

Studi Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih Strain Wistar yang Diinduksi Aspirin Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.)

Arfatul Makiyah¹, Lela Laelatul Khumaisah²

¹ Dosen Prodi D3 Keperawatan Universitas Muhammadiyah Sukabumi Kota Sukabumi

² Dosen Prodi Kimia Universitas Muhammadiyah Sukabumi Kota Sukabumi

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran histopatologi hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.). Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium terhadap tikus putih strain wistar. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Universitas Padjadjaran pada bulan April-Mei 2018. Tikus putih strain wistar sebanyak 25 ekor dibagi menjadi 5 kelompok. Tikus putih strain wistar pada setiap perlakuan diberikan secara oral selama 7 hari pada tanggal 8-14 April 2018. Parameter gambaran histopatologi hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) dengan 3 dosis yang berbeda (220 mg/kgBB, 110 mg/kgBB, 55 mg/kgBB) adalah Preparat histopatologi hepar masing-masing dilakukan 5 lapang pandang mikroskopik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Hasil Uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa kelompok tikus putih strain wistar yang diberi ekstrak dengan dosis masing-masing 110 dan 220 mg/kgBB lebih banyak ($p < 0,05$) tikus putih strain wistar yang mengalami penebalan septa interalveolaris dibandingkan kelompok I (kontrol). terdekat dengan vena sentralis (zona 3) memiliki kandungan oksigen terkecil (sekitar 4-5% O_2). pemberian ekstrak terstandar etanol umbi iles-iles dosis tunggal 110 mg/kgBB dan 220 mg/kgBB pada tikus putih strain wistar tampak menimbulkan perubahan histopatologi berupa radang, nekrosis, kongesti dan perlemakan hepar. Kelemahan penelitian ini adalah tidak terdeteksinya kondisi organ-organ dalam tikus putih strain wistar sebelum perlakuan sehingga tidak diketahui bagaimana histopatologinya.

Kata kunci: Ekstrak Etanol, Histopatologi, Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.)

Histopathology Overview Hepar Mice White Study of Aspirin-induced Wistar Strain Post-Giving Ethanol Extracts Iles-iles Bulb (*Amorphophallus variabilis* Bl.)

Abstract

The purpose of this study was to determine the histopathologic features of wistar-induced white rat strains induced by aspirin after administration of iles-iles bulb extract (*Amorphophallus variabilis* Bl.). This study is a laboratory experimental study of white wistar strains. This research was conducted at Pharmacology Laboratory of Padjadjaran University in April-May 2018. Wistar white rat strain of 25 tails was divided into 5 groups. Wistar strain white rats on each treatment were administered orally for 7 days on 8-14 April 2018. Histopathologic image parameters of wistar-induced aspirin-induced wistar strains post-extracted iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) With 3 different doses (220 mg/kgBW, 110 mg/kgBW, 55 mg/kgBW) were Histopathologic Preparations of each of the 5 microscopic fields. The results showed that the results of Kruskal Wallis test showed that the groups of white rat strains wistar extracted with dose respectively 110 and 220 mg/kgBB more ($p < 0.05$) white rat strain wistar thickened septal interalveolaris compared to group I (control). closest to the central venous (zone 3) has the smallest oxygen content (about 4-5% O_2). the provision of standard ethanol extract of iles-iles tuber single dose of 110 mg/kgBW and 220 mg/kgBW in white mice of wistar strains appears to cause histopathological changes such as inflammation, necrosis, congestion and hepatic fatty acids.

The weakness of this study is the detection of the condition of the organs in white wistar strains before treatment so it is not known how the histopathology.

Key words: Ethanol Extract, Iles-iles Tubers (*Amorphophallus variabilis* Bl.), Histopathology

Pendahuluan

Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* BL) tergolong marga *Amorphophallus* dan termasuk ke dalam suku talas-talasan (*Araceae*). Iles-iles adalah dua contoh bahan alam yang sudah diteliti memiliki khasiat sebagai zat anti radang, sehingga sampai saat ini sedang diteliti formulasi dan pembuatan sediaan campuran umbi ileles sebagai alternatif anti radang/inflamasi pada luka. Penggunaan ekstrak umbi ileles sebagai anti radang/inflamasi harus diteliti lebih lanjut karena akan digunakan dalam jangka panjang. Selain itu, ekstrak umbi ileles juga harus lolos uji toksisitas akut, subkronis dan kronis karena belum diketahui secara pasti ada atau tidaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak umbi ileles yang dapat menimbulkan efek samping ataupun perubahan fungsi organ.¹

Tanaman umbi ileles merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat alami. Umbi ileles berkhasiat sebagai obat bisul, luka iris dan luka karena gigitan binatang berbisa. Umbi ileles memiliki kandungan kimia, antara lain: air, glukomanan, saponin, flavonoid, pati, protein, lemak, serat kasar dan kalsium oksalat. Sedangkan daun ileles mengandung tanin. Kandungan kimia alami yang terdapat pada umbi ileles yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan memacu aktifitas makrofag sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh adalah flavonoid, saponin dan polisakarida.²

Mengingat pemanfaatannya yang cukup luas spektrumnya terutama pada penyakit infeksi, sangat mungkin efek yang ditimbulkan adalah efek positif sebagai imunostimulator. Untuk menguji hal itu, penelitian dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas makrofag. Umbi ileles memiliki kandungan kimia yaitu : air, glukomanan, saponin, flavonoid, pati, protein, lemak, serat kasar dan kalsium oksalat. Sedangkan daun ileles memiliki kandungan kimia yaitu tanin. Kandungan kimia alami yang terdapat pada umbi ileles yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi dan memacu aktifitas makrofag sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh adalah flavonoid dan saponin.³

Beberapa penelitian mengenai khasiat ileles selain sebagai obat bisul, luka iris dan luka karena gigitan binatang berbisa telah dilakukan, antara lain : ileles diyakini mampu menormalkan kadar kolesterol, mencegah tekanan darah tinggi, dan menormalkan kadar gula darah. Penelitian serupa dilakukan juga terhadap ekstrak umbi ileles yang digunakan dalam medium pertumbuhan mikroba pengganti agar. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak umbi ileles sebagai alternatif diversifikasi makanan diet bagi penderita

Diabetes Mellitus, didasarkan pada hasil penelitian Ir. Didah Nur Faridah, MSc, staf pengajar Fakultas Teknologi Pertanian IPB yang menunjukkan bahwa umbi iles-iles (*Amorphophallus*) memiliki nilai Indeks Glukomanan-nya (IG) cukup rendah yaitu sebesar 42. sehingga, Iles-iles termasuk bahan pangan yang memiliki nilai IG rendah (kurang dari 55).⁴

Paradigma yang berkembang di masyarakat kita saat ini adalah bahwa ramuan tradisional dikarenakan bahan-bahannya berasal dari alam adalah tidak berbahaya dan tidak mempunyai efek samping. Anggapan itu tidak sepenuhnya benar, karena itu diperlukan informasi yang menyampaikan tentang batas aman penggunaan obat tradisional. Salah satu tolak ukur awal yang diperlukan untuk mengevaluasi keamanan suatu obat (ramuan tradisional) adalah potensi ketoksikan akut obat atau ramuan tradisional terkait.⁵

Aspirin merupakan salah satu jenis non steroid *anti-inflammatory drugs* atau (NSAIDs) yang banyak digunakan pada pengobatan nyeri ringan sampai sedang (Gunawan, 2007). Efek farmakologi aspirin antara lain analgesik, antipiretik, anti inflamasi dan anti koagulan. Jika aspirin diberikan secara oral maka akan diabsorpsi dengan baik di usus halus, dihidrolisa dalam darah dan di jaringan menjadi asetat dan asam salisilat, yang merupakan komponen aktif. Waktu yang diperlukan untuk dihidrolisa di hepar sehingga menjadi bentuk salisilat dalam plasma kira-kira 30 menit.⁶

Selain memiliki efek terapi, aspirin juga memiliki beberapa efek samping diantaranya nyeri abdominal, hipokalemia, hipoglikemia, pireksia, hiperventilasi, distrimia, hipotensi, halusinasi, gagal ginjal, koma, dan berakhir pada kematian, jika overdosis. Selain itu juga aspirin mempunyai efek toksisitas yang tinggi.⁶

Organ yang berperan sebagai detoksifikasi adalah hepar. Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang mempunyai banyak fungsi termasuk memetabolisme obat (Sherlock, 1995). Hepar juga memiliki keterbatasan fungsi detoksifikasi sebagai efek overdosis zat toksik. Biasanya proses detoksifikasi dan beberapa komponen obat memproduksi komponen dengan toksisitas yang lebih tinggi dan sering bermanifestasi pada tempat sintesis komponen tersebut. Jika zat hepatotoksik melewati batas fisiologisnya, maka akan terjadi patofisiologis, termasuk akibat zat aspirin.⁶

Salah satu efek samping dari terapi aspirin adalah ulkus lambung, sehingga dilakukan cara mencegah efek samping tersebut. Salah satu upaya yang dilakukan adalah pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles sebelum diberikan aspirin.⁷ Ekstrak etanol umbi iles-iles dapat digunakan untuk pengobatan kasus hepatitis kronis, karena ekstrak etanol umbi iles-iles meningkatkan persediaan glikogen hepar melalui peningkatan glukosa darah. Ekstrak etanol umbi iles-iles memiliki kemampuan untuk mengeliminasi radikal

bebas melalui reaksi reduksi dan konjugasi sehingga dapat digunakan sebagai protektor organ hepar akibat dari paparan radikal bebas. Ekstrak etanol umbi iles-iles sebagai obat dapat digunakan sebagai antibakteri, diare, meredakan alergi, kosmetika, antikanker, anti hepatotoksik.⁸ Antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak etanol umbi iles-iles seperti vitamin E dan beta karoten yang mampu melawan oksigen perusak khususnya radikal bebas dan peroksidasi lipid dalam jaringan.⁹

Sejauh mana pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles dapat memproteksi lambung dari kejadian ulkus serta hepar dari kemungkinan efek aspirin yang diberikan setelahnya. Menjawab hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian.

Metode

Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan desain *post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih galur strain wistar dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Subjek penelitian adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*) strain wistar yang diperoleh dari Laboratorium Biofarma Bandung. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Padjadjaran, Bandung, yang dilaksanakan pada bulan April 2018.

Sampel yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus Norvegicus*), umur 2 bulan dengan berat badan ± 200 gram. Bahan utama untuk perlakuan adalah aspirin. Bahan Lain yang digunakan adalah kapas, alkohol, larutan Netral Buffer Formalin 10% untuk fiksasi, bahan pembuatan preparat histopatologi seperti alkohol, xylol, paraffin, gliserin, dan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Kandang tikus berupa bak plastik tertutup kawat dan diberi alas serbuk gergaji serta dilengkapi dengan tempat makan dan minum, spuit injeksi, ember, alat bedah, tempat jaringan, *tissue processor*, mikroskop cahaya, mikrotom, *waterbath*, gelas obyek, dan gelas penutup.

Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, sehingga masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor tikus. Perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut: KK sebagai kelompok kontrol diberi aquadest 1 ml/kg BB, sedangkan kelompok perlakuan (KP): KP1 diberi larutan ekstrak etanol umbi iles-iles dosis 220 mg/kg BB; KP2 diberi larutan ekstrak etanol umbi iles-iles dosis 110 mg/kg BB; KP3 diberi larutan ekstrak etanol umbi iles-iles dosis 55 mg/kg BB. Pemberian larutan ekstrak etanol umbi iles-iles dilakukan per oral,

sekali setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke 7 semua kelompok perlakuan diberikan aspirin 150 mg/kg BB, 1 jam pasca pemberian . Pada hari ke-8 semua tikus percobaan dieuthanasia dan dinekropsi. Hepar diambil dan diperiksa untuk selanjutnya diproses dalam pembuatan preparat histopatologis.

Organ hepar diambil dan dipotong menjadi ukuran 1x1x1 cm kemudian difiksasi dalam NBF 10% selama 24 jam. Setelah *distreaming*, kemudian dimasukkan dalam *tissue cassette* masing-masing sesuai kelompok perlakuan. *Tissue cassette* dimasukkan dalam *tissue processor* untuk tahap dehidrasi, *clearing*, *embedding*. Sedangkan tahap blocking dilakukan dengan paraffin blok, selanjutnya *cutting* dengan mikrotom dalam ketebalan 5-6 μ . Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Setelah dikeringkan dan ditutup dengan cover glas, preparat siap diperiksa di bawah mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: ekstrak etanol umbi iles-iles. Umbi iles-iles, hasil determinasi tanaman di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB menyatakan bahwa tanaman tersebut adalah *Amorphophallus variabilis* Bl. dari suku *Araceae*. Umbi Iles-iles sebagai bahan uji diambil dari perkebunan di daerah depok dan majalengka, Jawa Barat. Umbi yang dipilih adalah umbi iles-iles dewasa yang siap panen, kemudian dilakukan ekstraksi di Laboratorium Farmasi Institut Teknologi Bandung (ITB), *Aquadest* steril (*aquabidest*), NaCl 0,9% bebas pirogen, alkohol 70% dan metanol absolut. Larutan *chloroform* untuk eutanasi hewan uji coba, yaitu tikus putih strain wistar.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Perangkat alat pengukur berat : timbangan hewan, timbangan digital Agis (skala 0-2000 gram) dengan ketelitian 0,01 gram. Peralatan adaptasi hewan coba : kandang tikus putih, tempat minum tikus putih, feeding tube FR-5. Peralatan alat pembuat ekstrak etanol umbi iles-iles : maserator, *rotary evaporator*, oven. Peralatan pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles secara oral : suntik oral 5 ml dengan jarum ukuran 18 gauge, botol untuk menyimpan dosis. Peralatan kultur *in vivo* tabung reaksi, mikro pipet (pipet *eppendorf*), pipet. Peralatan pemeriksaan fisik : peralatan bedah minor, erlenmeyer 500 ml, tabung sampel darah *eppendorf*, spuit injeksi 1 cc, 3 cc, 5 cc dan 10 cc. Peralatan pengamatan mikroskopis: *cover glass* dan *object glass*, minyak imersi, sentrifugator 2500 rpm. Peralatan untuk pengamatan fisik dan mikroskopis adalah mikroskop cahaya (Olympus®) BX61 dengan perbesaran 1000x dan LCD Notebook. Peralatan dokumentasi : kamera digital.

Dosis ekstrak etanol umbi iles-iles ini didapatkan hasil konversi dosis lazim pada manusia dengan perhitungan sebagai berikut: Berat bersih simplisia umbi iles-iles 1500 gram; Berat bersih ekstrak etanol umbi iles-iles 41,6 gram ($\pm 2\%$ berat simplisia); Dosis lazim simplisia pada manusia per hari 3×1 sendok serbuk simplisia = 3×10 gram = 30 gr simplisia; Dosis ekstrak etanol umbi iles-iles pada manusia (70 kg) per hari $2\% \times 30$ gr simplisia 0,6 gr ekstrak etanol umbi iles-iles; Dosis ekstrak etanol umbi iles-iles pada tikus (200 mg) per hari $0,018 \times 0,6$ gram = 0,0108 gram = 10,8 mg ≈ 11 mg = 55 mg/kgBB.

Dua puluh lima ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan untuk melihat gambaran histopatologis hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.). Kemudian tikus diadaptasikan selama 7 hari dengan pemberian pellet, agar tikus sehat. Kelompok perlakuan dilakukan selama 7 hari, untuk melihat gambaran histopatologis hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) masing-masing perlakuan sebagai berikut: Kelompok I (kelompok kontrol dengan aquadest); Kelompok II (ekstrak etanol umbi iles-iles dosis 220 mg/kgBB); Kelompok III (ekstrak etanol umbi iles-iles dosis 110 mg/kgBB); Kelompok IV (ekstrak etanol umbi iles-iles dosis 55 mg/kgBB).

Seri dosis ekstrak etanol umbi iles-iles dibuat dengan melarutkan sejumlah x mg ekstrak etanol umbi iles-iles ditambahkan pelarut (larutan *aquadest* sebanyak 5 ml/ekor tikus putih strain wistar). *Aquadest* digunakan sebagai kontrol pelarut maupun kontrol normal. Pada hari ke 7 tikus disuntik oral dengan secara intravena (i.v) dengan ekstrak etanol dosis 55 mg/kgbb, 110 mg/kgbb, dan 220 mg/kgbb, kemudian dibiarkan dalam 30 menit, 4 jam, 24 jam, 48 jam, 1 minggu dan 2 minggu.

Sediaan uji diberikan pada hewan coba secara oral, satu kali selama masa uji dengan sebelum perlakuan tikus putih strain wistar ditimbang terlebih dahulu. Kemudian dilakukan pemberian aspirin 150 mg/kgBB.

Pengamatan dilakukan secara terus menerus pada 30 menit pertama, dan selanjutnya dilakukan setiap hari. Setelah hasil penelitian terkumpul, kemudian dilakukan pengolahan data dengan urutan sebagai berikut: Preparat histopatologi hepar masing-masing dilakukan 5 lapang pandang mikroskopik, Perubahan histopatologi yang diamati berupa kongesti, infiltrasi sel radang, hemoragi, dan nekrosis, analisis awal dilakukan pengujian distribusi data; Dilakukan analisis data menggunakan data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi hati dipersentasekan dan dianalisis secara statistik dengan

menggunakan analisis varian dan dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik Kruskal Wallis untuk melihat ada tidaknya perbedaan efek perlakuan yang diberikan antara kelompok tikus putih strain wistar yang diberikan perlakuan terhadap tikus putih strain wistar kontrol taraf signifikansi 5% ($p < 0,05$). Untuk melengkapi hasil perbandingan antara kelima kelompok pengamatan, dibuat penggambaran grafik kedalam diagram batang dan rata-rata setiap variabel.

Dalam penelitian ini digunakan hewan coba tikus putih galur strain wistar untuk menggantikan manusia, sebab zat atau alat baru tidak boleh digunakan untuk pertama kali pada manusia, kecuali bila sebelumnya telah diuji pada hewan dan diperoleh kesan yang cukup mengenai keamanannya.¹⁰

Hasil

Subjek penelitian terdiri dari 25 ekor tikus strain wistar yang telah melewati masa adaptasi di laboratorium selama tujuh hari, memenuhi kriteria inklusi, dan tidak memenuhi kriteria eksklusi. Hasil penelitian gambaran histopatologis hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) dilakukan dengan membandingkan dengan kontrol *aquadest*. Setelah hasil penelitian terkumpul, kemudian dilakukan pengolahan data dengan analisis awal dilakukan pengujian distribusi data, kemudian data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi hati dipersentasekan dan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis varian dan dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik Kruskal Wallis untuk melihat ada tidaknya perbedaan efek perlakuan yang diberikan antara kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif. Untuk melengkapi hasil perbandingan antara kelima kelompok pengamatan, dibuat penggambaran grafis kedalam diagram batang dan rata-rata setiap variabel.

Hasil penelitian tentang studi histopatologi hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.). Kadar aspirin pada kelompok tikus putih strain wistar yaitu 150 mg/KgBB, sama dengan dengan kelompok tikus normal yang memiliki kadar aspirin 150 mg/KgBB, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sudrajat (2008) bahwa aspirin dapat meningkatkan kadar trigliserida dalam darah.

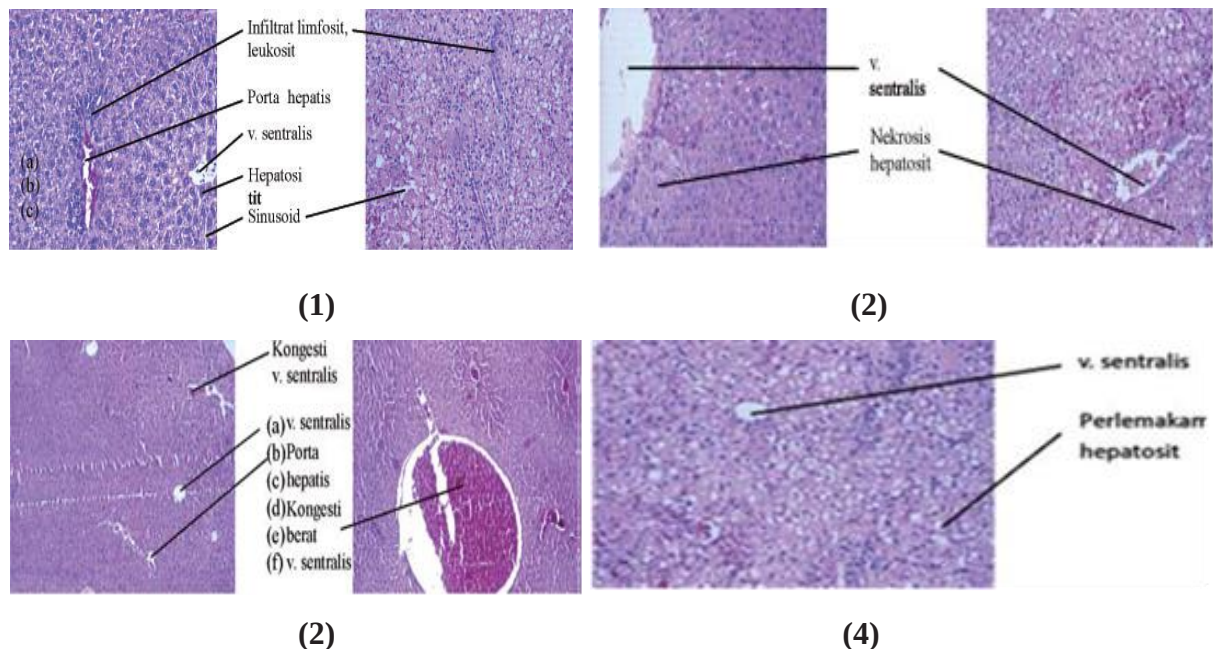
Perubahan gambaran histopatologi hepar setelah pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles adalah radang, nekrosis, kongesti, dan perlemakan. Radang pada hepar memperlihatkan adanya infiltrat limfosit dan leukosit polimorfonuklear yang terlokalisasi di

sekitar vena porta hepar tikus menunjukkan radang hepar ringan (Gambar 1a) maupun tersebar merata dari vena porta sampai ke vena sentralis yang menunjukkan radang hepar berat (Gambar 1b).

Pada pengamatan kualitatif terhadap nekrosis hepar yang memperlihatkan adanya daerah yang mengalami kematian jaringan di daerah asiner 3 atau daerah terdekat vena sentralis yang menunjukkan nekrosis hepar ringan (Gambar 2a). Daerah yang mengalami kematian jaringan secara difus dan atau mengelompok pada hepar menunjukkan nekrosis hepar berat (Gambar 2b).

Pada pengamatan kualitatif terhadap kongesti hepar memperlihatkan adanya pelebaran pembuluh darah ringan di dalam sinusoid hepar yang menunjukkan kongesti hepar ringan (Gambar 3a). Pelebaran dan perdarahan berlebihan (>50%) di dalam sinusoid hepar menunjukkan kongesti hepar berat (Gambar 3b). Pada pengamatan kualitatif perlemakan hepar memperlihatkan adanya lemak pada jaringan hepar dalam bentuk vakuola lemak (Gambar 4).

Hasil pengamatan untuk masing-masing kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3, disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Hepar Tikus Putih Strain Wistar Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles Yang Diinduksi Aspirin mg/kg BB

Keterangan :

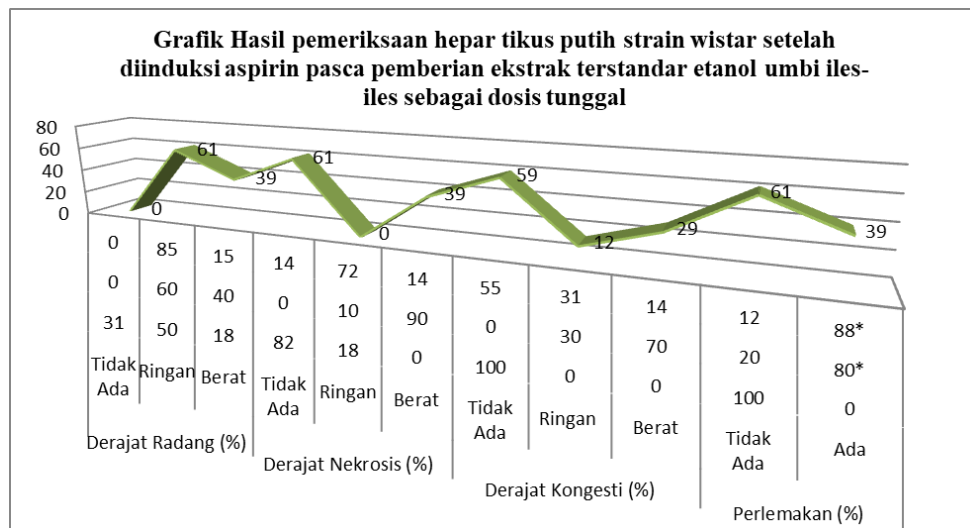
(1.) Hepar tikus putih strain wistar pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles yang diinduksi aspirin 150 mg/kg BB, yang mengalami radang ringan. Infiltrat sel radang

terlokalisasi di sekitar porta hepatis (a). Tikus yang diberi 55 mg/kg BB, yang mengalami radang berat. Infiltrat sel radang tersebar dari porta hepatis sampai vena sentralis (b). Pembesaran 100x, Pewarnaan Hematoksilin Eosin.

(2). Hepar tikus putih strain wistar pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles yang diinduksi aspirin 150 mg/kg BB, yang menunjukkan radang ringan, nekrosis terjadi di area asiner 3 atau terdekat dengan vena sentralis (a). Tikus yang diberi 55 mg/kgBB menunjukkan nekrosis berat, terjadi secara mengelompok dan atau difus pada hepar (b). Pembesaran 100x, pewarnaan Hematoksilin Eosin.

(3.) Hepar tikus putih strain wistar pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles yang diinduksi aspirin 150 mg/kg BB, yang mengalami kongesti ringan. Pelebaran pembuluh darah ringan dalam sinusoid hepar (a). Tikus yang diberi 220 mg/ kgBB mengalami kongesti berat, tampak pelebaran pembuluh darah dan perdarahan berlebihan (>50%) dalam sinusoid hepar (b). Pembesaran 40x, pewarnaan Hematoksilin Eosin.

(4.) Hepar tikus putih strain wistar pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles yang diinduksi aspirin 150 mg/kg BB, yang mengalami perlemakan, tampak sebagai vakuola-vakuola kosong pada sitoplasma sel hepar. Pembesaran 100x, pewarnaan Hematoksilin Eosin.



Gambar 2 Grafik hasil pemeriksaan hepar tikus putih strain wistar setelah diinduksi aspirin pasca pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles. Lesi yang terjadi pada masing-masing kelompok perlakuan. Tampak kelompok kontrol sangat dominan mengalami kongesti dan peradangan. Secara umum lesi kongesti sangat dominan terjadi pada semua tikus percobaan.

Abnormalitas berupa radang, nekrosis, kongesti, dan perlemakan sudah mulai terlihat pada kelompok tikus putih yang diberi ekstrak etanol terstandar umbi iles-iles dengan dosis

terendah 55 mg/kg BB, bahkan terjadi pada kelompok I (kontrol). Peningkatan dosis umbi iles-iles mempengaruhi tingkat radang, nekrosis, kongesti, dan perlemakan pada hepar. Semakin tinggi dosis, semakin tinggi persentase abnormalitas histopatologi hepar derajat berat yang terjadi. Penurunan dosis diikuti dengan penurunan persentase abnormalitas histopatologi hepar. Kelompok II dan III yang diberi ekstrak 220 mg/kgBB dan 110 mg/kgBB menunjukkan perubahan gambaran histopatologi derajat berat terbanyak dibandingkan kelompok lainnya. Pada kelompok IV, 30% tikus putih strain wistar mengalami radang berat dan sisanya mengalami radang ringan. Penurunan dosis diikuti dengan penurunan persentase radang berat dan ringan pada hepar (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin setelah pemberian ekstrak terstandar etanol umbi iles-iles sebagai dosis tunggal.

Kelompok & Dosis (mg/kgBB)	Derajat Radang (%)			Derajat Nekrosis (%)			Derajat Kongesti (%)			Perlemakan (%)	
	Tidak Ada	Ringan	Berat	Tidak Ada	Ringan	Berat	Tidak Ada	Ringan	Berat	Tidak Ada	Ada
I (0)	31	50	18	82	18	0	100	0	0	100	0
II (220)	0	60	40	0	10	90	0	30	70	20	80*
III (110)	0	85	15	14	72	14	55	31	14	12	88*
IV (55)	0	61	39	61	0	39	59	12	29	61	39

* P < 0,05 dibandingkan dengan kontrol (Kelompok I)

Perubahan nekrosis pada hepatosit juga terjadi pada tikus putih kelompok dosis I (220 mg/kgBB) sampai dosis III (55 mg/kgBB). Semakin tinggi dosis, semakin banyak tikus putih strain wistar dengan nekrosis berat. Pada kelompok III, 50% tikus putih strain wistar mengalami nekrosis berat dan pada kelompok II, 90% tikus putih strain wistar mengalami nekrosis berat. Penurunan dosis diikuti dengan penurunan persentase nekrosis berat dan ringan pada hepar (Tabel 2).

Dari hasil penelitian, didapatkan adanya gambaran kongesti pada sinusoid hepar yang biasanya terjadi pada area sentralis. Perubahan kongesti pada hepatosit juga terjadi pada tikus putih strain wistar kelompok dosis I (220 mg/kgBB) sampai dosis III (55 mg/kgBB). Semakin tinggi dosis, semakin banyak tikus putih strain wistar dengan kongesti berat. Pada kelompok II, 40% tikus putih strain wistar mengalami kongesti berat dan pada kelompok III, 70% tikus putih strain wistar mengalami kongesti berat. Penurunan dosis diikuti dengan penurunan persentase kongesti berat dan ringan pada hepar (Tabel 2).

Perlemakan hepar juga terjadi pada tikus putih strain wistar kelompok dosis I (220 mg/kgBB) sampai dosis III (55 mg/kgBB). Hasil *Kruskall wallis* menunjukkan bahwa tikus

putih strain wistar yang mengalami perlemakan hepar pada kelompok II, III dan IV yang diberi ekstrak masing-masing 220 mg/kgBB, 110 mg/kgBB, dan 55 mg/kgBB lebih banyak ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol.

Tabel 2. Nilai Gambaran Histopatologi hepar tikus putih strain wistar yang diinduksi aspirin setelah pemberian ekstrak terstandar etanol umbi iles-iles sebagai dosis tunggal.

Kelompok Perlakuan	Nilai Parameter
Tidak Ada Derajat Radang	(7,75 ± 15,50)
Derajat Radang Ringan	(64,0 ± 14,85)
Derajat Radang Berat	(28,0 ± 13,34)
Tidak Ada Derajat Nekrosis	(39,25 ± 38,63)
Derajat Nekrosis Ringan	(25,0 ± 32,18)
Derajat Nekrosis Berat	(35,7 ± 39,60)
Tidak Ada Derajat Kongesti	(53,50 ± 41,05)
Derajat Kongesti Ringan	(18,25 ± 14,97)
Derajat Kongesti Berat	(28,25 ± 30,24)
Tidak Ada Perlemakan	(48,25 ± 40,63)
Ada Perlemakan	(51,75 ± 40,63)

Pembahasan

Pada hepar, pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles dapat menyebabkan terjadinya reaksi radang ringan dan berat pada hepar mencit. Radang merupakan reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Jejas pada proses toksik terjadi karena reaksi antara zat beracun dengan molekul pada tubuh baik subselluler maupun selluler.¹¹ Semakin sedikit dosis yang diserap tubuh, kerusakan yang terjadi hanya terbatas dan masih dapat dikompensasi oleh sel sehat lainnya untuk menjalankan fungsi normal organ.¹² Pada radang hepar, konsep pembagian zona mikroskopis hepar sangat berperan dalam menginterpretasikan hubungan efek toksik dengan pola peradangan. Hepar memiliki 3 zona, yaitu zona 1, zona yang terdekat dengan arteri hepatica dan vena porta, zona 2 yaitu zona intermediet, dan zona 3, zona yang berbatasan dengan vena sentralis.¹³ Ketiga zona ini memiliki perbedaan dalam aliran darah sinusoid, kandungan oksigen, aktivitas metabolik dan enzim.¹⁴ Menurut heterogenitas hepatosit, sel-sel perilobuler (zona 1) merupakan sel pertama yang menerima darah masuk ke hepar dengan kandungan oksigen yang banyak (sekitar 9-13% O₂) sedangkan sel-sel sentrolobuler, sel Penebalan septa interalveolaris paru juga terjadi pada kelompok semua kelompok tikus putih strain wistar yang diberi ekstrak.¹⁵

Hasil *Pearson Chi-Square Test* menunjukkan bahwa kelompok tikus putih strain wistar yang diberi ekstrak dengan dosis masing-masing 3000 dan 15000 mg/kgBB lebih banyak ($p < 0,05$) tikus putih strain wistar yang mengalami penebalan septa interalveolaris

dibandingkan kelompok VI (kontrol). terdekat dengan vena sentralis (zona 3) memiliki kandungan oksigen terkecil (sekitar 4-5% O₂).

Pada pemeriksaan mikroskopis, didapatkan infiltrasi sel radang dimulai dari vena porta ke arah vena sentralis. Hal ini sesuai dengan konsep heterogenitas hepatosit di atas, di mana zona 1 (vena porta) merupakan daerah pertama darah masuk ke hepar sebagai daerah pertama yang memetabolisme zat toksik. Sehingga sel-sel radang pun pertama-tama muncul pada daerah vena porta ini. Semakin lama paparan toksik terjadi, maka infiltrasi sel radang akan difusi dan menyebar dari daerah porta ke daerah sentralis.

Hepatosit yang mengalami nekrosis tampak tanpa pulasan inti sel sehingga tampak pucat. Hasil penelitian menunjukkan nekrosis terjadi dimulai dari daerah sekitar vena sentralis (zona 3). Hal ini sesuai dengan konsep heterogenitas hepatosit dengan zona 3 (vena sentralis) merupakan daerah yang paling berpotensi iskemik dibandingkan zona lainnya karena memiliki jaringan dengan oksigenasi terendah (sekitar 4-5% O₂).¹⁶ Oksigen ini diperlukan dalam metabolisme zat toksik, sehingga bila oksigen yang tersedia sedikit, maka proses detoksifikasi terganggu dan berakibat terjadi akumulasi zat toksik dan terjadi kematian sel atau nekrosis pada daerah tersebut.¹⁷

Pada pemeriksaan mikroskopis juga ditunjukkan adanya pelebaran pembuluh darah dan perdarahan dalam sinusoid hepar sehingga jaringan tampak lebih merah. Kongesti merupakan reaksi patologis sebagai salah satu manifestasi terjadinya peradangan akibat jejas.¹⁸ Setelah jejas, terjadi dilatasi kapiler akibat rangsang vasodilator sehingga vaskularisasi pada lokasi jejas melebar dan berisi darah yang terbungkus (kongesti). Pada kongesti akut, daerah yang mengalami bendungan terjadi pada area sentralis dan bila kongesti berlangsung lama, maka seluruh tepi lobulus mengalami bendungan disertai pelebaran sinusoid hepar yang berisi eritrosit.¹⁸

Perlemakan hepar ditunjukkan dengan adanya vakuola-vakuola kosong beragam ukuran pada sitoplasma hepar. Proses perlemakan ini bersifat *reversible* dan disebabkan karena terhambatnya pengeluaran transfer lipid dari dalam sel dan ketidakseimbangan sintesis dan pelepasan trigliserida oleh sel parenkim ke sirkulasi.¹⁸ Perubahan ini dapat terjadi karena gangguan oksigenasi seperti gangguan aliran darah maupun intoksikasi pada hepar.¹⁹

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak terstandar etanol umbi iles-iles dosis tunggal 110 mg/kgBB dan 220 mg/kgBB pada tikus putih strain wistar tampak menimbulkan perubahan histopatologi berupa radang, nekrosis, kongesti dan perlemakan hepar. Kelemahan

penelitian ini adalah tidak terdeteksinya kondisi organ-organ dalam tikus putih strain wistar sebelum perlakuan sehingga tidak diketahui bagaimana histopatologinya.

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat diambil kesimpulan bahwa perubahan bobot tikus putih strain wistar kontrol dan tikus putih strain wistar yang diberikan perlakuan dari sebelum diberikan ekstrak dan 14 hari setelahnya tidak terjadi perbedaan yang bermakna ($p \geq 0,05$). Ada peran ekstrak etanol umbi iles-iles sebagai barier pada mukosa lambung dan usus terhadap efek samping aspirin sebagai zat hepatotoksik. Pemberian ekstrak etanol umbi iles-iles mampu mencegah kerusakan gambaran histopatologis hati tikus yang diinduksi Aspirin pada dosis 150 mg/kg bobot badan.

Daftar Pustaka

1. Aggarwal S, Moodley YP, Thompson PJ, Misso NL. Prostaglandin E₂ and cysteinyl leukotriene concentrations in sputum: Association with Asthma Severity and Eosinophilic Inflammation. Clin Exp Allergy. 2010;40(1):85–93.
2. Deora PS, Mishra CK, Mavani P, Asha R, Shrivastava B, Rajesh KN. Effective alternative methods of LD₅₀ help to save number of experimental animals. J Chem Pharm Res. 2010;2(6):450–3.
3. Khan A, Rahman M, Islam MS. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of amblyone isolated from *Amorphophallus campanulatus*. Indian J Pharmacol. 2008;40(1):41–4.
4. Baratawidjaja, Karnen Garna, Iris Rengganis. Sel-sel sistem imun nonspesifik, sistem fagosit makrofag. Dalam: Wachjuni, Ambara, Prasna P, Farah P, penyunting. Immunologi dasar. Edisi ke-9. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2010. hlm. 57-90.
5. Arfatul Makiyah, Usep Abdullah Husin, Ramlan Sadeli. Efek Immunostimulasi Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag pada Tikus Putih Strain Wistar yang Diinokulasi *Staphylococcus aureus*. MKB. 2016;48(2):68–77.
6. Arfatul Makiyah, Sumirat Tresnayanti. Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD₅₀ Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) Terhadap Tikus Putih Strain Wistar. MKB. 2017;49(3):145–155.
7. Franca EL, Maynie JC, Correa VC, Pereira UCR, Batalini C, Ferrari CKB, et al. Immunomodulatory effects of herbal plants plus melatonin on human blood phagocytes. International Journal of Phytomedicine. 2010;2(4):354–62.
8. Jain S, Dixit VK, Malviya N, Ambawatia V. Antioxidant, anti inflammation and hepatoprotective activity of etanolic and aqueous extracts of *Amorphophallus campanulatus* Roxb. tubers. Acta Pol Pharm. 2009;66(4):423–8.
9. Erkekoglu P, Giray BK, Basaran N. 3R Principle and alternative toxicity testing methods. FABAD J Pharm Sci. 2011;36(1):101–17.
10. Deshmukh NS, Bagchi M, Yasmin T, Bagchi D. Safety of a novel calcium/potassium salt of (-)-hydroxycitric acid (HCA-SX): II. developmental toxicity study in rats. Toxicol Mech Methods. 2008;18(5):443–51.
11. Amanda Krysanti, Simon Bambang Widjanarko. Toksisitas subakut tepung glukomanan (*A. muelleri* Blume) terhadap SGOT dan natrium tikus wistar secara in vivo. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2014;2(1):1–7.

12. Lalitha P, Sripathi SK, Jayanthi P. Acute toxicity of extracts of *Eichhornia crassipes* (MART) Solms. *Asian J Pharm Clin Res.* 2012;5(4):59–61.
13. Chaudhari SY, Nariya MB, Galib R, Prajapati PK. Acute and subchronic toxicity study of Tamra Bhasma (incinerated copper) prepared with and without Amritikarana. *J Ayurveda Integr Med.* 2016;7(1):23–9.
14. Katzung and Trevor. 1994. *Pharmakology: A Riview Alih Bahasa Staf Pengajar Laboratorium Farmakologi*, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Cetakan I. Penerbit Buku Kedokteran. Hal 224-225.
15. KoesteT MC. 1993 An overview of the physiology and pharmacology of aspirin and non steroidal anti-inflammatory drugs [online]. 1993 [cited 2007 June 10]. Available from: URL :<http://www.pubmedcentral.nih.gov.html>.
16. Maslachah, L., Sukmanadi, M., Farida, S., Sofaria, R.M. dan Rahmi, S. 2001. Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E dan β Karoten Terhadap Sifat Hepatotoksik Parasetamol Melalui Interaksi Biotransformasi. *Jurnal Kedokteran Yarsi.*(9): 95-100.
17. Pradhan SN, MeickelRP, Dutta SN. 1 993. *Pharmacology in Medicine: Principles and Practice.* USA: SP Press International Inc.
18. Purbasari, B. 2010. Makalah Kerusakan dan Inflamasi hepar akibat induksi obat- obatan <http://www.scribd.com/doc/50120389/Makalah-Drug-Induced-Liver-Injury-Bethasiwi-P-06> 10710019 tanggal akses 22 februari 2012.
19. Sherlock S. *Penyakit hati dan saluran empedu*, cetakan kedua. Jakarta: PT. Arkans, 2004.