



Uji Toksisitas Subkronik 28 Hari Ekstrak Metanolik Kombinasi Daun Benalu Teh dan Benalu Mangga terhadap Fungsi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Hatif Khusnin Nida¹, Nour Athiroh Abdoes Sjakoe², Nurul Jadid Mubarakati³
^{1,2,3}Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang
*Koresponden Penulis : nur_athiroh_mlg@yahoo.co.id

ABSTRAK

Flavonoid dan kuersetin merupakan salah satu senyawa metabolit yang terkandung dalam tanaman benalu. Peran senyawa tersebut adalah sebagai antioksidan yang dapat melindungi kerusakan sel-sel dari radikal bebas, salah satunya adalah sel hati. Hati rentan terhadap kerusakan yang diakibatkan bahan kimia beracun maupun obat-obatan. Kerusakan pada hati dapat diketahui dengan meningkatnya kadar SGOT, SGPT, bilirubin total dan histopatologi hepar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksik ekstrak metanolik kombinasi daun benalu teh dan benalu mangga (EMBTBM) terhadap fungsi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina secara subkronik selama 28 hari. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA menggunakan Jamovi 1.01.0. Jumlah tikus yang digunakan adalah 20 ekor tikus wistar betina yang dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok 1 sebagai kontrol, kelompok 2, 3, 4 sebagai perlakuan. Kelompok perlakuan diberi EMBTBM dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Dosis diberikan dengan cara penyondean dan dilakukan selama lima kali dalam seminggu. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai signifikan antara semua kelompok adalah $p > 0,05$. Maka dari itu EMBTBM yang diberikan kepada tikus betina selama 28 hari dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB pada kelompok perlakuan tidak berbeda nyata apabila dibandingkan dengan kontrol, sehingga kadar fungsi hepar pada tikus putih betina tidak toksik dan tidak berpengaruh pada histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

Kata kunci: *Dendrophloe pentandra*, Fungsi hepar, *Rattus norvegicus*, *Scurrula atropurpurea*, Subkronik

ABSTRACT

Flavonoids and quercetin are metabolite compounds contained in parasite plants. The role of the compounds is as an antioxidant that can protect cell damage from free radicals, for example liver. The presence of antioxidant can neutralize and protect the liver from free radicals. Liver is an organ that is vulnerable to damage caused by drugs or toxic chemicals because the liver is the center of metabolism in the body. Can be known with indicators of increasing level of SGOT, SGPT total bilirubin and histopathologic liver. The purpose of this study to determine the effect of the combination of extracts of tea parasite and mango parasite (EMBTBM) on levels of liver function in female rats (*Rattus norvegicus*) for 28 days. Data were analyzed using ANOVA version Jamovi 1.0.1.0.. The number of test animals is 20 female rats were divided into four groups, group 1 as a control, group 2,3,4 as a treatment. The treatment groups was given EMBTBM with different doses of 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW and 1000 mg/kgBW. Based on the research results show that a significant value difference between the group was $p > 0,05$. Therefore EMBTBM given to female rats for 28 days with a dose of 250 mg/BW, 500 mg/kgBW and 1000 mg/kgBW in the treatment group all dose were not significantly different compared with controls. So that the level of liver function in female rats was safe (not toxic) and has no effect on liver histopathology of female wistar rats.

Keywords: *Dendrophloe pentandra*, liver function, *Rattus norvegicus*, *Scurrula atropurpurea*, subchronic

doi: 10.33474/e-jbst.v7i2.355

Diterima tanggal 12 Agustus 2022– Diterbitkan Tanggal 29 Januari 2022

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



Pendahuluan

Benalu teh dan benalu mangga merupakan tanaman yang berasal dari suku Loranthaceae, disebut sebagai tanaman parasit dikarenakan tumbuh pada tanaman lainnya bahkan dapat merusak inangnya. Akan tetapi benalu memiliki banyak khasiat antara lain, sebagai obat tekanan darah tinggi (hipertensi), kencing manis (diabetes) dan lain- lain [1]. Kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak benalu adalah flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan terperoid. Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavonol, katekin dan flavanone. Flavonol merupakan flavonoid dengan gugus ketonnya, yang terdiri atas kuersetin, rutin, mirisetin dan lain- lain [2]. Kuersetin dapat membentuk suatu ikatan glikosida apabila aglikonnya berikatan dengan glikon lainnya [3].

Menurut BPOM [2014] sebelum dilakukannya uji klinis terhadap hasil sediaan, maka perlu dilakukan uji pra klinis terlebih dahulu. Uji praklinis ini meliputi uji in vitro, uji in vivo dan uji toksikologi [4]. Pada penelitian Athiroh secara in vitro melaporkan bahwasanya benalu teh dapat menurunkan kontraksi pembuluh darah arteri tikus terpisah yang diprekontraksi dengan norepinerin (NE) [5]. Setelah dilakukannya pengujian secara invitro, maka dilanjutkan pengujian secara invivo yang melaporkan bahwasanya benalu teh dapat menurunkan tekanan darah pada tikus [6]. Penggunaan sediaan dengan pemberian yang berulang dapat menimbulkan suatu efek pada organ. Untuk menguji keamanan pada sediaan maka perlu dilakukan uji toksisitas sediaan yang dilakukan terhadap hewan uji. Hasil penelitian Athiroh telah dilaporkan bahwasanya ekstrak methanolik benalu teh yang telah dipaparkan terhadap tikus secara subkronik 28 hari aman terhadap kadar trigliserida, protein total, SGOT, SGPT serta albumin [7][8][9][10]. Berdasarkan penelitian lainnya dilaporkan bahwa ekstrak benalu mangga dapat menurunkan kadar kolesterol dan LDL [11].

Melihat potensi dari benalu teh dan benalu mangga yang sangat beragam dan pemakaian sebagai obat tradisional pun juga sangat tinggi, maka kedua tanaman ini layak dijadikan sebagai obat herbal berstandar dengan persyaratan bahwasanya kedua tanaman tersebut harus dikombinasikan satu sama lain. Sebelum dijadikan sebagai obat berstandar, maka perlu dilakukan uji praklinis berupa uji toksisitas mengingat penggunaannya yang sudah berulang kali digunakan. Penggunaan yang berulang kali ini dapat menyebabkan penumpukan senyawa di dalam organ terutama hati. Kerusakan pada sel hepar dapat diketahui apabila enzim- enzim yang ada didalamnya meningkat, seperti SGOT, SGPT dan bilirubin., oleh sebab itu untuk mengetahui aman tidaknya kombinasi dari ekstrak metanolik benalu teh dan benalu mangga (EMBTBM) diperlukan adanya pengujian toksisitas ekstrak metanolik kombinasi daun benalu teh dan benalu mangga terhadap fungsi hepar pada tikus wistar betina.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun benalu teh (*Scurulla atropurpure* (BI)), daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* (L)), metanol 90%, tikus wistar betina, susu pap (makanan untuk hewan uji), sekam, akuades (minuman hewan uji), ekstrak metanolik kombinasi benalu teh dan mangga (EMBTBM), ketamine untuk bius, larutan PBS dan formalin.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, oven, blender, botol selai, botol mineral (untuk ekstraksi), gelas beaker, kulkas, cawan petri, evaporator, handscoon, masker, label, kandang tikus, tutup kandang tikus, botol air minum, galon air minum, alat sonde, timbangan analitik, toples, spuit injeksi 2 ml, alat seccio, papan bedah dan tabung vacutainer..

Metode

Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang (*Ethical Clearance*) dengan nomor: 369/EC/KEPK/06/2015.



Penelitian ini merupakan penelitian *True Eksperimental Design* dengan Rancangan Acak Lengkap. Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar betina yang berjumlah 20 ekor, dibagi menjadi empat kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB. Data yang telah diperoleh akan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Aplikasi yang akan digunakan dalam menganalisis data adalah Jamovi 1.01.0.

Cara Kerja

Pembuatan Simplisia: Sampel Daun benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans.) dan benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) diidentifikasi terlebih dahulu di UPT Materia Medica Batu. Daun yang akan dijadikan simplisia sebuk disortir dan dioven pada suhu 40°- 60°. Setelah itu daun tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender hingga berubah menjadi simplisia serbuk [12].

Ekstraksi: Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Masing-masing serbuk benalu teh dan mangga ditimbang sebanyak 100 g, kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol sebanyak 1000 ml dan diletakkan pada botol secara terpisah. Setelah itu dilakukan pengocokan selama 60 menit yang bertujuan agar senyawa yang terkandung dalam simplisia serbuk dapat cepat terikat dalam pelarut methanol. Larutan yang telah dikocok dibiarkan selama 24 jam dengan tujuan dinding sel yang terdapat dalam simplisia serbuk itu pecah dan senyawa yang ada didalamnya terikat dalam pelarut methanol, serta memisahkan antara lapisan natan dan supernatan. Lapisan supernatan ini yang akan dipanen dan dilanjutkan evaporasi dengan tujuan untuk memisahkan antara senyawa metabolit dan larutan methanol tersebut.

Pembuatan Dosis: Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB dari ekstrak metanolik kombinasi benalu teh dan benalu mangga (EMBTBM). Volume dosis yang diberikan kepada tikus tergantung dari berat badan masing-masing tikus. Menurut BPOM (2014) perhitungan untuk dosis ekstrak methanol kombinasi daun benalu teh dan daun benalu mangga sebagai berikut:

- a. Perhitungan untuk menentukan mg ekstrak yang akan dilarutkan dalam pelarut

$$\text{mg} = \frac{\text{Berat Badan}}{1000} \times \text{Dosis}$$

- b. Perhitungan volume pelarut

$$\text{Volume pelarut (VP)} = \frac{\text{gr ekstrak}}{\text{Rata-rata gr ekstrak}} \times \text{volume sonde (2 ml)}$$

Pemeliharaan hewan uji: Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar betina, sehat, tidak kawin dan tidak dalam kondisi mengandung. Jumlah tikus yang digunakan adalah 20 ekor, yang terbagi atas 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Tikus wistar betina ditempatkan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan diberikan makanan dan minuman sesuai dengan standart laboratorium. Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba ini diaklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari. Penimbangan berat badan pada hewan coba dilakukan setiap satu minggu sekali yang digunakan sebagai acuan penentuan volume pada dosis.

Pemberian EMBTBM dengan Melakukan Penyondean: Pemberian EMBTBM dilakukan selama 28 hari. Selama seminggu dilakukan penyondean sebanyak lima kali. Penyondean dilakukan kepada setiap tikus dengan dosis masing-masing. Pada perlakuan I diberikan dosis 250 mg/kgBB, perlakuan II diberikan dosis sebanyak 500 mg/kgBB dan perlakuan III diberikan dosis sebanyak 1000 mg/kgBB.



Pembedahan dan Pengambilan Sampel Darah: Setelah dipelihara dan diberi perlakuan selama 28 hari, selanjutnya dilakukan tahapan pembedahan hewan uji dan pengambilan sampel darahnya. Masing-masing tikus betina dianestesi dengan ketamine, setelah tikus wistar pingsan kemudian dilakukan pembedahan secara vertikal yaitu dari abdomen tikus menuju ke arah thoraxnya. Setelah itu darah diambil sebanyak 5 ml pada bagian cor nya dan kemudian diletakkan dalam tabung ependorf. Kemudian sampel akan dilakukan pemeriksaan kadar SGOT, SGPT dan bilirubin total di Laboratorium Klinik “Bromo” Malang.

Pemeriksaan Histopatologi: Organ hepar ditempatkan dalam buffer santai KCl & PBS 25 mM, kemudian disimpan dalam formaldehida buffered netral 40% pada suhu kamar. Bagian hematoxylin dan eosin (H&E) (~ 5 µm) disiapkan untuk mengukur histopatologi. Bagian difoto pada perbesaran 400x menggunakan Olympus (Tokyo, Jepang). Pencahayaan mikroskop, focus dan pemilihan bidang dioptimalkan untuk membedakan batas sel. Gambar dibuka di Gambar J dan setelah menetapkan ambang batas, dianalisis. Data dari semua bidang digabungkan dan kemudian dianalisis.

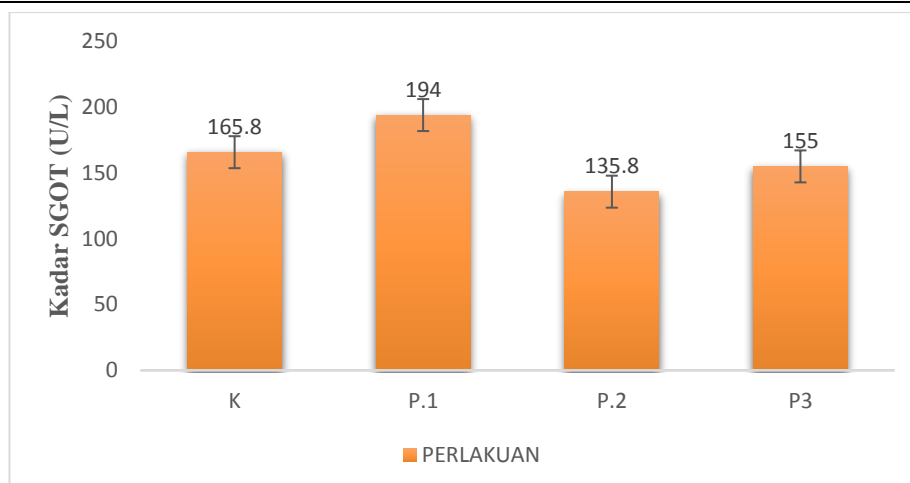
Analisis Data: Data yang didapatkan dari hasil analisis kadar bilirubin total, SGOT dan SGPT yang telah diuji di Laboratorium Bromo Klinik Malang serta histopatologi pada hepar dianalisis menggunakan aplikasi Jamovi versi 1.0.1.0. Perbedaan signifikan antara rata-rata dianalisa menggunakan metode statistik uji *one-way analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan test Duncan untuk membedakan dengan kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0.05$). Tujuan dilakukan uji *one-way analysis of variance* (ANOVA) adalah membandingkan perbedaan rerata yang lebih dari 2 perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

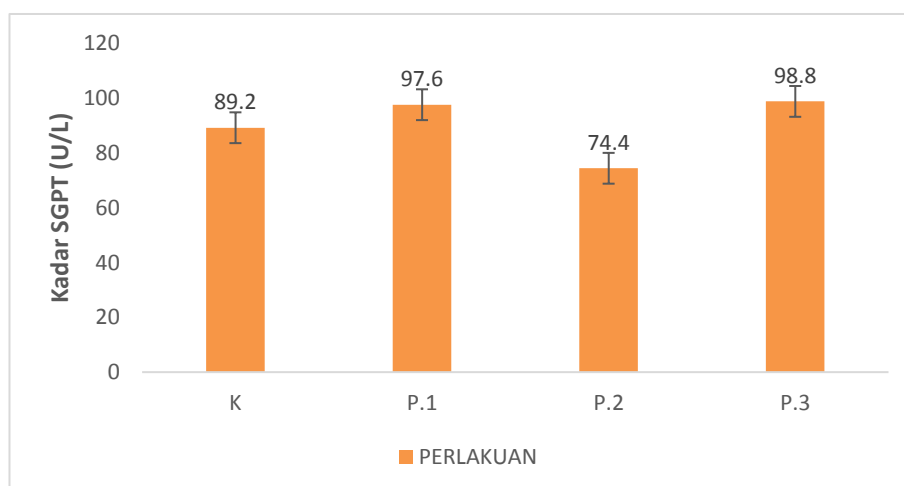
Pemeriksaan biokimia klinis dan histopatologi merupakan aspek yang dilakukan dalam pengujian toksisitas EMBTBM. Adapun biokimia klinis yang dilakukan pemeriksaan adalah SGOT, SGPT dan bilirubin total sedangkan histopatologi yang diamati adalah pada sel hatinya. Ho atau hipotesis pada penelitian ini adalah tidak adanya pengaruh ekstrak metanolik kombinasi benalu teh dan benalu mangga (EMBTBM) terhadap fungsi hati.

Rerata SGOT tikus wistar betina dapat dilihat dalam bentuk gambar 1. Hasil analisis pada kelompok perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Pada penelitian ini data dianalisis dengan menggunakan uji *one-way ANOVA*. Apabila $P > 0,05$ maka Ho diterima, sedangkan apabila $P < 0,05$ maka Ho ditolak. Berdasarkan hasil dari uji ANOVA menunjukkan nilai signifikan 0,356 yang lebih besar dari p hitung 0,05 sehingga semua perlakuan tidak berbeda nyata.



Gambar 1. Rata-rata Kadar *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) terhadap perlakuan pemberian dosis EMBTBM 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Ket: K: Kontrol, PI (Dosis EMBTBM 250 mg/kgBB), PII (Dosis EMBTBM 500 mg/kgBB), PIII (Dosis EMBTBM 1000 mg/kgBB).

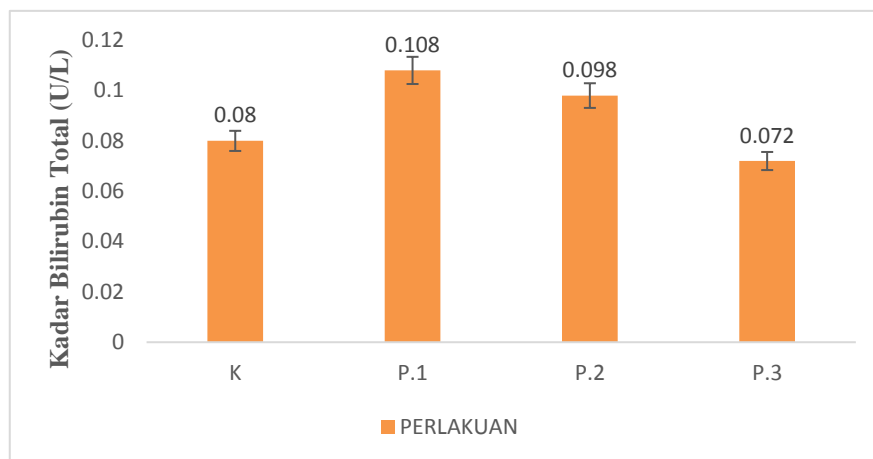
Pada SGPT tikus wistar betina, nilai rerata dapat dilihat dalam bentuk gambar 2. Hasil analisis pada kelompok perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Berdasarkan hasil dari uji ANOVA menunjukkan nilai signifikan 0,052 yang lebih besar dari p hitung 0,05 sehingga semua perlakuan tidak berbeda nyata.



Gambar 2. Rata-rata Kadar *Serum Glutamic Piruvat Transaminase* (SGPT) terhadap perlakuan pemberian dosis EMBTBM 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Ket: K: Kontrol, PI (Dosis EMBTBM 250 mg/kgBB), PII (Dosis EMBTBM 500 mg/kgBB), PIII (Dosis EMBTBM 1000 mg/kgBB).

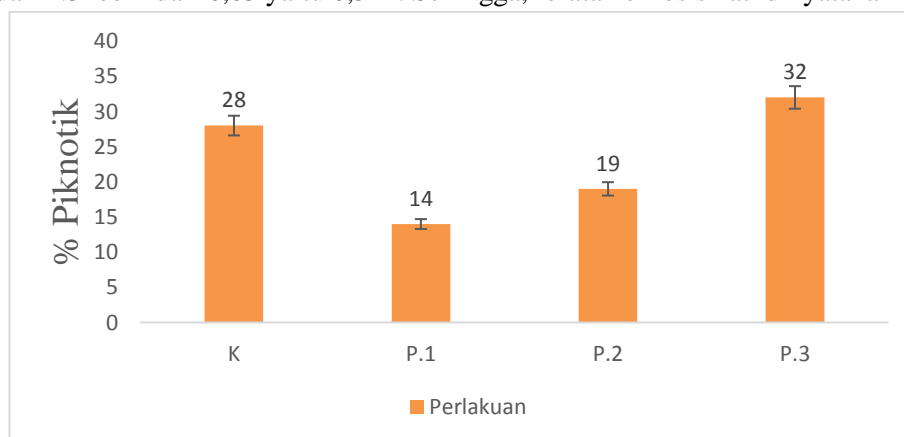
Nilai rerata bilirubin total pada tikus wistar betina dapat dilihat dalam bentuk tabel dan gambar 3. Hasil analisis pada kelompok perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Pada penelitian ini data dianalisis dengan menggunakan uji *one-way ANOVA*. Berdasarkan hasil dari uji

ANOVA menunjukkan nilai signifikan 0,189 yang lebih besar dari p hitung 0,05 sehingga semua perlakuan tidak berbeda nyata.



Gambar 3. Rata-rata Kadar Serum Glutamic Piruvat Transaminase (SGPT) terhadap perlakuan pemberian dosis EMBTBM 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Ket: K: Kontrol, PI (Dosis EMBTBM 250 mg/kgBB), PII (Dosis EMBTBM 500 mg/kgBB), PIII (Dosis EMBTBM 1000 mg/kgBB).

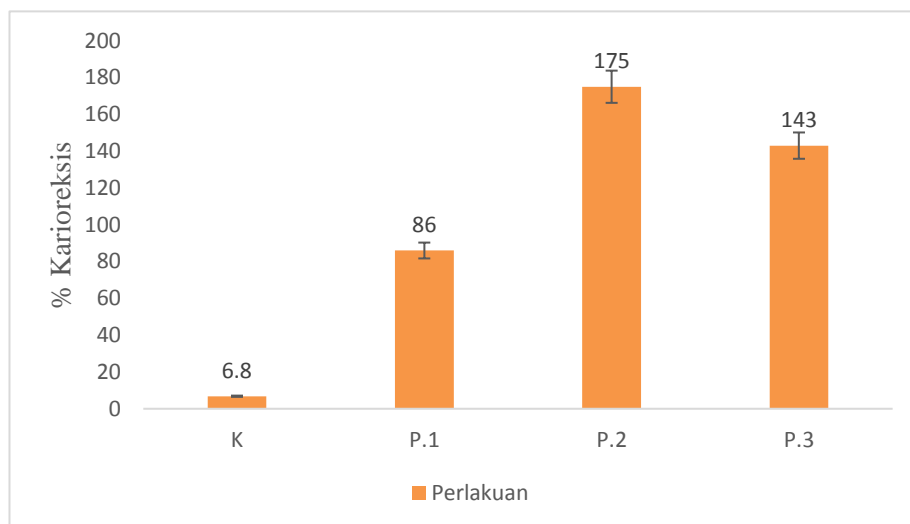
Nilai rerata yang didapatkan dari perhitungan kerusakan sel piknotik hepar tikus betina dapat dilihat pada tabel dan gambar 4. Pada penelitian ini data dianalisis dengan menggunakan uji *one-way ANOVA* dan mendapatkan hasil bahwasanya kelompok perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan. Hasil dari uji *ANOVA* menunjukkan nilai signifikan atau p (value) pada perlakuan kontrol, P.1, P.2 dan P.3 lebih dari 0,05 yaitu 0,521. Sehingga, rerata nekrosis hati dinyatakan tidak beda nyata.



Gambar 4. Histogram hasil piknotik hepar pada *Rattus norvegicus* setelah diberi EBTBM selama 28 (subkronik). Kelompok perlakuan P.1, P.2 dan P.3 tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol ($p \geq 0,05$). Ket: K: Kontrol, PI (Dosis EMBTBM 250 mg/kgBB), PII (Dosis EMBTBM 500 mg/kgBB), PIII (Dosis EMBTBM 1000 mg/kgBB).

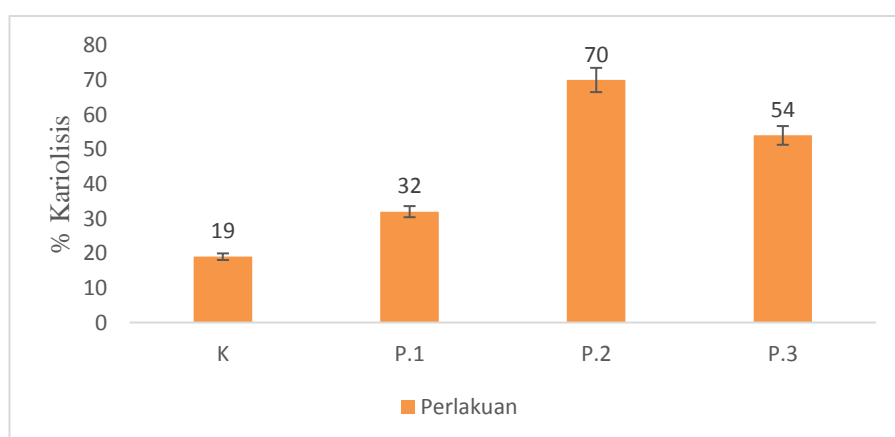
Hasil nilai rerata kerusakan sel (nekrosis) karioreksis hepar betina dapat dilihat pada tabel dan gambar 5. Berdasarkan hasil pengamatan karioreksis sel hepar yang telah dilakukan uji *One Way*

ANOVA terlihat adanya perbedaan rerata nekrosis hepar, karena nilai signifikan atau p (value) pada perlakuan kontrol, P1, P2, P3 lebih kecil dari 0,05 yaitu 0,009. Sehingga, rerata nekrosis hati dinyatakan beda nyata. Maka pemberian EMBTBM selama 28 hari pada tikus dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB dapat menaikkan sel hepar yang karioreksis dan berpengaruh terhadap nekrosis hepar tikus *Rattus norvegicus* betina.



Gambar 5. Histogram hasil karioreksis hepar pada *Rattus norvegicus* setelah diberi EBTBM selama 28 hari (subkronik). Kelompok perlakuan P.1, P.2 dan P.3 tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol ($p \geq 0,05$). Ket: K: Kontrol, PI (Dosis EMBTBM 250 mg/kgBB), PII (Dosis EMBTBM 500 mg/kgBB), PIII (Dosis EMBTBM 1000 mg/kgBB).

Hasil nilai rerata kerusakan sel (nekrosis) kariolisis hepar betina dapat dilihat pada tabel dan gambar (tabel 6 dan gambar 6). Berdasarkan hasil pengamatan kariolisis sel hepar yang telah dilakukan uji *One Way ANOVA*, diperoleh nilai signifikan atau p (value) pada perlakuan kontrol, P1, P2, P3 lebih dari 0,05 yaitu 0,144. Sehingga, rerata nekrosis hati dinyatakan tidak beda nyata.



Gambar 6. Histogram hasil kariolisis hepar pada *Rattus norvegicus* setelah diberi EBTBM selama 28 hari (subkronik). Kelompok perlakuan P.1, P.2 dan P.3 tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol ($p \geq 0,05$). Ket: K: Kontrol, PI (Dosis EMBTBM 250 mg/kgBB), PII (Dosis EMBTBM 500 mg/kgBB), PIII (Dosis EMBTBM 1000 mg/kgBB).



Pembahasan (Sub-Heading 2.... Jika diperlukan)

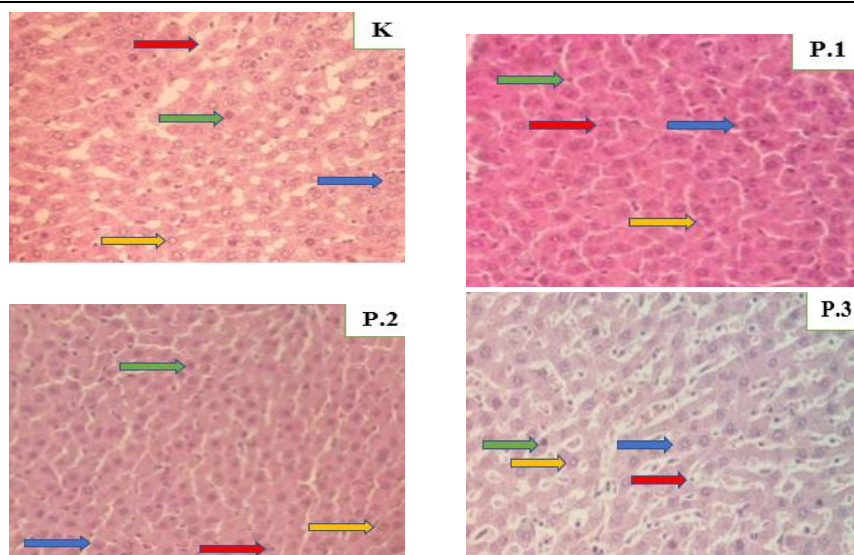
Berdasarkan uji *one way* ANOVA dengan menggunakan aplikasi jamovi 1.0.1.0 didapatkan hasil bahwa nilai sig SGOT, SGPT dan Bilirubin total secara berurutan adalah 0,356; 0,052 dan 0,189. Nilai sig tersebut lebih besar dari p value ($P > 0,05$), sehingga menunjukkan bahwa EMBTBM dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB pada tikus putih wistar betina dinyatakan aman dan tidak toksik pada fungsi hepar terutama SGOT, SGPT dan Bilirubin total. Pada kelompok perlakuan pemberian EMBTBM dengan dosis 500 mg/KgBB didapatkan hasil SGOT, SGPT dan Bilirubin total yang lebih rendah dari kontrol, sehingga dapat dikatakan dosis ini merupakan dosis yang paling efektif.

Kadar normal pada enzim SGPT dan SGOT dalam serum darah memiliki konsentrasi rendah yaitu kurang dari 30- 40 IU/L [13]. Dari beberapa studi yang telah dilakukan, SGOT dan SGPT dapat meningkat kadarnya hingga 10- 500 kali lipat [14]. Kadar normal SGOT pada manusia normal adalah 5- 40 unit perliter, sedangkan SGPT 5- 35 unit per liter [15]. Sedangkan kadar SGOT dan SGPT pada tikus putih secara berurutan adalah 45,7- 80,8 U/L dan 17,5- 30,2 U/L. Kadar normal bilirubin total pada tikus adalah sebesar 0,2- 0,55 mg/dl [16].

Pada hasil pengukuran kadar SGOT, SGPT dan Bilirubin total yang telah dilakukan pengujian pada masing- masing kelompok P.1, P.2 dan P.3 menunjukkan bahwa EMBTBM yang diberikan kepada tikus betina selama 28 hari dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB tidak berpengaruh terhadap kerusakan kadar SGOT, SGPT dan Bilirubin total karena adanya zat aktif dalam EMBTBM terutama *Kuersetin*. *Kuersetin* merupakan golongan dari *flavonoid* yang mengandung antioksidan dan dapat menghambat radikal bebas sehingga tidak membuat kerusakan pada sel hepar. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, menghambat atau mencegah oksidasi lipid atau molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi dari reaksi rantai oksidatif [17]. Hidup tidaknya sel juga dipengaruhi oleh oksigen dan nutrisi. Namun disisi lain oksigen juga dapat berpotensi dalam kerusakan sel yang disebabkan oleh oksidasi. Apabila proses oksidasi ini dihalangi oleh oksidan maka akan terbentuklah radikal bebas. Radikal bebas ini akan terbentuk apabila tidak memiliki elektron yang berpasangan. Zat toksik serta radikal bebas dapat menyebabkan rusaknya sel dan jaringan hepar. Dalam keadaan normal radikal bebas tidak akan menyebabkan kerusakan hepar dikarenakan hepar memiliki sistem pertahanan yang lebih baik dari organ- organ lainnya. Namun apabila terdapat bagian hepar yang telah rusak dengan sangat luas maka hepar akan langsung kehilangan fungsinya. Salah satu tanda adanya gangguan fungsi hati adalah tingginya kadar SGOT, SGPT dan Bilirubin total.

Penelitian ini tidak hanya melakukan pemeriksaan terhadap biokimia klinisnya saja, melainkan juga melakukan pemeriksaan terhadap histopatologinya. Hepar akan mengalami beberapa perubahan, baik itu perubahan yang bersifat tidak permanen bahkan juga bisa mengalami perubahan yang bersifat permanen. Maksud dari perubahan yang bersifat tidak permanen adalah adanya perubahan struktur pada sel yang kemungkinan masih bisa kembali normal sedangkan apabila terjadi perubahan struktur yang berlangsung secara terus menerus sampai terjadinya kematian pada sel maka akan terjadi perubahan yang bersifat permanen [18]. Kematian sel ini bisa terjadi melalui proses nekrosis dan apoptosis. Adapun ciri- ciri nekrosis adalah tampaknya fragmen atau sel otot jantung nekrotik tanpa pulasan inti atau tidak tampaknya sel disertai reaksi radang. Tampak atau tidaknya sisa sel hepar tergantung pada lama dan jenis nekrosis [19].

Pengamatan terhadap histopatologi ini dilakukan dengan cara menghitung sel- sel hepar yang rusak. Sel hepar diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengamatan kerusakan sel hepar yang mengalami nekrosis meliputi piknotik, karioreksis dan kariolisis pada gambar dibawah ini:



Gambar 7. Histopatologi Hepar setelah pemberian EMBTBM selama 28 hari (Olympus CX21, 40x10)

Keterangan: : Normal : Piknotik
 : Karioreksis : Kariolisis

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis hepar, pemberian EMBTBM yang berlebihan dapat berpengaruh terhadap struktur jaringan sel hepar berupa piknotik, kariolisis dan juga karioreksis. Struktur jaringan sel hepar yang normal terlihat inti sel yang masih terlihat jelas. Sedangkan pada jaringan hepar abnormal terlihat inti sel yang mengalami nekrosis meliputi piknotik, karioreksis dan kariolisis. Kerusakan sel hepar tikus betina pada kelompok perlakuan dengan pemberian EMBTBM dosis 250 mg/KgBB merupakan kelompok perlakuan yang lebih sedikit mengalami nekrosis dibandingkan dengan dosis 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Hal ini disebabkan karena pada dosis 250 mg/KgBB merupakan dosis yang paling rendah dibandingkan dengan dosis lainnya serta dosis ini digunakan dengan harapan tidak menimbulkan toksis pada sel hepar.

Berdasarkan uji ANOVA didapatkan hasil antar kelompok perlakuan P.1, P.2 dan P.3 tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol baik hasil piknotik maupun kariolisis histopatologi hepar tikus betina. Namun pada hasil karioreksis histopatologi menunjukkan beda nyata dengan kelompok kontrol dengan nilai signifikan 0,009 ($p < 0,05$). Salah satu penyebab banyaknya sel hepar yang mengalami karioreksis adalah terlalu banyaknya zat toksik yang terpapar pada sel hepar. Lu (1995) mengatakan bahwa sel hati berperan penting dalam metabolisme lipid. Apabila sel hati mendapatkan paparan zat yang toksik secara terus-menerus, maka akan mengganggu proses metabolisme dalam hati dan kemudian akan menyebabkan kerusakan struktur jaringan sel hepar berupa nekrosis hati. Nekrosis pada sel hati biasanya ditandai dengan adanya inti sel hati yang terlihat menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap, dimana merupakan ciri-ciri dari piknotik. Inti piknotik merupakan pengerutan inti akibat dari homogenisasi sitoplasma dan peningkatan eosinofilik. Setelah terjadinya piknotik, inti hati dapat hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar didalam sel, proses ini disebut dengan istilah karioreksis. Kemudian apabila inti selnya mati dikarenakan kehilangan kemampuan untuk diwarnai maka proses ini disebut dengan kariolisis



[20]. Ressay (1995) menyatakan bahwa inti piknotik merupakan tahap awal dari nekrosis, dan nekrosis ditandai dengan adanya perubahan pada inti sel hati. Pada penelitian ini ditemukan adanya nekrosis sel pada kelompok perlakuan kontrol [21]. Hal ini disebabkan karena sebelum pengambilan sampel tidak dilakukan pemeriksaan terhadap hepar tikus sehingga kemungkinan tikus yang diambil sebagai sampel adalah tikus yang telah mengalami kerusakan pada hepar sebelumnya, kondisi kandang yang kurang ideal, pemberian pakan dan minum yang kurang sesuai standart dan bervariasi, faktor stress pada tikus, pengaruh zat atau penyakit lain, daya tahan dan kerentanan tikus. Namun juga ada faktor lain yang disebabkan dari sediaan kombinasi daun benalu teh dan benalu mangga itu sendiri, yaitu pada saat proses pengeringannya yang akan mempengaruhi kadar antioksidan yang dimiliki benalu tersebut karena waktu pengeringan dan proses penyimpanan juga mempengaruhi daya antioksidan [22].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kombinasi daun benalu teh dan daun benalu mangga pada tikus *Rattus norvegicus* betina pada paparan subkronik 28 hari dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB, dan 1000 mg/KgBB, memiliki nilai yang tidak beda nyata antara kelompok kontrol dengan perlakuan, sehingga dapat diartikan pemberian ekstrak kombinasi daun benalu teh dan daun benalu mangga aman dan tidak menimbulkan sifat toksik pada fungsi hepar tikus wistar betina dan penggunaan dosis yang paling efektif adalah dosis 500 mg/kgBB.

Ucapan Terima Kasih

Kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor: B/666/E3.E3/RA.00/2019 Perihal Pemberitahuan Penerimaan Proposal Penelitian Tahun 2019 untuk Pendanaan Tahun 2020- 2022 tanggal 18 Juli 2019. Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) dengan judul “Kombinasi Herbal Benalu Sebagai Sediaan Produk Fitofarmaka Suatu Kandidat Alternatif Obat Anti Hipertensi Alami Tradisional Indonesia” atas nama Dr. Nour Athiroh Abdoes Sjakoer, S.Si., M. Kes.

Daftar Pustaka

- [1] Artanti, N, Firmansyah, T and Darmawan, A. 2012. Bioactivities Evaluation of Indonesian Mistletoes (*Dendrophthoe pentandra* (L). Leaves Extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6: 1659- 1663.
- [2] Panche, A. N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. 2016. Flavonoid: an overview. *J. Nutr.Sci.* 5. E47.
- [3] BPOM. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Secara In Vivo*. Menteri Hukum dan HAM : Jakarta.
- [4] Athiroh, N and N. Permatasari. 2012. Mechanism of Tea Mistletoe Action on Blood Vessels Medical. *Journal Brawijaya.Vol. 27 No.(1) Page: 1-7.*
- [5] Athiroh, N. 2009. Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Terpisah Dengan Atau Tanpa Endotel Setelah Pemberian Ekstrak *Scurrula oortiana* (Benalu Teh). *Jurnal Berkala Hayati Edisi Khusus 3D. Hal: 31-34.*



- [6] Athiroh, N., N. Permatasari, D. Sargowo dan M.A. Widodo. 2014. Effect of *Scurrula atropurpurea* on Nitric Oxide, Endothelial Damage, and Endothelial Progenitor Cells of DOCA- salt Hypertensive rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. Vol. 17 No.8, page: 622-625.
- [7] Munawaroh, N.S., Athiroh, N., Santoso H. 2016. Paparan 28 Hari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. Terhadap Kadar SGPT Tikus Betina. *Jurnal Biosaintropis* 2 (1), 53-58.
- [8] Samad, F., Athiroh, N., Santoso, H., 2017. Pemberian Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans Secara Subkronik Terhadap Protein Total Dan Albumin Tikus Betina. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC) Volume 2. No.: 2. Halaman 49 – 54.*
- [9] Hikmah, U. Athiroh, N., dan Santoso, H. 2017. Kajian Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. Terhadap Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase Tikus Betina. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC). Vol. 2. No:2. Hal: 30-35.*
- [10] Mahyan, A, N. Athiroh, dan H. Santoso. 2016. Paparan 28 Hari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. Terhadap Kadar SGPT Tikus Betina. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC). Vol. 2. No:1.*
- [11] Rufaida, F. 2012. *Profil Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL) Dan Gambaran Histopatologis Aorta Pada Tikus Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga*. <http://pkh.ub.ac.id> . Diakses pada tanggal 23 Januari 2020.
- [12] Athiroh, N dan D, Wahyuningsih. 2017. *Study of Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Concentrations in Mice After Administration of Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (BL.)*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol.11(1); 19-22.
- [13] Kaplan. 2005. *Laboratory Test dalam Schiff, L dan Schiff L, Disease of the liver 7th edition*, Lippincott company. Phyladelphia
- [14] Zimmermann and maddrey. 1993. *Toxic and drug induced Hepatitis in Schiff. Disese of the liver 7th edition*. Lippincot Company. Phyladelphia.
- [15] Price & Wilson. 1995. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses- Proses Penyakit Edisi 4*. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- [16] Lab, Value. 2014. *The Rat Fan Club*. <http://www.ratfaunclub.orv/value> (Diakses 5 April 2020)
- [17] Javanmardi, J. Stushnoff, C. Locke, and J.M. Vicanco. 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Irania Ocimum* Accessions. *Journal Food Chem*. 83 (4):547-550.
- [18] Natalia, Eka dessy. 2013. *Uji Toksisitas Tepung Glukomanan (*Amorphopalus blume*) Dengan Penentuan LETHAL DOSE (LD₅₀) dan Pengaruhnya Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Wistar*. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya : Malang.
- [19] Boya, R.D. 2011. *Pengaruh Ekstrak Pasak Bumi (*Eurycomalongifolia Jack*) Terhadap Struktur Histologi Sel Hepar Mencit yang dipaparkan Parasetamol*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret.



- [20] Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Universitas Indonesia Press : Jakarta.
- [21] Ressang, A. 1995. *Patologi Khusus Veteriner*. Bali Press : Denpasar.
- [22] Kay, C. 2004. *Analysis of The Bioactivity, Metabolisme and Pharmacokinetics of Anthocyanins in Humans*. Phd Thesis. University of Guelph, Ontario, Canada: 46- 72