dan kemudian dianalisis menggunakan SPSS yang mendapatkan hasil sebagai berikut:

Dilakukan uji normalitas data yang didapatkan nilai skewness 1,03 dan nilai kurtosis -1,55. Kisaran nilai tersebut berada diantara nilai 2 yaitu  $-1,55 < 2 > 1,03$ , maka dapat diambil kesimpulan bahwa data normal. Analisis data dilanjutkan dengan uji

homogenitas yang menghasilkan nilai signifikan 0,78, karena  $0,78 > 0,05$  maka dapat disimpulkan data tersebut homogen.

Analisis data kemudian dilanjutkan dengan uji Anova *One Way* yang menunjukkan hasil perhitungan signifikan 0,00 yang menunjukkan nilai signifikan  $< 0,05$ , maka anova ditolak, sehingga rata-rata perlakuan tidak sama. Berdasarkan analisis data yang dilakukan, menunjukkan bahwa berbagai perlakuan yang diberikan menunjukkan perbedaan.

Adapun hasil pengamatan preparat histologi hepar tikus putih sebagai berikut:



1). Histologi hati tikus putih jantan kontrol negatif (tanpa perlakuan)



2) Histologi hati tikus putih jantan kontrol positif dengan induksi (suntik) CCl<sub>4</sub> dosis 1,3 ml/kg ip



3). Histologi hati tikus dengan pemberian ekstrak bawang dayak dosis 90 mg/kg BB + induksi (suntik) CCl<sub>4</sub> dosis 1,3 ml/kg BB ip



4) Histologi hati tikus dengan pemberian ekstrak bawang dayak dosis 100 mg/kg BB + induksi (suntik) CCl<sub>4</sub> dosis 1,3 ml/kg BB ip



5) Histologi hati tikus dengan pemberian ekstrak bawang dayak dosis 110 mg/kg BB + induksi (suntik) CCl<sub>4</sub> dosis 1,3 ml/kg BB ip

### 3.2 Pembahasan

Analisis data yang dilakukan menunjukkan bahwa berbagai perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda. Kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tanpa perlakuan memiliki gambaran histologi dan SKH rendah atau bisa dikatakan kelompok tersebut memiliki sel hepar yang relatif baik. Pada kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi CCl<sub>4</sub> memiliki gambaran histologi hepar yang jelek karena sel

heparinya memiliki banyak gumpalan lemak dengan SKH yang tinggi.

Karbon tetraklorida merupakan zat kimia golongan hidrokarbon alifatik terhalogenasi yang bersifat toksik terhadap hati (Katzung, 1997; Olson, 2004). Tanda jelas kematian sel terdapat dalam intinya. Biasanya sel yang telah mati intinya menyusut, tampak lebih padat, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap (hiperkromatik), proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik. Kemungkinan lain, inti dapat hancur, robek dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini disebut karioreksis. Pada beberapa keadaan, inti sel yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai sehingga menjadi pucat dan menghilang begitu saja atau tidak nyata, proses ini disebut kariolisis (Robbins dan Kumar, 1995; Price dan Wilson, 1997).

Kelompok perlakuan 3 yang diberikan ekstrak etanol bawang dayak dengan dosis masing-masing 90 mg/kg BB po + 1,3 ml/kg BB ip menunjukkan perbaikan SKH yang mulai menurun dibandingkan kelompok kontrol positif. Gambaran histologi kelompok ini masih terdapat gumpalan lemak.

Kelompok 4 yaitu perlakuan ekstrak etanol bawang dayak dengan dosis 100 mg/kg BB po + 1,3 ml/kg BB ip memiliki SKH yang masih lumayan tinggi namun sudah mengalami penurunan skor dibandingkan dengan kelompok 3. Gambaran histologi kelompok 4 juga masih menunjukkan adanya lemak pada sel-sel heparinya, namun lemak tersebut tidak sebanyak pada kelompok 3 dan kelompok kontrol positif.

Kelompok 5 yaitu perlakuan ekstrak etanol bawang dayak dengan dosis 110 mg/kg BB po + 1,3 ml/kg BB ip menunjukkan SKH yang lumayan rendah dan hampir mendekati SKH kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tanpa perlakuan. Gambaran histologi kelompok 5 masih terdapat beberapa sel yang dilapisi lemak, namun tidak terlalu banyak.

#### 4. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol bawang dayak memberikan pengaruh terhadap gambaran histologi tikus putih jantan dan dapat meningkatkan daya tahan hepar. Pemberian ekstrak etanol dengan dosis 110 mg/BB po memiliki gambaran histologi sel hepar tikus putih yang mendekati gambaran histologi tikus putih normal atau tanpa perlakuan. Sehingga, dosis 110 mg/BB po merupakan dosis terbaik sebagai hepatoprotektor tikus putih jantan.

#### 5. UCAPAN TERIMAKASIH

Kepada orang tuaku Bpk. Sumartono Budi Susilo dan Ibu Musyarofah serta kakakku Aulia Enggar Nastiti terima kasih atas segala dorongan dan dukungan yang telah diberikan. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Dr. Rr. Eko Susetyarini, M.Si dan Drs. Samsun Hadi, M.Si yang dengan penuh kesabaran membimbing penulis dalam proses penelitian dan pembuatan paper ini. Kepada seluruh pihak yang telah memberikan bantuan, dukungan, saran serta do'a, saya ucapkan banyak terima kasih.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- Alfiansyah M. (2008). Pengaruh Pemberian Boraks (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O) Terhadap Perubahan Struktur Histologis Sel. Hati Mencit (*Mus musculus*). Skripsi tidak diterbitkan: 4-21.
- Diaz. (2006). *Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol 50% Jamur Lingzhi (Ganoderma lucidium) pada Tikus Jantan yang diinduksi Paracetamol*. Karya Tulis Akhir tidak diterbitkan. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Firdaus, R. (2006). *Telaah Kandungan Kimia Ekstrak Metanol Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine americana (Aubl.) Merr.)*. Skripsi tidak diterbitkan. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hadi S. (1989). *Masalah penyakit hati menahun dan upaya penanggulangannya*. Bandung. Disampaikan pada pengukuhan guru besar Universitas Padjajaran.
- Katzung B. G. (1997). *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi VI*. Jakarta: EGC.
- Sindonews. (2013). (Online) <http://nasional.sindonews.com/read/735884/15/penyakit-hepatitis-menjadi-masalah-serius-indonesia-1365431117>. 5/01/2015).
- Price, A. S. (1995). *Patofisiologi; Konsep-konsep Klinis Proses Penyakit Edisi IV*. EGC. Jakarta.
- Robbins, S. L., & Kumar, V. (1995). *Buku Ajar Patologi I Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Rofieq, A. (2001). *Metodologi Penelitian*. Malang: UMM Press.
- Saptowalyono, C.A. (2008). *Bawang Dayak, Tanaman Obat Kanker Yang Belum Tergarap*. [online] <http://www2.kompas.com/ver1/Kesehatan/0702/19/170611>. Htm. 31/10/2008.
- Widiyanto. (2003). *Efek pemberian Dekok Meniran (Phallatus niruri L.) Terhadap Kadar Malonaldehid (MDA) Hepar ikus (Rattus norvegicus stain wistar) Yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>*



