

## Studi Histopatologi Hepar Tikus Putih yang Diinduksi Aspirin Pasca Pemberian Madu Per Oral

(HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF RAT LIVER THAT WAS INDUCED  
ASPIRIN POST HONEY GIVING ORALLY)

Nesia Masniari Helena Sibarani<sup>1</sup>, I Ketut Berata<sup>2</sup>, Anak Agung Gede Arjana<sup>3</sup>

<sup>1</sup>).Mahasiswa, <sup>2</sup>)Laboratorium Patologi, <sup>3</sup>).Laboratorium Farmakologi  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar, Bali

Email : *dutchnesiasibarani@gmail.com*

### ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aspirin pasca diberi madu secara oral. Penelitian menggunakan tikus putih Wistar jantan, umur 2 bulan, berat badan rerata 200 gram. Sebanyak 24 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok, dengan perlakuan control: diberi aquadest peroral 1 ml/200gram BB, perlakuan 1, 2 dan 3 diberi madu masing- masing 1 ml/200gram BB. 2 ml/200gram, 3 ml/200gram BB tikus. Pemberian madu per oral selama 7 hari dan pada hari ke-7 seluruh tikus diberi aspirin masing-masing dosis 150 mg/ekor, Pada hari ke-8, seluruh tikus dinekropsi dan organ hepar diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin dan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Pengamatan preparat dilakukan dalam 5 lapang pandang mikroskopik meliputi adanya kongesti, peradangan, hemoragi dan nekrosis. Data hasil pemeriksaan dianalisis dengan uji statistik non parametric Kruskal Wallis. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan lesi kongesti dan peradangan antara kontrol dengan perlakuan 1, 2 dan 3. Tidak ada perbedaan lesi yang signifikan antara perlakuan 1, 2 dan 3. Kesimpulannya adalah ada peran madu sebagai barier pada mukosa lambung dan usus terhadap efek samping aspirin sebagai zat hepatotoksik.

Kata kunci : Aspirin, Madu, Hepar

### ABSTRACT

The aim of this research was to studied the histopathological of rats liver that inducted by aspirin post honey giving orally. The research were used male Wistar rats, 2 month of age, 200 g its body weight. Amount 24 rats divided into 4 groups, i.e. control group were gave aquadest as placebo, group 1, 2 and 3 were gave 1 ml, 2 ml and 3 ml honey/200 g body weight respectively. Those treatment was giving daily as long as 7 days and than all of the rats were gave aspirin 150 mg/200 g bw respectively. At day 8, all of the rats necropsied and took their liver and its processed for made histopathological preparation. The histopathological preparation were made by paraffin embedded-block and the hematoxylin eosin (HE) staining techniques. Each of the histopathological preparation were examined in 5 field microscopic based on the congested, inflammation, hemorrhagic and necrosis lesions respectively. Data of this research was analyzed by non parametric statistic Kruskal-Wallis. Result of the research showed significantly difference based on the congested and inflammation between control with others group. But not significantly difference among the treatment group 1, 2 and 3. The conclusion is the honey most role as the barier of stomach and intestine mucosa against the side effect of the aspirin as hepatotoxic matter.

Key words : Aspirin, Honey, Hepar

## PENDAHULUAN

Aspirin merupakan salah satu jenis non steroid *anti-inflammatory drugs* atau (NSAIDs) yang banyak digunakan pada pengobatan nyeri ringan sampai sedang (Pradhan,*et al.*,1993). Efek farmakologi aspirin antara lain analgesik, antipiretik, anti inflamasi dan anti koagulan (Koester,1993). Jika aspirin diberikan secara oral maka akan diabsorbsi dengan baik di usus halus, dihidrolisa dalam darah dan di jaringan menjadi asetat dan asam salisilat, yang merupakan komponen aktif (Katzung dan Trevor,1994). Waktu yang diperlukan untuk dihidrolisa di hepar sehingga menjadi bentuk salisilat dalam plasma kira-kira 30 menit (Wilmana, 1995).

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 (Van Heijst, 2000)..

Organ yang berperan sebagai detoksifikasi adalah hepar. Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang mempunyai banyak fungsi termasuk memetabolisme obat (Sherlock, 2004). 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.

Salah satu efek samping dari terapi aspirin adalah ulkus lambung, sehingga dilakukan cara mendegah efek samping tersebut. Salah satu upaya yang dilakukan adalah pemberian madu sebelum diberikan aspirin. Madu adalah cairan manis yang berasal dari nektar tumbuhan yang diproduksi oleh lebah madu. Madu dapat digunakan untuk pengobatan kasus hepatitis kronis, karena madu meningkatkan persediaan glikogen hepar melalui peningkatan glukosa darah. Madu memiliki kemampuan untuk mengeliminasi radikal bebas melalui reaksi reduksi dan konjugasi sehingga dapat digunakan sebagai protektor organ hepar akibat dari paparan radikal bebas (Wiryawan, 2008). Madu juga kaya akan vitamin A betakaroten, vitamin B complex (lengkap), vitamin A,D, E, dan K.Madu sebagai obat dapat digunakan sebagai antibakteri, diare, meredakan alergi, kosmetika, antikanker (Suranto,2007). Antioksidan yang dimiliki oleh madu seperti vitamin E dan beta karoten yang mampu melawan oksigen perusak khususnya radikal bebas dan peroksidasi lipid dalam jaringan (Maslachahetal, 2001).

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

## METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus Norvegicus*), umur 2 bulan dengan berat badan  $\pm 200$  gram. Bahan utama untuk perlakuan adalah madu dan 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 hematoksilin eosin (HE). Kandang tikus berupa bak plastik tertutup kawat dan diberi alas serbuk gergaji serta dilengkapi dengan tempat makan dan minum, spoit, ember, alat bedah, tempat jaringan, *tissue processor*, mikroskop cahaya, mikrotom, *waterbath*, gelas obyek, dan gelas penutup.

### Sampel dan Kelompok Perlakuan

Sampel dibagi menjadi 4 kelompok, sehingga masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor tikus. Perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut: KK sebagai kelompok kontrol diberi aquadest 1 ml/200gram BB, sedangkan kelompok perlakuan (KP): KP1 diberi larutan madu dosis 1 ml/200 gram BB; KP2 diberi larutan madu dosis 2 ml/200 gram BB; KP3 diberi larutan madu dosis 3 ml/200 gram BB. Pemberian larutan madu dilakukan per oral, sekali setiap hari selama 7 hari. Pada hari ke 7 semua kelompok perlakuan diberikan Aspirin 150mg/kg, 1 jam pasca pemberian madu. Pada hari ke-8 semua tikus percobaan dieuthanasia dan dinekropsi. Hepar diambil dan diperiksa untuk selanjutnya diproses dalam pembuatan preparat histopatologis.

### Proses Pembuatan Preparat Histopatologis

Organ hepar dioambil 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 bloking dilakukan dengan paraffin blok, selanjutnya *cutting* dengan mikrotom dalam ketebalan 5-6  $\mu$ . Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Setelah dikeringkan dan ditutup dengan cover glas, preparat siap diperiksa di bawah mikroskop.

### **Variabel yang Diperiksa**

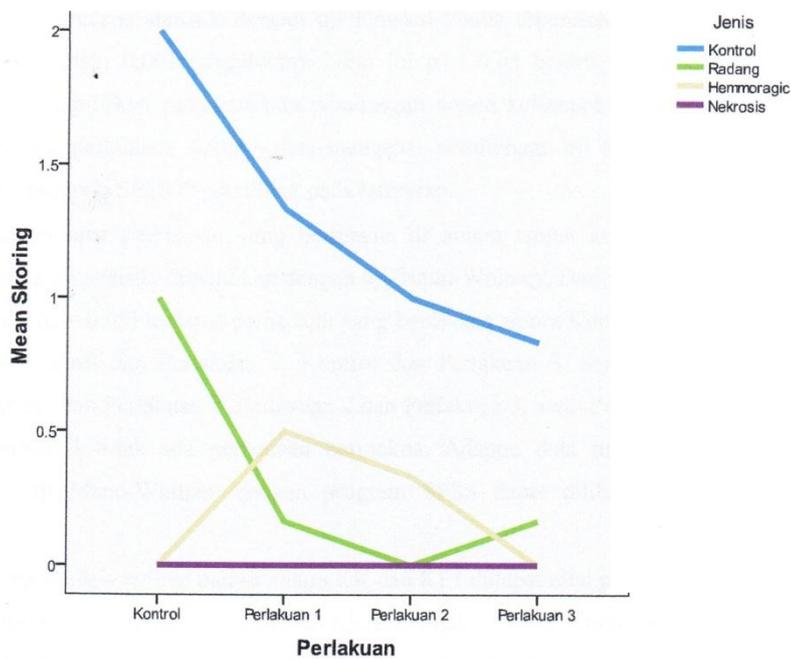
Pemeriksaan preparat histopatologi hepar masing-masing dilakukan 5 lapang pandang mikroskopik dengan pembesaran 400x. Perubahan histopatologi yang diamati berupa kongesti, infiltrasi sel radang, hemoragi, dan nekrosis. Variabel perubahan histopatologi hepar yang diamati kemudian diskoring sebagai berikut: 0 = tidak ada lesi; 1= lesi fokal (setempat); 2= lesi merata (difusa). Lesi yang dimaksud masing-masing berupa kongesti, peradangan, hemorhagi dan nekrosis.

### **Analisis Data**

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik non parametric Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney jika ada perbedaan. Semua analisis menggunakan program SPSS (*Stastical Product and Service Solution*) 17.0 for Windows.

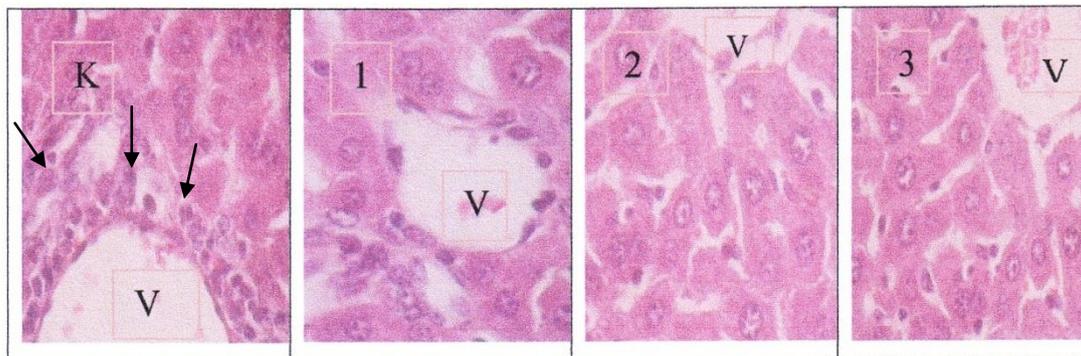
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Dari hasil pemeriksaan preparat histopatologis terlihat bahwa kelompok kontrol (KK) histopatologi yang tidak normal, yaitu adanya infiltrasi sel yang berada di sekitar vena sentralis, sedangkan histopatologi pada kelompok perlakuan KP1, KP2 dan KP3 yaitu masing-masing pemberian madu sebanyak 1 ml, 2 ml dan 3 ml tidak terdapat perubahan histopatologi pada hepar. Secara umum tidak ada perubahan berupa kongesti, peradangan, hemorhagi dan nekrosis yang bermakna. Hasil pemeriksaan secara umum digambarkan dalam Gambar 1.



Gambar 1 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.

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



Gambar 2. Gambaran Histologi Hepar (HE, 400x). V= vena sentralis

Gambaran histologisnya secara umum tampak normal, kecuali pada kelompok kontrol ada peradangan di sekitar vena sentralis.

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa kelompok kontrol mengalami kongesti sedang, sementara perlakuan 1, 2 dan 3 mengalami kongesti ringan. Untuk lesi peradangan pada kelompok kontrol mengalami peradangan ringan yang sama dengan kelompok perlakuan 2. Sedangkan pada kelompok perlakuan 1 dan 2, tidak ada lesi peradangan. Lesi

hemorhagik pada kelompok control dan kelompok perlakuan 3 tidak ada. Lesi hemorhagik ringan terjadi pada kelompok perlakuan 1 dan 2. Lesi nekrosis pada kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3, tidak dijumpai.

Hasil analisis statistik dengan uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai P untuk kongesti adalah 0,001 (signifikan). Nilai ini  $p < 0,05$  berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata peradangan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Hasil uji Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ) terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1, 2 dan 3. Sedangkan antar perlakuan 1, 2 dan 3 tidak ada perbedaan bermakna.

Sesuai hasil pemeriksaan histopatologi dan analisis statistic diperoleh gambaran bahwa kelompok kontrol memiliki kerusakan sel hepar paling nyata dibandingkan kelompok perlakuan. Sehingga peran pemberian madu sebelum diberikan aspirin pada kelompok perlakuan dosis 1, 2 dan 3 ml per ekor tikus, sangat jelas membantu efek samping aspirin. Peran madu sebagai barier pada mukosa lambung dan usus dapat meniadakan efek samping aspirin ke hepar, karena aspirin dikenal sebagai zat hepatotoksik. Aspirin yang menembus barier lambung dan usus akan dimetabolisme di hepar. Akumulasi aspirin pada hepar menghambat proses fosforilasi oksidatif serupa dengan pengamh yang ditimbulkan 2,4-dinitrofenol. Dalam dosis toksik, aspirin bisa menghambat metabolisme aerob dari beberapa enzim dehidrogenase di hepar dan jaringan lainnya dengan cara berkompetisi dengan koenzim nukleotida piridin dan penghambatan beberapa enzim oksidase yang membutuhkan nukleotida sebagai koenzim, seperti xanthin oksidase (Rizal, 2007). Dimana koenzim seperti xanthin oksidase berguna sebagai pertahanan di hepar. Pemakaian aspirin sebagai terapi juga berefek hepatotoksik terbukti dari 50 % penderita *juvenile rheumatoid arthritis* mengalami berbagai kerusakan sel hepar yang ditandai oleh peningkatan plasma aminotrasferase selama menjalani terapi aspirin dosis tinggi konvensional (Purbasari, 2010).

Lesi histopatologi hepar terlihat bervariasi, walaupun secara umum tampak normal pada perlakuan 1, 2, dan 3. Hal tersebut terjadi karena efek madu bersifat hepatoprotektor terhadap hepar yang diinduksi aspirin dimana madu memiliki kandungan antioksidan seperti vitamin E dan beta karoten yang berperan sebagai pertahanan utama melawan radikal bebas dan peroksidasi lipid dalam jaringan (Maslachah *et al.*, 2001). Aktivitas hepatoprotektif dari madu ditentukan dengan meningkatnya nilai transaminase serum, ALP dan bilirubin total. Sehingga efek dari zat uji pada enzim antioksidan hepar juga dapat dianalisis dengan melihat perubahan nilai glutathione yang berkurang, glutathion peroksidase, katalase dan dismutase superoksida. Transaminase serum, ALP dan total kadar bilirubin yang meningkat secara

signifikan dan status antioksidan dalam hepar seperti aktivitas SOD, CAT, GPX dan tingkat GSH menurun secara signifikan pada hewan yang diterapi oleh aspirin. Pretreatment dengan madu sebelum induksi aspirin secara signifikan mencegah peningkatan kadar serum enzim hepar dan stres oksidatif. Evaluasi histopatologi dari hepar juga dapat menggambarkan bahwa madu mengurangi kejadian lesi hepar yang disebabkan oleh aspirin (Mahesh, *et al.*, 2009).

### **SIMPULAN**

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa madu dapat mengurangi kerusakan sel-sel hepar tikus putih yang diinduksi aspirin, dengan dosis madu 1 ml, 2 ml, dan 3 ml./200g BB tikus. Pemberian madu dapat mengurangi lesi kongesti, peradangan dan hemorhagi akibat terapi aspirin. Tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap peran madu dengan dosis 1, 2 dan 3 ml/200 g BB tikus berdasarkan pemeriksaan histopatologi baik dari aspek kongesti, peradangan, hemorhagi dan nekrosis.

### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis madu yang lebih tinggi dari 3 ml dan dalam jangka waktu pengamatan yang lebih lama, sehingga diketahui dosis dan waktu pemberian yang efektif untuk mencegah kerusakan sel-sel hepar tikus putih yang diinduksi aspirin.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- 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.
- 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>
- Mahesh A, Shaheetha J, Thangadurai J and Rao D M. 2009. Protective effect of Indian honey on acetaminophen induced oxidative stress and liver toxicity in rat, Vol 64, Issue 1225-1231. <https://springerlink3.metapress.com/content/w557224892746571/resource-secured/?target=fulltext.pdf&sid=whocd2vwwzp5urnon2hk2qfr&sh=www.springerlink.com>. Tanggal akses 22 februari 2012
- Maslachah, L., Sukmanadi, M., Farida, S., Sofaria, R.M. dan Rahmi, S. 2001. Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E dan  $\beta$  Karoten Terhadap Sifat Hapatotoksik Parasetamol Melalui Interaksi Biotransformasi. *Jurnal Kedokteran Yarsi*.(9): 95-100.

Pradhan SN, MeickelRP, Dutta SN. 1 993.Pharmacology in Medicine: Principles and Practice. USA: SP Press International Inc

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

Rizal, I. 2007. Pengaruh Pemberian Aspirin Berbagai Dosis Per Oral terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar. <http://eprints.undip.ac.id/22600/1/Rizal.pdf> tanggal akses 21 Oktober 2011

Sherlock S. Penyakit hati dan saluran empedu, cetakan kedua. Jakarta: PT. Arkans, 2004.

Van Heijst ANP, Van Dijk A. Acetylsalicylic acid [online]. 2000 [cited 2006 August 21]. Available from: URL:<http://www.inchem.orglipps/acetylsalicylicacid.html>

Wiryawan T.D. 2008 Efek Madu sebagai Hepatoprotektor terhadap kerusakan struktur Histologis Hepar Mencit yang Diinduksi Parasetamol. Tanggal akses 22 Februari 2012