

UJI TOKSISITAS SUB AKUT INFUSA DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI MENCIT (*Mus musculus*) GALUR BALB/C

Wafa Aufia¹, Surya Amal^{2,3}, Nurul Marfu'ah³

¹ Mahasiswa Program Studi Farmasi UNIDA GONTOR

^{2,3} Staf Pengajar Program Studi Farmasi UNIDA GONTOR

Pondok Modern Gontor Putri 1, Mantingan, Ngawi 63257 INDONESIA

wafaafia96@gmail.com

ABSTRAK

Allah menciptakan segala yang ada di dunia ini memiliki manfaat salah satunya adalah tanaman. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) merupakan tanaman herbal yang telah diuji khasiatnya sebagai antidiabetes, antioksidan, antikanker dan analgesik dengan kandungan saponin, sesquiterpen laktone, alkaloid, polifenolat, tannin, monoterpen, kuinon dan saponin digunakan sebagai obat herbal dalam sediaan infusa. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui keamanan pada penggunaan infusa Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap histopatologi hati mencit galur BALB/c. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dikelompokkan menjadi 4 macam dengan ulangan masing-masing 3 kali. Perlakuan yang diberikan antara lain, kontrol (Aquadest 0,25 ml), P1 (dosis 10% b/v), P2 (dosis 20% b/v) dan P3 (dosis 30% b/v). Objek yang diamati adalah histopatologi hati mencit galur BALB/c area centrilobular, midlobular dan periportal, kemudian diuji menggunakan One way ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Post hoc Tukey. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa pada dosis 10% b/v terjadi kerusakan sel degenerasi sebanyak 24% dan kerusakan nekrosis sebanyak 9%, pada dosis 20% b/v terjadi kerusakan degenerasi sebanyak 53% dan nekrosis sebanyak 21%, sedangkan pada dosis 30% b/v terjadi kerusakan degenerasi sebanyak 55% dan nekrosis sebanyak 40%. Berdasarkan hasil ANOVA dapat disimpulkan bahwa infusa Daun Afrika berpengaruh terhadap histopatologi hati mencit galur BALB/c. Kerusakan histologi hati meliputi sel mengalami degenerasi pada dosis 10% b/v, 20% b/v, 30% b/v, sedangkan sel mengalami nekrosis pada dosis 20% b/v dan 30% b/v.

Kata kunci: Uji Toksisitas, Infusa, Daun Afrika, Histopatologi Hati

ABSTRACT

Allah created everything in this world has its benefits, including plants. African Bitter Leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) is an herbal plant that has been experimented as anticancer, antioxidant, antidiabetic and analgesic with the presence of sesquiterpene lactones, saponins, alkaloids, tannins, polyphenol, monoterpen, Quinones, and Saponins. It is employed as an herbal medicine in infuse preparations. This study aims to investigate the safety standard and the effects of African Bitter Leaves infuse (*Vernonia amygdalina* Del.) against the liver histopathology in mice strain BALB/c. This study is an experimental research using Completely Randomized Design (CRD). The practices are grouped into 4 different with 3 times repeatedly. The practices given, among others, control (Aquadest 0.25 ml), P1 (doses of 10% b/v), P2 (doses of 20% b/v) and P3 (doses of 30% b/v). The observed object is the liver histopathology in mice strain BALB/c at the centrilobular area, midlobular and periportal, then analysis by one-way ANOVA followed by Tukey's Post hoc test. The results of this study stated that the doses of 10% b/v destroyed 24% cell degeneration and 9% cell necrosis, at a dose of 20% b/v destroyed 53% cell degeneration and 21% cell necrosis, and at doses of 30% b/v destroyed 55% cell degeneration and 40% cell necrosis. Based on ANOVA results it can be concluded that the African Bitter Leaves infuse influence liver histopathology in mice strains BALB/c. Destroyed of liver histology include degenerate cells at doses 10% b/v, 20% b/v, 30% b/v, and necrosis cell at doses 20% b/v and 30% b/v.

Keywords: Toxicity Test, Infuse, Afrikan Bitter Leaves, Liver Histopathology

1. Pendahuluan

Allah Subhanaahu wa ta'ala berfirman di dalam Al-Qur'an:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (11)

“Dia menumbuhkan bagi kalian dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS: An-Nahl 11).

Berdasarkan ayat diatas, kita dapat mengetahui bahwa Allah telah menciptakan alam semesta berbeda-beda baik dari segi bau, warna, rasa, kandungan kimia, khasiat, bahkan tingkat ketoksikan suatu tumbuhan. Oleh karena itu, manusia sebagai khalifah di bumi memiliki tugas untuk mengetahui dan memikirkan lebih dalam tentang manfaat tumbuhan yang ada sehingga mampu memanfaatkan segala nikmat yang telah Allah turunkan, baik sebagai bahan pangan ataupun bahan pengobatan.

Pengobatan dengan bahan baku tanaman atau kimia bahan alam dinamakan pengobatan herbal atau pengobatan tradisional yang merupakan implementasi dari pemanfaatan tumbuh-tumbuhan yang Allah ciptakan, sering diungkapkan sebagai Thibbun Nabawi (Khasanah dan Munawwaroh, 2017). Pengobatan ini telah berlangsung sejak zaman dahulu dan dilestarikan penggunaannya secara empiris. Legilasi penggunaannya di Indonesia masih dalam sistem toleran yakni, sistem pelayanan kesehatan berbasis kedokteran modern tetapi penggunaan beberapa obat tradisional tidak dilarang oleh undang-undang (Ditjen Pen, 2014).

Pengobatan herbal menggunakan Daun Afrika telah teruji secara empiris dan teoritis sebagai antioksidan, antimutagenik, anti kanker, antidiabetes (Atangwho, dkk., 2010; Felicia.,2015; Handayani, dkk., 2016; Putra, Rizki., 2016), menurunkan kadar serum kreatinin sebagai penunjang sekresi insulin (Suryati, dkk., 2016), efek inotropik dan konotropik positif serta sebagai analgetik (Lubis,2015). Berdasarkan Penelitian Ijeh dan Chukwunoso (2010), Daun Afrika mengandung senyawa golongan saponin, flavonoid, sesquiterpen lakton, dan glikosida steroid. Selain itu dari hasil penapisan kimia yang telah

dilakukan oleh Kharimah (2016) simplisia dan ekstrak etanol Daun Afrika terbukti mengandung senyawa alkaloid, polifenolat, tannin, monoterpen, sesquiterpen, steroid/triterpenoid, kuinon dan saponin. Senyawa-senyawa ini yang menjadi bahan utama memiliki efek dan memberikan khasiat dalam pengobatan herbal menggunakan Daun Afrika.

Pengobatan modern maupun pengobatan herbal mengalami fase farmakokinetika obat yang menjadikan organ hati sebagai metabolit utama dalam tubuh, sehingga efek toksik obat sangat berdampak pada hati. Karena hati memiliki peran sentral dalam memetabolisme suatu zat yang masuk ke dalam tubuh, hati akan mengubah struktur obat yang bersifat lipofilik menjadi hidrofilik sehingga mudah dikeluarkan dari dalam tubuh melalui urin atau empedu. Ekskresi suatu zat melalui empedu memungkinkan terjadinya penumpukan xenobiotik di hati sehingga menimbulkan efek hepatotoksik (Rhowe, 2012).

Maka pemeriksaan gambaran mikroskopik hati setelah pemberian sediaan herbal infusa Daun Afrika perlu dilakukan, untuk memperhatikan lebih lanjut efek toksik yang terjadi pada sel hepatosit setelah penggunaannya. Selain itu, bagi umat muslim kehalalan dan baik buruknya suatu obat terhadap organ tubuh perlu diperhatikan sehingga perlu dilakukan uji toksisitas sub akut ini dengan meneliti gambaran mikroskopis sel hepatosit organ hati, untuk mampu menjadi referensi keamanan sediaan herbal infusa sebagai obat herbal terstandar.

2. Tinjauan Teoritis

2.1 Daun Afrika

Berdasarkan Penelitian Ijeh dan Chukwunoso (2010), dan Kharimah (2016) Daun Afrika mengandung senyawa saponins (vernoniosida and steroid saponins), flavonoids, glikosida, sesquiterpene lactones (vernolida, vernoladol, vernodalin, vernolepin and vernomygdin), steroids, alkaloids, tannins, polyphenols, monoterpene, quinones. coumarin, asam fenolat, Lignans, a xanthone, peptides and luteolin. Daun Afrika banyak mengandung nutrisi dan senyawa kimia, antara lain sebagai berikut: protein 19,2%, serat 19,2%, karbohidrat

68,4%, lemak 4,7%, asam askorbat 166,5 mg/100 g, karotenoid 30 mg/100 g, kalsium 0,97 g/ 100 g, besi 7,5 mg/100 g, fosfor, kalium, sulfur, natrium, mangan, tembaga, zink, magnesium dan selenium.

Adapun khasiat Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del) diantaranya memiliki efektifitas sebagai antioksidan, antimutagenik, anti kanker, antidiabetes (Atangwho, dkk., 2010; Felicia, 2015; Handayani, dkk., 2016; Putra, 2016), mampu menurunkan kadar serum kreatinin sebagai penunjang sekresi insulin (Suryati, dkk., 2016), efek inotropik dan konotropik positif dan sebagai analgetik (Lubis, 2015).

2.2 Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. (BPOM, 2010). Selanjutnya diperas selagi panas menggunakan kain flanel, sambil ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki. Infusa simplisia yang mengandung minyak atsiri diperas dalam keadaan dingin. Infusa simplisia yang mengandung lendir tidak boleh diperas. Infusa simplisia yang mengandung glikosida antrakuinon, ditambah larutan natrium karbonat P 10% dari bobot simplisia. Kecuali dinyatakan lain infusa yang mengandung bukan bahan berkhasiat keras, dibuat dengan menggunakan 10% simplisia (Depkes, 2000).

2.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu pengujian untuk mengamati suatu aktivitas farmakologi suatu senyawa. Prinsip uji toksisitas merupakan pengujian terhadap komponen bioaktif yang bersifat toksik jika diberikan dengan dosis tinggi dan dapat menjadi obat apabila diberikan dalam dosis rendah. Zat atau senyawa asing yang ada di lingkungan dapat terserap ke dalam tubuh secara difusi dan langsung akan mempengaruhi keseimbangan dalam tubuh. Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui pengaruh senyawa tersebut pada dosis tunggal dari suatu campuran senyawa pada hewan coba sebagai ujian pra klinis senyawa bioaktif (Hodgson dan Cunny, 2010).

Uji toksisitas subakut atau uji jangka pendek merupakan uji untuk menentukan tingkat ketoksikan suatu zat atau bahan dengan dosis berulang dalam kurun waktu 14 sampai dengan 90 hari atau berdasarkan WHO sampai dengan 180 hari sesuai dengan bahan yang akan diuji untuk penyakit diabetes dan hipertensi digunakan 28 hari sampai dengan 90 hari. Pengamatan yang dilakukan berupa pengamatan makroskopis dan mikroskopis termasuk pada organ pencernaan, organ metabolisme, organ ekskresi dan organ kardiovaskuler dengan tujuan untuk mengetahui efek patologi kasar dan efek histologi dalam penggunaan berulang (Donatus, 2005). Persyaratan dalam uji toksisitas subkronik antara lain hewan yang digunakan adalah rodensia tikus putih (strain Sprague Dawley atau Wistar) atau mencit (strain ddY atau BALB/C dan lain-lainnya). Syarat hewan uji adalah sehat, umur 6-8 minggu. (BPOM, 2014).

2.4. Organ Hati

Hati merupakan organ tubuh yang penting untuk mendetoksifikasi zat kimia yang tidak berguna atau merugikan tubuh. Organ ini juga mempunyai kemampuan tinggi untuk mengikat zat-zat kimia melebihi organ-organ lain (Hernawati, 2012). Pada sediaan histologis, hati memperlihatkan unit-unit heksagonal berulang yang dinamakan lobulus hepatikus. (Eroschenko, 2015). Mekanisme kerusakan hati yang disebabkan oleh obat terjadi karena Stimulasi autoimun, Reaksi idiosinkratik, Gangguan homeostatis kalsium dan cidera sel membran, dan Aktivasi metabolik dari enzim sitokrom P450. (Dipiro, 2008). Kerusakan hati akibat obat-obatan ditandai dengan lesi awal yaitu lesi biokimiawi yang diiringi dengan rangkaian perubahan fungsi dan struktur. Perubahan struktur hati terlihat pada pemeriksaan mikroskopik antara lain: radang, fibrosis, degenerasi and nekrosis (Bhara, 2009).

3. Metodologi

3.1 Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan untuk menunjang penelitian ini adalah panci lapis enamel, termometer, batang pengaduk, kompor listrik, timbangan analitik, Erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, spuit injeksi oral volume 1 ml, papan

bedah, toples, kain flannel, bak plastik, penutup kassa kawat, botol minum mencit, kanul, mikroskop cahaya listrik merk Olympus CX23+ kamera Optilab, alat bedah (scapel, gunting, pinset, jarum pentul), kapas, toples, labu ukur volume 10 ml, kulkas, sarung tangan, dan blender, object glass.

Bahan yang diperlukan adalah mencit, sekam, pellet mencit, air ledeng, aquades, NaCl 0,9%, larutan formalin 10%, Daun Afrika, dan alkohol 70%, alkohol 96%, larutan xylol, paraffin, gliserin albumin, timol, hematoxylin, eosin. Simplisia Daun Afrika sebagai tanaman yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Materia Medika dan dideterminasi di Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Balai Materia Medika Batu di Batu Malang

3.2 Pembuatan Infusa Daun Afrika

Serbuk Simplisia Daun Afrika yang telah dideterminasi dibuat infusa dalam 3 konsentrasi yakni konsentrasi 10% b/v, 20% b/v dan 30% b/v. Untuk membuat infusa Daun Afrika 10% b/v, serbuk Daun Afrika sebanyak 0,5 g dipanaskan dengan 5 ml aquades pada suhu 90°C selama 15 menit dalam panci lapis enamel, Kemudian sampel diperas menggunakan kain flannel sampai volume 5 ml aquades, apabila aquades telah menguap maka ditambahkan aquades panas hingga 5 ml melalui ampas simplisia yang telah diperas. Sedangkan pada konsentrasi 20% b/v digunakan serbuk simplisia sebanyak 1g dan konsentrasi 30% b/v digunakan serbuk simplisia sebanyak 1,5 g dalam 5 ml aquades dengan cara pembuatan yang sama.

3.3 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu dengan tujuan hewan coba dapat menyesuaikan diri terhadap lingkungan baru sebelum dilakukan perlakuan. Penyesuaian dengan lingkungan yang baru minimal dilakukan selama 5 hari. Hal tersebut bertujuan untuk menghindari terjadinya stres pada hewan coba sebelum diberikan perlakuan sehingga ketika proses perlakuan berlangsung diharapkan hewan coba berada dalam kondisi stabil.

Mencit diberi pakan dan minum 1 kali sehari sebanyak 4 gram Cp 511 dan air suling yang telah disesuaikan dengan kebutuhan nutrisi

mencit selama dikembangbiakkan di pusat veteriner farma Surabaya. Mencit ditempati didalam kandang yang beralaskan sekam dengan kapasitas 2 mencit dalam satu kandang ukuran 15x10 cm. perawatan dan perlakuan pada mencit telah memenuhi standar kode etik hewan coba menurut komisi etik penelitian kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta.

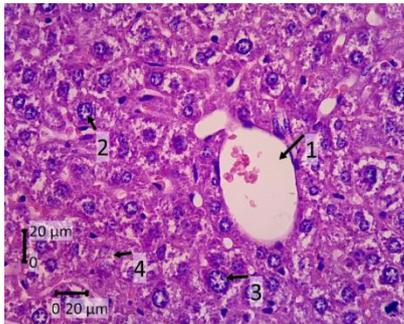
3.4 Perlakuan

Infusa Daun Afrika diberikan secara oral menggunakan spuit injeksi yang ujungnya diberi kanul, diberikan setiap hari selama 28 hari dengan dosis infusa Daun Afrika 10% b/v, 20% b/v dan 30% b/v serta kelompok kontrol diberikan aquades 0,25 ml. Berat badan mencit ditimbang setiap hari untuk mengetahui perbedaan perilaku mencit secara signifikan. Pada akhir masa uji, mencit dipuaskan semalam kemudian seluruh hewan uji dikorbankan secara fisik dengan cara anestetika overdosis, mencit dimasukkan kedalam wadah tertutup berisi eter yang akan diinhalasi. Kemudian dibedah dengan ukuran 1 x 1 x 1 cm³ dan diambil organ hatinya. Selanjutnya pembuatan preparat histologi hati dengan cara dehidrasi, penjernihan, pembalokan, pembedahan dan pewarnaan.

3.5 Pengamatan Preparat Histopatologi Hati

Pengamatan preparat histopatologi hati dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali pada penentuan letak lobulus hati dan perbesaran 400 kali untuk mengamati perubahan sel-sel hati. Pengamatan yang dilakukan meliputi degenerasi dan nekrosis pada 3 zona yakni area periportal, area midlobular, dan area centrilobular pada minimal 3 lapang pandang di setiap area kemudian dijumlah data tersebut dan diakumulasikan dengan menghitung persentase kerusakan, kerusakan yang dinilai adalah kerusakan degenerasi dan nekrosis (Lindberg, 2017). Data yang sudah diakumulasikan dijumlah dan dihitung reratanya, sehingga didapatkan nilai persentase 1 ulangan pada tiap perlakuan. Untuk menentukan persentase kerusakan digunakan rumus menurut Januar (Rofiqoh, 2015) sebagai berikut:

$$\text{Kerusakan Sel(\%)} = \frac{\text{Jumlah sel rusak}}{\text{Jumlah sel Keseluruhan}} \times 100\%$$



Gambar 1. Area centrilobular pada lobulus hati yang menunjukkan kerusakan hepatosit pada perbesaran 400X. 1= vena sentralis, 2= hepatosit normal, 3= degenerasi, 4= nekrosis.

Sel yang dikatakan Degenerasi ditandai dengan adanya penimbunan lemak dalam parenkim hati dapat berupa bercak, zonal dan merata, pengecatan inti terlihat terdesak ke tepi dan rongga sel terlihat kosong, atau sel yang mengalami pembengkakan serta kekeruhan sitoplasma karena munculnya granula-granula dalam sitoplasma. Sedangkan sel yang dikatakan nekrosis ditandai dengan hilangnya inti sel pada sel hepatosit, sehingga hanya terdapat fragmen berupa sitoplasma (Bhara, 2009).

4 Hasil dan Pembahasan

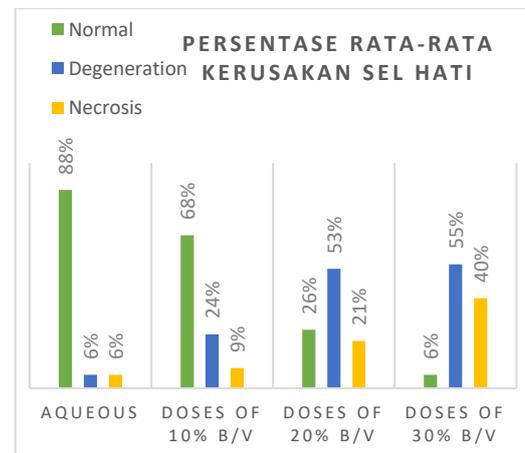
4.1 Hasil

Data persentase ulangan perhitungan kerusakan sel hepatosit mencit galur BALB/c pada pemberian infusa Daun Afrika 10% b/v, 20% b/v dan 30% b/v yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dapat dilihat pada tabel di bawah ini,

Tabel 1. Persentase rata-rata kerusakan sel hepatosit hati setelah perlakuan

Perlakuan	n	Normal	Degenerasi	Nekrosis
-----------	---	--------	------------	----------

Aquades	3	88%	6%	6%
Dosis 10% b/v	3	68%	24%	9%
Dosis 20% b/v	3	26%	53%	21%
Dosis 30% b/v	3	6%	55%	40%



Bagan 1. Persentase kerusakan sel hati

Berdasarkan persentase diatas data diuji normalitas dan homogenitas kemudian data di analisis menggunakan one way anova dengan taraf signifikansi 95%, dan didapatkan hasil signifikansi < 0,05 yang menyatakan bahwa ada perbedaan yang nyata antar perlakuan dan kelompok kontrol. Hal ini menandakan adanya pengaruh pada pemberian infusa Daun Afrika terhadap histopatologi hati mencit, sehingga hewan coba yang diberikan infusa Daun Afrika 10% b/v, 20% b/v, dan 30% b/v memiliki pengaruh terhadap sel hepatosit dengan meningkatnya persentase sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis.

Hasil analisis Tukey menunjukkan pada dosis 10% b/v memiliki nilai signifikan < 0,05 yang menyatakan bahwa dosis 10% b/v memiliki perbedaan yang nyata dengan kontrol pada kerusakan degenerasi. Hal ini menyatakan bahwa pada dosis 10% b/v sel mulai mengalami degenerasi karena adanya reaksi bahan kimia asing yang masuk dalam tubuh sehingga didapatkan sel hepatosit yang mengalami degenerasi meningkat hingga 24%, namun pada kerusakan nekrosis dosis 10% memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, hal ini menyatakan bahwa dosis 10% b/v tidak berpengaruh pada kematian sel hepatosit, sehingga dosis 10% b/v masih dianggap aman terhadap histopatologi hati

Sedangkan pada dosis 20% b/v dan 30% b/v dihasilkan perbedaan yang nyata pada kerusakan degenerasi dan nekrosis dengan kontrol, yang menyatakan bahwa pada dosis 20% b/v telah mempengaruhi sel hepatosit hati, dan kerusakan meningkat pada dosis yang lebih tinggi yakni pada dosis 30% b/v. namun pada kerusakan degenerasi antara dosis 20% b/v dan 30% b/v tidak memiliki perbedaan yang nyata dan memiliki perbedaan nyata pada kerusakan nekrosis, hal ini menyatakan bahwa dosis 20% b/v dan 30% b/v memiliki pengaruh yang sama pada kerusakan degenerasi.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan persentase diatas data diuji normalitas dan homogenitas kemudian data di analisis menggunakan one way anova dengan taraf signifikansi 95%, dan didapatkan hasil signifikansi $< 0,05$ yang menyatakan bahwa ada perbedaan yang nyata antar perlakuan dan kelompok kontrol (Lampiran 4). Hal ini menandakan adanya pengaruh pada pemberian infusa Daun Afrika terhadap histopatologi hati mencit, sehingga hewan coba yang diberikan infusa Daun Afrika 10% b/v, 20% b/v, dan 30% b/v memiliki pengaruh terhadap sel hepatosit dengan meningkatnya persentase sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis.

Sebagian besar senyawa toksik memasuki tubuh melalui sistem pencernaan, setelah diserap, senyawa tersebut dibawa oleh vena porta ke hati. Hati mempunyai enzim-enzim sebagai tempat pengikatan dan memiliki kadar enzim sitokrom P450 untuk proses metabolisme senyawa toksik dalam jumlah yang tinggi. Hal tersebut menyebabkan sebagian besar senyawa toksik menjadi kurang toksik dan lebih mudah larut dalam air sehingga lebih mudah dieksresikan (Hernawati, 2012). Dalam penelitian ini dimungkinkan senyawa yang terkandung dalam infusa Daun Afrika yang masuk kedalam tubuh mengalami metabolisme sehingga terjadinya degradasi senyawa toksik oleh lisosom yang menyebabkan sel hepatosit mengalami kerusakan baik degenerasi ataupun nekrosis.

Faktor yang dapat mempengaruhi organ hati memiliki manifestasi toksik yang beragam, faktor nyatanya adalah dosis dan lamanya pajanan, faktor yang kurang nyata adalah

species dan strain hewan, jenis kelamin, umur, serta status gizi dan hormonal, faktor lain yang turut berperan yaitu faktor fisik, lingkungan dan social (Hernawati, 2012). Efek toksik suatu zat dapat dipengaruhi oleh zat kimia yang diberikan secara bersamaan sehingga pada penelitian ini dapat dinyatakan bahwa dosis dan lamanya pajanan kombinasi senyawa yang terkandung dalam infusa Daun Afrika dapat memberikan efek toksik pada histopatologi hati mencit galur BALB/C.

Mekanisme kerusakan sel hepatosit pada penelitian ini dapat terjadi akibat dari kandungan senyawa kimia dalam Daun Afrika yang dapat membentuk metabolit reaktif sehingga menimbulkan kerusakan sel hepatosit pada gambaran histopatologi setelah pemberian infusa Daun Afrika. Hal ini sesuai dengan pendapat Hodgson dan Cunny (2010) yang menyatakan bahwa Mekanisme kerusakan sel hepatosit diantaranya dipengaruhi oleh penghambatan enzim, kekurangan kofaktor atau metabolit, kekurangan pusat pembentukan energy (ATP), terjadinya interaksi dengan reseptor, meningkatnya kalsium dalam intraselular, pembentukan metabolit reaktif serta perubahan membrane sel.

Berdasarkan penelitian Athangwo (2010) ekstrak air Daun Afrika didominasi oleh metabolit sekunder polyphenol dan alkaloid, disamping itu juga mengandung glikosida, saponin, flavonoid, dan steroid. Diantara metabolit sekunder tersebut flavonoid memiliki peran terbesar karena dapat memberikan efek toksik seperti hasil penelitian Sundaryono (2012) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid diatas kadar 300 mg/Kg BB telah memberikan efek toksik dan teratogenik, mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dapat menyebabkan stress oksidatif yang akan merusak sel bahkan mengakibatkan kematian sel. Sedangkan menurut Hodgson dan Cunny (2010), Stress oksidatif ini terjadi akibat ketidakseimbangan kandungan antioksidan dalam sel sehingga antioksidan yang berlebih berinteraksi dengan makro molekul selular. Antioksidan yang telah bereaksi dengan makro molekul seluler akan menyebabkan kerusakan sel hingga kematian sel.

Senyawa polyphenol dalam Daun Afrika yang memiliki gugus hidroksi juga memiliki

peran besar dalam kerusakan sel hati. Menurut Thannickal dan Fanburg (2000) senyawa yang berasal dari alkohol akan mengalami proses detoksifikasi di hati dalam peroksisom melalui proses peroksidatif dengan bantuan enzim peroksisomal catalase dengan menggunakan H₂O₂. Sedangkan menurut Chamulitrat, dalam Hernawati (2012) Metabolisme alkohol ini dapat meningkatkan produksi radikal bebas sehingga reaksi antara alkohol dengan H₂O₂ dan radikal reaktif spesies yang lain akan menghasilkan radikal hidroksietil yang merupakan oksidan kuat. Radikal hidroksietil tersebut dapat mengoksidasi lipid dan protein sel hepar sehingga terjadi kerusakan jaringan hepar. Namun pada metabolit sekunder lainnya yang terkandung dalam Daun Afrika belum ada hasil penelitian yang menyatakan potensi toksisitasnya.

4.3 Analisis Halal Produk Infusa Daun Afrika

Infusa Daun Afrika yang digunakan pada penelitian ini dianalisis dan diperhatikan dalam segi kehalalan produk sesuai dengan prinsip penilaian sistem jaminan halal terhadap bahan dasar, proses pengolahannya, dan pendistribusian produk tersebut (LPPOM MUI, 2008). Berikut tabel hasil identifikasi kehalalan produk infusa Daun Afrika,

Tabel 2. Analisis Kehalalan Infusa Daun Afrika

Identifikasi		Hasil Kualifikasi	
		Halal	Haram
Bahan Dasar	Daun Afrika	v	
	Aquades	v	
Proses Produksi	Pemanasan	v	
	Gelas Kimia	v	
	Cawan Porselen	v	
	Kain Flannel	v	
	Panci Lapis Enamel	v	
Pendistribusian	Tidak terkontaminasi bahan haram	v	
Produk	Tidak tergolong produk haram	v	

5 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis ANOVA penelitian dapat disimpulkan bahwa Infusa

Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) berpengaruh terhadap histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) galur BALB/c. Kerusakan histopatologi hati meliputi, sel mengalami degenerasi pada dosis 10% b/v, 20% b/v, 30% b/v, sedangkan sel mengalami nekrosis pada dosis 20% b/v dan 30% b/v.

Daftar Pustaka

- Atangwho, I.J.; Ebong, P.E.; Egbung, G.E. dan Obi, A.U. (2010). Extract of *Vernonia amygdalina* Del. (African Bitter Leaf) can Reverse Pancreatic Cellular Lesion after Alloxan Damage in the Rat. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(5): 711-716.
- Bhara, Makna L.A. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari terhadap Gambaran Histologi Hati Tikus Wistar. (*Skripsi*). Semarang: FK Universitas Diponegoro.
- BPOM, 2010. *Acuan Sediaan Herbal Volume kelima*. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia.
- BPOM, 2005. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia tentang Kriteria dan Tatalaksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka pasal 1 ayat 3*. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia, (<http://sireka.pom.go.id/requirement/HK.00.05.41.1384-2005.pdf> diakses pada 17-09-2017 22:40).
- BPOM. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas secara In Vivo*. Jakarta: Menteri Hukum dan HAM.
- Depkes. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengembangan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Dipiro, J.T.; Talbert, R.L.; Yee, G.C.; Matzke, G.R.; Wells, B.G. dan Posey, L.M. (2008). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Ditjen Pen. 2014. *Obat Herbal Tradisional. Warta Ekspor Edisi September*, (http://djpen.kemendag.go.id/app_frontend/admin/docs/publication/4651421058307.pdf diakses pada 17-09-2017 23:14).

9. Eroschenko, Victor P. 2015. *Atlas Histologi di Fiero dengan Kolerasi Fungsional*. Jakarta: EGC.
10. Felicia. 2015. Efek Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*.Del) terhadap Kadar Glukosa Darah pada Mencit Swiss Webster Jantan, (*Skripsi*), Bandung: Universitas Kristen Maranatha.
11. Hodgson, E. and Cunny.H. 2010. *A Textbook of Modern Toxicology* 4th Edition Toxicity Testing.
12. Handayani, D.H.; Sudistuti. dan Sudrajat. (2016). Pengaruh Infusa Herbal Kulit Kayu Manis (*Cinnamonum burmanii*) dengan Buah Mahkota Dewa (*Phlareaia macrocapa* (Scheff) Boerl) dan Daun Teh Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap Kadar Gula Darah Mencit (*Mus musculus* L.) Diabetasi, (*Prosiding Seminar Sains dan Teknologi*) Samarinda: FMIPA Universitas Mulawarman.
13. Hernawati. 2012. *Gambaran Efek Toksik Etanol pada Sel Hati*. Bandung: Jurusan Pend. Biologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
14. Ijeh, I.I. dan Chukwunonso, E.C.C.E. (2010). Current Perspectives on The Medicinal Potentials of *Vernonia amygdalina* Del. *Journal of Medicinal Plant Research*. 5(7): 1051 – 1061.
15. Katsir, I. 2013. *Tafsir Ibnu Katsir*. (Kampungsunnah.org diakses pada 17-09-2017 21:00).
16. Kharimah, N.Z.; Lukmayani, Y, dan Syafnir, L. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*, Del). (*Prosiding Farmasi*) 2(2):703-709.
17. Khasanah, Z.; Munawwarah, F.A. (2017). *Keajaiban Metode Pengobatan Nabi (Thibbun Nabawi)*. (<http://www.konsultasi-herbal.com/2017/07/05/keajaiban-metode-pengobatan-nabi-thibbun-nabawi/> diakses pada 17-09-2017 22: 08).
18. Lindberg, M.R, Lamp L.W, 2017. *Diagnostic Pathology Normal Histology 2nd Edition*. Canada: Elsevier.
19. LPPOM MUI. 2008. *Panduan Umum Sistem Jaminan Halal LPPOM-MUI*. Jakarta: Direktur LPPOM MUI.
20. Lubis, M.I. 2015. Efek Inotropik dan Kronotropik Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*. Delile) Dalam Larutan Krebs-Henselet Dengan Dan Tanpa Kalsium Pada Isolat Jantung Tikus, (*Skripsi*). Medan: Universitas Sumatera Utara.
21. Putra, R.D. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Teh Afrika (*Vernonia amygdalina*. Del) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus, (*Tesis*). Makassar: Universitas Andalas.
22. Rhowe, P. 2012. *Pharmacokinetics*, (<http://www.bookboon.com>. diakses pada 02-04-2018 16:55) hal: 12.
23. Rofiqoh, A.D. 2015. Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Terhadap Kadar Bilirubin Serum Dan Histologi Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina. (*Skripsi*). Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
24. Sundaryono, A. 2012. Teratogenitas Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak Metanol Daun Benalu pada *Mus musculus*. *Jurnal exacta*. 7(2): 01-09.
25. Suryati, S.; Dillasamola, D. dan Rahadiantari, F. (2016). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Vernonia amygdalina*, Del terhadap Kadar Kreatinin Serum Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. Sumatera barat. 3(1):79-83.
26. Thannickal VJ, Fanburg, BL, 2000. Reactive oxygen specie in cell signalling. *AJP-Lung Cell and Mol Physiol*. 279:1005-1028.

