

**POTENSI HEPATOPROTEKTOR PROPOLIS TERHADAP HEPAR TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**
*(Hepatoprotective Potential of Propolis toward Hepar Injury Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by
Carbon Tetrachloride)*

Diah Krisnansari*, Hidayat Sulisty*, Wahyu Dwi Kusdaryantoi*

*Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan,
Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Gumbreg No. 1 / Jl. Medika Telp/Fax (0281) 622022,
Purwokerto, Jawa Tengah,
E-mail: krisnansari@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Prevalensi penyakit hepar kronis beserta dampaknya terus meningkat. Salah satu zat hepatotoksik yang berpotensi menyebabkan penyakit hepar kronis adalah karbon tetraklorida (CCl₄). CCl₄ menyebabkan kerusakan hepar melalui reaksi stress oksidatif dan mekanisme biokimia. Proses ini dapat dicegah dengan penggunaan propolis sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi potensi hepatoprotektor propolis terhadap hepar tikus putih (*Rattus Norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *pre-post test control study* menggunakan 0,054 gr dan 0,108 gr propolis. Penelitian menggunakan hewan coba 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar* berumur 12–16 minggu dengan berat badan 125–200 gr yang sehat. Tikus dikelompokkan menjadi lima kelompok. Kelompok I mendapatkan pakan standar + sonde aquadest, kelompok II mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde aquadest, kelompok III mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde propolis 0,054 gr, kelompok IV mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde propolis 0,108 gr dan kelompok V mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde sylimarin 50 mg/kg. Pada awal penelitian dilakukan pengukuran berat badan. Setelah 30 hari perlakuan, masing-masing kelompok dilakukan pengukuran berat badan, kadar interleukin-6 (IL-6), superoxide dismutase (SOD) dan pemeriksaan patologi anatomi hepar. Analisis IL-6 dan NAS score+fobrosis antar kelompok menggunakan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Mann Whitney* Analisis SOD antar kelompok menggunakan uji *One-Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD*. **Hasil:** Uji statistik menunjukkan ada perbedaan yang signifikan pada IL-6, SOD, dan skor NAS+fibrosis antar kelompok hewan coba. **Diskusi:** Hasil penelitian menunjukkan propolis 0,054 gr dan 0,108 gr menunjukkan aktivitas hepatoprotektif terhadap kerusakan hepar yang diinduksi CCl₄. Hasil penelitian juga dapat merekomendasikan propolis sebagai alternatif pencegahan proses fibrosis hepar. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut potensi propolis sebagai antioksidan dan hepatoprotektor perlu dilakukan ke pasien dengan penyakit hati.

Kata kunci: IL-6, SOD, fibrosis, propolis

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of chronic liver disease continues to increase. One potentially hepatotoxic substances that cause chronic liver disease is carbon tetrachloride. The process of liver damage can be prevented by the antioxidant role of propolis. The aims of this research was to study the hepatoprotective potential of propolis toward hepar injury rats induced by carbon tetrachloride. **Method:** This was an experimental study with *pre-post test*. Twenty five male *Wistar* rats aged 12–16 week old, weighing 125–200 gr were allocated into 5 groups. Group I: standard meal + aquadest-gavage; group II: standard meal + CCl₄ 1% 1 mL + aquadest-gavage, group III: standard meal + CCl₄ 1% 1 mL + 0,054 gr propolis-gavage, group IV: standard meal + CCl₄ 1% 1 mL + 0,108 gr propolis-gavage and group V: standard meal + CCl₄ 1% 1 mL + sylimarin 50 mg/kg-gavage. IL-6, SOD, NAS score+fibrotic were measured after treatment. Analysed of IL-6 and NAS score+fibrotic with *Kruskal Wallis* to *Mann Whitney* and analysed of SOD with *One-Way ANOVA* to *LSD*. **Results:** The study showed that there were significant differences in IL-6, SOD and NAS score + fibrotic between groups. **Discussion:** Provision of 0,054 gr and 0,108 gr have hepatoprotective potential toward hepar injury rats induced by carbon tetrachloride. Further research need to identify antioxidants and hepatoprotective potential of propolis on human with liver disease.

Keywords: IL-6, SOD, fibrotic, propolis

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit hepar kronis beserta dampaknya terus meningkat. Penyakit hepar

merupakan masalah kesehatan dunia bahkan lebih dari 350 juta jiwa penduduk dunia menderita hepatitis kronik (Park *et al.*, 2010).

Kejadian penyakit hepar sering dikaitkan dengan angka morbiditas dan kerugian ekonomi yang besar (Jules, 2008). Penyakit hepar kronis merupakan penyebab kematian terbesar ketiga setelah penyakit kardiovaskuler dan kanker pada pasien yang berusia 45–46 tahun di negara maju. Di seluruh dunia penyakit hepar kronis menempati urutan ke tujuh penyebab kematian. Sekitar 25.000 orang meninggal setiap tahun akibat penyakit hepar kronis (Chung & Podolsky, 2004). Mortalitas penyakit hepar (hepatitis B dan C, sirosis hepar, kanker hepar) di Indonesia tahun 2003–2004 adalah 46.300 jiwa, lebih tinggi dari Malaysia yaitu 4.500 jiwa (WHO, 2009).

Indonesia merupakan negara dengan penderita hepatitis terbanyak urutan ketiga setelah India dan Cina. Sekitar 5–7,5 juta penduduk Indonesia terkena infeksi kronik HCV (Depkes, 2007). Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2010) menyebutkan bahwa sekitar 130 juta orang menderita hepatitis B dan 7 juta orang menderita hepatitis C, 50% berpotensi menderita hepatitis kronik dan 10% berpotensi menderita sirosis hepar dan kanker hepar.

Hepar adalah organ sentral dalam metabolisme tubuh dan penting untuk pertahanan hidup, baik berupa perlindungan, detoksifikasi maupun metabolisme. (Price, 2005). Hepar adalah organ pertama setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh bahan-bahan yang bersifat toksik, sehingga sangat potensial mengalami kerusakan sehingga dapat mengakibatkan peradangan sel-sel hepar (hepatitis) ataupun kematian sel (nekrosis) (Robins & Kumar, 1995). Kerusakan pada hepar juga akan menyebabkan terganggunya metabolisme di dalam tubuh, sehingga terjadilah gangguan homeostasis (Price, 2005).

Etiologi penyakit hepar kronis yang banyak terjadi di Asia antara lain virus hepatotropik dan nonhepatotropik, reaktivasi hepatitis B atau C, agen infeksius yang berkembang di hepar, alkohol, penggunaan obat hepatotoksik, hepatitis autoimun (Wilson's disease) dan intervensi bedah serta etiologi hepatotoksik yang belum diketahui (Sarin, *et al.*, 2009). Salah satu zat hepatotoksik yang

berpotensi menyebabkan penyakit hepar kronis adalah karbon tetraklorida (CCl₄).

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan salah satu zat hepatotoksik yang dapat menghasilkan radikal bebas yang dapat tertimbun dalam lemak tubuh, hepar dan sumsum tulang belakang. CCl₄ menyebabkan kerusakan hepar melalui reaksi stres oksidatif dan mekanisme biokimia (Monika, 2012). Proses kerusakan hepar akibat induksi karbon tetraklorida dapat dicegah dengan peran antioksidan (Tjok & Wibawa, 2012).

Pengobatan penyakit hepar masih terbatas efikasi dan sulit dijalankan (Lee *et al.*, 2007). Penderita penyakit hepar sering kali melakukan pengobatan ketika kondisinya kronis. Tidak ada pengobatan standar untuk fibrosis hepar. Oleh sebab itu, perlu adanya pengobatan alternatif sebagai upaya preventif dan atau kuratif penyakit hepar (Seeff *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2007).

Penelitian tentang nutrisi yang digunakan untuk obat penyakit hepar telah banyak dilakukan baik yang dapat mencegah, memproteksi dan memperbaiki penyakit hepar. Nutrisi yang dapat digunakan sebagai obat penyakit hepar adalah yang memiliki efek antioksidan. Antioksidan menghambat aktivasi *hepatic stellate cells* (HSC), mencegah apoptosis hepatosit dan mengurangi fibrosis hepar eksperimental (Oeij, 2012; Tjok dan Wibawa, 2012). Obat herbal sudah dipertimbangkan sebagai salah satu alternatif pengobatan terhadap berbagai penyakit (Tasduq *et al.*, 2005). Antioksidan yang terkandung dalam obat herbal dapat digunakan sebagai terapi pada penyakit hepar melalui mekanisme pertahanan dari radikal bebas, ROS dan proses inflamasi (Vitaglione, Morisco, Caporaso, dan Fogliano, 2004). Propolis telah digunakan secara luas di dunia. Propolis mengandung antioksidan dan mempunyai efek anti inflamasi, immunoregulator, bakteriostatik dan bakterisid (Ansorge, Reinhold, dan Lendeckel, 2003; Tsai *et al.*, 2009). Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai potensi hepatoprotektor propolis sebagai antioksidan yang diharapkan dapat mengobati penyakit hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi hepatoprotektor propolis

terhadap hepar tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di 3 laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan (FKIK) Universitas Diponegoro Semarang. Laboratorium Farmakologi digunakan untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba, Laboratorium Biokimia digunakan untuk pemeriksaan laboratorium Interleukin-6 (IL-6) dan Superoxide Dismutase (SOD), dan Laboratorium Patologi Anatomi digunakan untuk pemeriksaan mikroskopik patologi anatomi hepar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *pre-post test control study* menggunakan 0,054 gr dan 0,108 gr propolis yang dapat mencegah terjadinya perlemakan hati (Krisnansari, Sulisty, dan Ati, 2012).

Penelitian ini menggunakan hewan coba 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Wistar* berumur 12-16 minggu yang sehat. Hewan coba ditimbang kemudian dipilih tikus dengan berat antara 200-250 gram kemudian diadaptasikan/diaklimatisasi selama 10 hari sebelum penelitian. Semua hewan coba ditempatkan dalam kandang yang terbuat dari bahan yang sama yaitu kandang terbuat dari kaca diberi alas jerami, dipelihara dalam lingkungan dengan suhu dan kelembaban yang sama, mendapat pencahayaan alami, kelembapan dan minuman hewan coba juga sama. Selama masa aklimatisasi, hewan coba diberi asupan makanan standar dan air yang cukup. Seluruh hewan coba kemudian dikelompokkan secara random menjadi lima kelompok di mana setiap kelompok terdiri dari lima ekor hewan coba. Hewan coba dengan berat badan lima terendah dibagi menjadi lima kelompok secara acak dengan diberi nomor I.a, II.a, III.a, IV.a, V.a. Hewan coba dengan berat badan sedang dibagi menjadi lima kelompok secara acak dan diberi nomor I.b, I.c, I.d, II.b, II.c, II.d, III.b, III.c, III.d, IV.b, IV.c, IV.d, V.b, V.c, V.d. Hewan coba dengan berat badan lima tertinggi dibagi menjadi lima kelompok secara acak dan diberi nomor I.e, II.e, III.e, IV.e, V.e.

Masing-masing kelompok mendapat perlakuan sesuai jadwal selama 30 hari. Kelompok I mendapatkan pakan standar + sonde aquadest. Kelompok II mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde aquadest. Kelompok III mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde propolis 0,054 gr. Kelompok IV mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde propolis 0,108 gr. Kelompok V mendapatkan pakan standar + induksi carbon tetrachlorida 1% 1 mL + sonde sylimarini 50 mg/kg.

Pada awal penelitian dilakukan pengukuran berat badan. Setelah 30 hari perlakuan, masing-masing kelompok dilakukan pengukuran berat badan, kadar interleukin-6 (IL-6), superoxide dismutase (SOD) dan pemeriksaan patologi anatomi hepar.

Analisis IL-6 dan NAS *score*+fibrosis antar kelompok menggunakan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Mann Whitney*. Analisis SOD antar kelompok menggunakan uji One-Way ANOVA yang dilanjutkan dengan *Post Hoc Least Significant Difference* (LSD). Uji statistik dilakukan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). (Sopiyudin, 2008). Pemeriksaan patologi anatomi hepar untuk mengetahui steatosis, balloning, inflamasi dan fibrosis hepar antar kelompok.

HASIL

Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan adanya perbedaan signifikan IL-6 antar kelompok ($p = 0,000$). Uji *post hoc* IL-6 dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan IL-6 antar semua kelompok (Tabel 1).

Uji ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan signifikan SOD antar kelompok ($p = 0,000$). Uji *post hoc* LSD menunjukkan perbedaan signifikan SOD pada kelompok I dan II, I dan III, II dan IV, II dan V, III dan IV, III dan V (Tabel 2).

Berdasarkan rerata NAS *score*+fibrosis tiap kelompok hewan coba didapatkan seperti pada Tabel 3.

Uji *Kruskal-Wallis* untuk NAS *score*+fibrosis menunjukkan adanya perbedaan

yang bermakna pada steatosis ($p=0,001$), ballooning ($p=0,004$), inflamasi ($p=0,001$) dan fibrosis ($p=0,006$) antar kelompok. Uji post hoc *Mann-Whitney* didapatkan steatosis, ballooning, inflamasi dan fibrosis (Tabel 4).

Pemeriksaan patologi anatomi hepar diamati berdasarkan pengamatan lapang pandang secara acak. Pengamatan mikroskopis hanya mampu melihat kerusakan hepar berupa degenerasi dan nekrosis (Romzah 2005).

Tabel 1. Karakteristik rerata IL-6 tiap kelompok

Kelompok	IL-6			
	Min	Maks	Mean	SD
I	0,62	0,75	0,68	0,05
II	2,70	3,11	2,94	0,16
III	0,86	1,01	0,95	0,07
IV	0,70	0,88	0,78	0,07
V	0,98	1,15	1,07	0,06

Tabel 2. Karakteristik rerata SOD tiap kelompok

Kelompok	SOD			
	Min	Maks	Mean	SD
I	88,20	111,40	98,74	8,74
II	58	71	64,98	5,89
III	64,50	83,00	74,12	7,63
IV	74,50	112,00	94,24	14,16
V	84,50	126,70	100,96	18,50

Tabel 3. Rerata NAS score dan fibrosis

No	Klpg	Steatosis	Ballooning	Inflamasi	Fibrosis
1	I	0	0	0	0
2	II	1,6	1,4	1,6	2,6
3	III	2	2,2	2	2,4
4	IV	2,2	2,2	2	2,4
5	V	2,8	2,2	2,8	2,8

Keterangan:

0-2 : Not diagnostic of NASH (negatif)

3-4 : borderline

5 - 8 : NASH (positif)

Fibrosis Staging

Stage I: Zone 3 perivenular perisinusoidal / pericellular fibrosis, focal or extensive

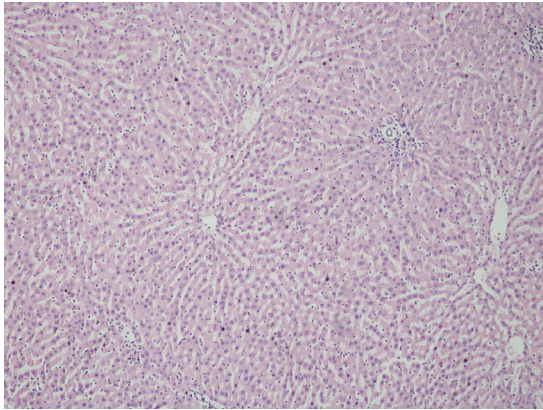
Stage II: As above with focal or extensive periportal fibrosis

Stage III: Bridging fibrosis, focal or extensive

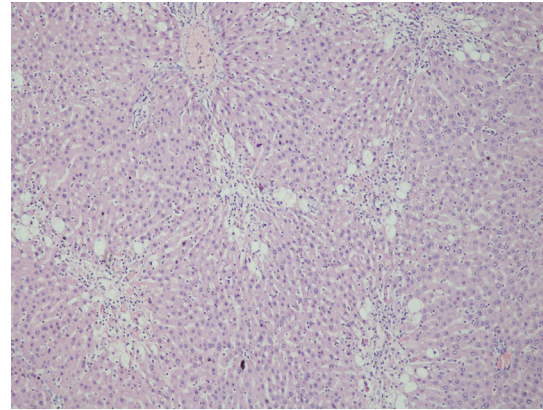
Stage IV: Cirrhosis

Tabel 4. Hasil uji post hoc steatosis, ballooning, inflamasi dan fibrosis

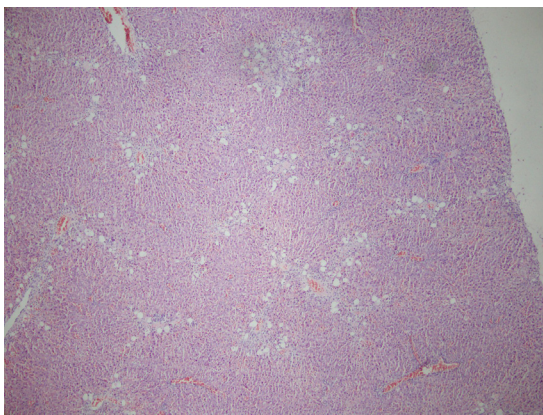
Kelompok	Kelompok	p steatosis	p ballooning	p inflamasi	p fibrosis
I	II	0,005	0,005	0,005	0,005
	III	0,003	0,005	0,003	0,005
	IV	0,005	0,005	0,005	0,005
	V	0,004	0,004	0,004	0,004
II	III	0,134	0,118	0,134	0,549
	IV	0,212	0,118	0,339	0,549
	V	0,014	0,042	0,014	0,513
III	IV	0,519	1,000	1,000	1,000
	V	0,014	0,905	0,014	0,221
IV	V	0,189	0,905	0,065	0,221



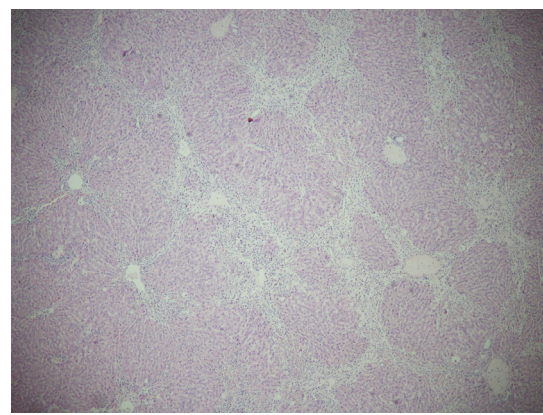
Gambar 1. Gambaran hepar hewan coba kelompok I.



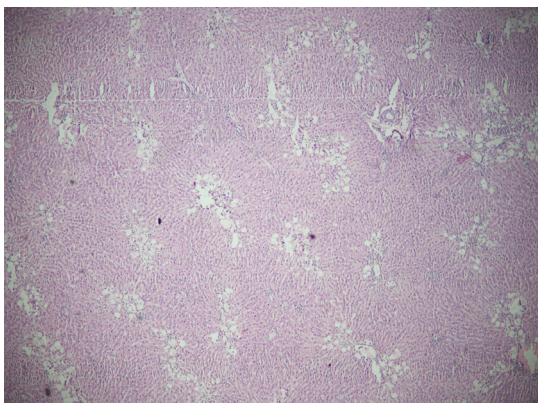
Gambar 4. Gambaran hepar hewan coba kelompok IV.



Gambar 2. Gambaran hepar hewan coba kelompok II.



Gambar 5. Gambaran hepar hewan coba kelompok V.



Gambar 3. Gambaran hepar hewan coba kelompok III.

Gambar 2 menunjukkan adanya kerusakan hepar berupa steatosis, lobular inflamasi, ballooning hepatosit, fibrosis dan bridging fibrosis pada hewan coba kelompok II.

Gambar 3 menunjukkan masih adanya beberapa kerusakan hepar, berupa steatosis, lobular inflamasi, ballooning hepatosit, fibrosis tidak terlihat bridging fibrosis pada hewan coba kelompok III.

Gambar 4 menunjukkan kerusakan hepar masih terlihat, berupa steatosis, lobular inflamasi, ballooning hepatosit, fibrosis tidak terlihat bridging fibrosis dan bridging fibrosis.

Gambar 5 menunjukkan adanya kerusakan hepar yang lebih jelek pada hewan coba kelompok V dibandingkan kelompok lainnya, berupa steatosis, lobular inflamasi, ballooning hepatosit, fibrosis dan bridging

Gambar berikut merupakan hasil perbandingan gambaran hepatosit tiap kelompok setelah perlakuan.

Gambar 1 menunjukkan struktur hepar normal dan tidak tampak adanya kerusakan hepar pada hewan coba kelompok I.

fibrosis, terlihat peningkatan jaringan ikat fibrous, dan gambaran bridging fibrosis lebih terlihat jelas.

PEMBAHASAN

Berdasarkan Tabel 1 didapatkan hasil pemeriksaan rerata IL-6 tertinggi pada kelompok II dan rerata IL-6 terendah pada kelompok I, sedangkan untuk rerata SOD tertinggi pada kelompok V dan rerata SOD terendah pada kelompok II. Adanya kerusakan hepar akan meningkatkan IL-6 dan menurunkan SOD. Pada kelompok II mendapatkan paparan CCl₄ tanpa adanya perlindungan antioksidan propolis maupun silymarin, didapatkan bahwa hepar hewan coba mengalami kerusakan yang lebih berat dibandingkan dengan kelompok yang tidak terpapar CCl₄ dan kelompok yang terpapar CCl₄ yang mendapatkan propolis atau silymarin. Propolis 0,054 gr dan 0,108 gr dapat melindungi kerusakan hepar dari paparan bahan toksik. Analisis statistik juga menunjukkan perbedaan signifikan IL-6 dan SOD antar kelompok.

Kerusakan hepar karena reaksi oksidasi dikatalisis oleh sitokrom P450 (CYP) 2E1, 4A10 dan 4A14 (Alvina, 2010). Sitokrom CYP2E1 mengkatalisis metabolisme CCl₄ di retikulum endoplasma menjadi radikal bebas yaitu, trichloromethyl (CCl₃) (Tsai *et al.*, 2009; Siwi, 2012). CCl₃ bereaksi dengan senyawa sulfidril, seperti glutathion dan protein, serta asam lemak tidak jenuh sehingga menyebabkan abnormal fungsi protein, peroksidasi lipid, kerusakan mitokondria dan nukleus (Siwi, 2012). Reaksi dengan glutathion mampu memperburuk stress oksidatif (Ferreira *et al.*, 2010). Hal ini pada akhirnya menyebabkan gangguan fungsi hepatosit dan nekrosis sel. CCl₄ menyebabkan hepatosit rusak dan dapat mengaktifasi sistem imun. Hepatosit yang rusak melepaskan ROS dan mediator fibrogenik serta menginduksi perekrutan sel darah putih oleh sel inflamasi (Tjok & Wibawa, 2012). Sel kupffer yang teraktivasi dapat menghasilkan ROS dan sitokin yang memperparah keadaan inflamasi (Kim *et al.*, 2011).

Penelitian ini menunjukkan paparan CCl₄ pada hewan coba dapat menyebabkan fibrosis hepar. Respon hepar hewan coba terhadap paparan kronik CCl₄ hampir sama dengan hepar penderita cirrosis hepatis (Fu, *et al.*, 2008). Metabolisme CCl₄ di hepar menstimulasi dihasilkannya peroksidasi lipid dan menghasilkan radikal bebas yang menyebabkan nekrosis sel hepatosit dan menyebabkan inflamasi (Basu, 2003). Inflamasi berhubungan dengan fibrosis hepar dan proinflamasi IL-6 akan meningkat. Konsentrasi IL-6 juga meningkat pada penderita cirrhosis hepatis karena alkohol. IL-6 menginduksi inflamasi hepar dan sintesis kolagen *in vivo*. IL-6 diproduksi oleh sel stelata hepatosit yang teraktivasi yang memfasilitasi produksi matriks ekstraseluler termasuk kolagen tipe I, yang menyebabkan fibrosis hepar (Fu, *et al.*, 2008).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa propolis secara signifikan menurunkan konsentrasi serum IL-6 pada hewan coba yang mendapat paparan CCl₄. Penelitian Linawati dan Bagiada (2008) juga menunjukkan pemberian propolis 10 mg/ml dapat meningkatkan aktivitas makrofag dengan meningkatkan sekresi interleukin 12 (IL-12) pada kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Stres oksidatif sangat erat kaitannya dengan fibrosis hepar. Peroksidasi lipid dan nekrosis secara signifikan ditekan dengan suplementasi antioksidan seperti flavonoid, silymarin, atau vitamin E. Hasil penelitian ini menunjukkan suplementasi propolis 0,054 gr dan 0,108 gr dapat menekan aktivitas enzim antioksidan SOD. SOD melindungi sel stelata hepatosit dari cedera yang disebabkan paparan CCl₄ dan fibrosis dengan menurunkan stress oksidatif. Penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian Monika (2012) yang menunjukkan bahwa suplementasi propolis 200 mg/kg selama 14 hari dapat menekan aktifitas glutathion oksidase dan katalase hepar tikus yang mendapat induksi CCl₄ 0,15 mL/kg selama 12 minggu. Selain itu, hasil penelitian menunjukkan efek hepatoprotektor propolis memiliki derajat hampir sama dengan

silymarin. Penelitian Ismail, Aksu dan Seven (2010) juga menunjukkan suplementasi propolis 1 g/kg selama 42 hari pada ayam pedaging yang mendapat paparan 220 ppm Pb dapat menurunkan aktivitas SOD.

Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada steatosis, *balloning*, inflamasi dan fibrosis antar kelompok. Uji ini dilanjutkan dengan uji *post hoc* yang menunjukkan adanya perbedaan steatosis pada kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, I dan V, II dan V, dan kelompok III dan V. Selain itu, diperoleh perbedaan yang bermakna pada *balloning* antara kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, I dan V, dan kelompok II dan V. Perbedaan inflamasi terjadi pada kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, I dan V, II dan V, III dan V. Perbedaan fibrosis terjadi pada kelompok I dan II, I dan III, I dan IV, I dan V.

Nekrosis sentrilobular terjadi tiga sampai dua belas jam setelah paparan CCl₄. Kerusakan awal terjadi pada membran sel. Namun bukan akibat metabolit CCl₄. CCl₄ melarutkan membran lipid sel yang menyebabkan membran lebih permeabel. Peningkatan permeabilitas membran sel menyebabkan peningkatan kehilangan ion kalium dan enzim aspartat aminotransferase (AST) serta akumulasi ion kalsium dan air intrasel sehingga mengakibatkan sel membengkak dan nekrosis. Toksisitas lanjutan disebabkan oleh metabolit CCl₄ yang bergantung pada sitokrom CYP2E1. Aktivasi sitokrom ini lebih lanjut menyebabkan kaskade fibrosis hepar (Luo *et al.*, 2004). Nekrosis sel hepatosit tersebut berlangsung terus menerus mengakibatkan fibrosis. Fibrosis ini irreversibel sehingga proteksi terjadinya fibrosis sangat penting. Salah satu yang dapat mengurangi kejadian fibrosis adalah dengan peran antioksidan.

Antioksidan propolis menghambat aktivasi *hepatic stellate cells* (HSC), mencegah apoptosis hepatosit dan mengurangi fibrosis hepar eksperimental. Propolis juga sebagai immunoregulator yang dapat meningkatkan status imunitas sehingga dapat melindungi sel hepar dari kerusakan dengan menekan aktivitas sel kupffer dalam menghasilkan

ROS dan sitokin yang memperparah keadaan inflamasi (Ansorge, Reinhold, dan Lendeckel, 2003). Hal ini tampak pada gambaran hepar kelompok III dan IV di mana proses inflamasi dan fibrosis berkurang dibandingkan dengan kelompok II dan V.

Sylimarin merupakan komponen β avonoid alami dari tumbuhan berduri *Silybum marianum* telah dikenal sebagai terapi anti fibrotik potensial. Senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan dan dapat mengurangi kerusakan hepar dengan sitoproteksi dan inhibisi fungsi sel Kupffer. Uji coba pada pasien sirosis menunjukkan adanya sedikit kelebihan dalam hal *survival* pada pasien sirosis alkoholik dengan penyakit Child-Pugh A. Namun penelitian dengan melibatkan responden lebih besar dan kontrol sedang dijalankan untuk menilai efikasi sylimarin secara definitif (Myers, 2008).

Ekstrak propolis berair (APE) dilaporkan dapat melindungi hepar tikus terhadap cedera karbon tetraklorida (CCl₄) melalui penurunan kebocoran sitosol enzim laktat dehidrogenase (LDH), penurunan peroksida lipid dan pemeliharaan seluler konten glutathion tereduksi (GSH) (Aiman *et al.*, 2002). Senyawa utama propolis –tecto-chrysin-- mempunyai potensi antioksidan yang poten. Tecto-chrysin secara signifikan dapat menurunkan aktivitas transaminase serum yang meningkat akibat kerusakan hepar yang diinduksi oleh CCl₄ pada tikus. Tecto-chrysin meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti hepar dismutase superoksida sitosol, katalase, dan glutathion peroksidase pada tikus yang diinduksi CCl₄ serta penurunan yang signifikan produksi MDA (Lee *et al.*, 2007).

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa propolis 0,054 gr dan 0,108 gr menunjukkan aktivitas hepatoprotektif terhadap kerusakan hepar yang diinduksi CCl₄ yang ditunjukkan dengan menurunnya IL-6 dan SOD dan persentase kerusakan sel hepar yang lebih rendah. Hasil penelitian juga dapat merekomendasikan propolis sebagai alternatif pencegahan proses fibrosis hepar. Oleh karena

itu perlu penelitian lebih lanjut potensi propolis sebagai antioksidan dan hepatoprotektor perlu dilakukan ke pasien dengan penyakit hepar.

KEPUSTAKAAN

- Alvina, 2010. Type IV Collagen As Marker Of Fibrosis In Nonalcoholic Liver Disease. *Universa Medicina*, May-August, 29(2).
- Ansorge, S., Reinhold, D., and Lendeckel, U., 2003. Propolis And Some Of Its Constituents Down-Regulate DNA Synthesis And Inflammatory Cytokine Production But Induce TGF- β 1 Production of Human Immune Cells. *Zeitschrift für Naturforschung. Section C*, 58 (7–8), 580–589.
- Basu, S., 2003. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189, 113–127
- Chung, R.T., and Podolsky, D.K. 2004. *Cirrhosis and Its Complications*. In Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th Edition. New York: McGraw-Hill.
- Depkes, RI., 2007. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Depkes RI.
- El-Khatib, A.S., Agha, A.M., Mahran, L.G., dan Khayyal, M.T., 2002. Prophylactic Effect of Aqueous Propolis Extract against Acute Experimental Hepatotoxicity *in vivo*. *Z. Naturforsch*, 57c, 379–385.
- Ferreira, E. A., Gris, E. F., Felipe, K. B., Correia, J. F., Cargnin-Ferreira, E., Filho, D. W., et al. 2010. Potent Hepatoprotective Effect in CCl₄-Induced Hepatic Injury in Mice of Phyloroacetophenone from *Myrcia mutiflora*. *Libyan Journal Medical*. 4891 (5), 1–10.
- Fu, Y., Zheng, S., Lin, J., Ryerse, J., and Chen, A., 2008. Curcumin Protects the Rat Liver from CCl₄-Caused Injury and Fibrogenesis by Attenuating Oxidative Stress and Suppressing Inflammation. *The American society for pharmacology and experimental therapeutics mol pharmacol*, 73(2), 399–409.
- Ismail, S., Aksu, T and Seven, P.T., 2010. The effects of propolis on biochemical parameters and activity of antioxidant enzymes in broilers exposed to lead-induced oxidative stress. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23 (11), 1482–1489.
- Jules, D., 2008. *Chronic hepatitis*. In: *harrison's principles of internal medicine seventeenth edition*. New York: McGraw Hill.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. Hepatitis masalah kesehatan dunia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, H.-Y., Park, J., Lee, K.-H., Lee, D.-U., Kwak, J.-H., Kim, Y. S., et al. 2011. Ferulic acid protects against ccl₄-liver injury in mice. *Toxicology*, 104–111
- Krisnansari, D., Sulisty, H., Ati, V.R.B., 2012. Efek propolis terhadap fungsi dan perlemakan hati tikus putih (*rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia. Penelitian tidak dipublikasikan. Purwokerto: FKIK Universitas Jenderal Soedirman.
- Lee, C.H., Park, S.W., Kim, Y. S., Kang, S. S., Kim, J. A., Lee, S. H., et al. 2007. Protective mechanism of glycyrrhizin on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. *Biology Pharmacology Bulletin*, 30 (10), 1898–1904.
- Linawati, M., dan Bagiada, M. 2008. *Pengaruh propolis terhadap sekresi interleukin-12 pada supernatan kultur makrofag dari penderita tuberkulosis paru yang diinfeksi mycobacterium tuberculosis*. Penelitian tidak dipublikasikan.
- Luo, Y.-J., Yu, J.-P., Shi, Z.-H., dan Wang, L. 2004. Ginkgo biloba extract reverses CCl₄-Induced liver fibrosis in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 10 (7), 1037–1042.
- Monika, B., 2012. Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbon tetrachloride. hindawi publishing corporation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2012, Article ID 235358, 12 pages. doi:10.1155/2012/235358.
- Myers, RP. 2008. Non-invasive markers of liver fibrosis: playing the probabilities. *Liver International*, 56,1328-31.
- Oeij, A.A., 2012. Fibrosis Hati. *JKM*, 8 (2), 198–210.

- Park, C. M., Cha, Y. S., Youn, H. J., Cho, C. W., dan Song, Y.S., 2010. Amelioration of Oxidative Stress by Dandelion Extract through CYP2E1 Suppression against Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Sprague-dawley Rats. *Phytotherapy Research*, 24 (9), 1347–1353
- Price, S. A., 2005. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*. Volume 1. Jakarta: EGC.
- Robins and Kumar. 1995. *Buku ajar patologi II*. Jakarta: EGC.
- Sarin, S.K., Ashish, K., John, A.A., Yogesh, K.C., Sheung, TF., Hitendra, GH., Janaka, DS., Saeed, SH., Rajiv, J., Piyawat, K., George, KL., Qing, L., Kaushal, M., Rosmawati, M., Qin, N., Salimur, R., Archana, Rastogi, Stephen, M.R., Puja, S., Didier, S., Samir, S., Barjesh, CS. 2009. Acute-on-chronic liver failure: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for The Study of The Liver (APASL). *Hepatology International*, 3, 269–82
- Seeff, L. B., Lindsay, K. L., Bacon, B. R., Kresina, T. F., dan Hoofnagle, J. H. 2001. Complementary and alternative medicine in chronic liver disease. *Hepatology*, 34 (3), 595–603.
- Siwi, A.C., 2012. *Pengaruh pemberian kafein terhadap skor aktivitas histologi hati tikus yang diinduksi karbon tetraklorida (ccl4)*. Penelitian tidak dipublikasikan.
- Tasduq, S. A., Kaiser, P., Gupta, D.K. et al. 2005. Protective Effect of A 50% Hydroalcoholic Fruit Extract Of *Emblica Officinalis* Against Anti-Tuberculosis Drugs Induced Liver Toxicity. *Phytotherapy Research*, 19 (3), 193–197.
- Tjok, I.A.S., and Wibawa, I.D.N., 2012. *Pendekatan diagnosis dan terapi fibrosis hati*. Denpasar: Bagian/SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Universitas Udayana/RS Sanglah,
- Tsai, C.-F., Hsu, Y.-W., Chen, W.-K., Chang, W.-H., Yen, c.-C., Ho, Y.-C., et al. 2009. Hepatoprotective Effect of Electrolyzed Reduced Water Against Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage in Mice. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2031–2036.
- Vitaglione, P., Morisco, F., Caporaso, N., and Fogliano, V., 2004. Dietary antioxidant compounds and liver health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (7–8), 575–586.
- World Health Organization. 2009. *Table 2 Estimated Total Death ('000), by Cause and WHO Member State, 2004 (a,m)*. Department of Measurement and Health Information, Geneva.