

NASKAH PUBLIKASI

UJI TOKSISITAS AKUT

INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.)

TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR

TIKUS GALUR WISTAR



Riko Kuswara
I11112068

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

2015

**LEMBAR PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**UJI TOKSISITAS AKUT
INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.)
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS GALUR WISTAR**

Tanggung Jawab Yuridis Material Pada

Riko Kuswara
I11112068

Disetujui oleh

Pembimbing Utama



dr. Heru Fajar Trianto, M. Biomed
NIP. 198410132009121005

Pembimbing Kedua



dr. Sari Eka Pratiwi
NIP. 198707012014042001

Penguji Utama



dr. Nawangsari, M. Biomed
NIP. 198105102008012017

Penguji Kedua



dr. M In'am Ilmiawan, M. Biomed
NIP. 197910182006041002

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura



dr. Arif Wicaksono, M. Biomed
NIP. 198310302008121002

UJI TOKSISITAS AKUT INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS GALUR WISTAR

Riko Kuswara¹; Heru Fajar Trianto²; Sari Eka Pratiwi³

Intisari

Latar Belakang: Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan tanaman obat herbal yang dikenal masyarakat Indonesia sebagai bumbu masakan yang banyak digunakan pada beberapa masakan dan dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pencegahan terjadinya dislipidemia, antiinflamasi, antidiabetes, antidiare, dan antihipertensi. Belum ada penelitian yang mengatakan bahwa infusa daun salam berlebih dapat merusak berbagai organ termasuk hepar. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus galur wistar. **Metodologi:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design*. Subjek penelitian adalah 25 ekor tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol (aquadest), kelompok perlakuan 1 (infusa daun salam 33,6 mg/kgBB), kelompok perlakuan 2 (infusa daun salam 67,2 mg/kgBB), kelompok perlakuan 3 (infusa daun salam 134,4 mg/kgBB dan kelompok perlakuan 4 (infusa daun salam 268,8 mg/kgBB). Masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Pada setiap kelompok perlakuan diberikan infusa daun salam secara peroral. Pada hari ke 8 dilakukan pengambilan organ hepar dan membuat preparat histologi dengan pewarnaan H&E dan diamati sel hepatosit pada perbesaran lensa objektif 40x. Data dianalisa menggunakan uji *one-way anova*. **Hasil:** Tidak ditemukan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik, degenerasi lemak dan nekrosis. **Kesimpulan:** Infusa daun salam dosis toksik tidak menimbulkan kerusakan hepar.

Kata kunci: Daun salam, hepar, uji toksisitas

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
 - 2) Departemen Histologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
 - 3) Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.

ACUTE TOXICITY TEST BAY LEAVES INFUSE (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) TO THE OVERVIEW OF LIVER HISTOPATHOLOGY ON WISTAR RAT'S

Riko Kuswara¹; Heru Fajar Trianto²; Sari Eka Pratiwi³

Abstract

Background: Bay leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) is a herbal medicinal plants known by Indonesian society as a cooking spice found in some cuisine and can be used as an alternative to prevent dyslipidemia, antiinflammatory, antidiabetic, antidiarrheal, and antihypertensive. No studies said that excessive consumption of bay leaves infuse can damage various organs, including the liver. **Objective:** The aim of this research is to find out the effect of toxic dose of bay leaves infuse to the liver histopathology on wistar rat's. **Method:** This research is an experimental research with posttest only control group design. The subjects of this research were twenty male wistar rats divided to five groups; control group (aquadest), experimental group 1 (bay leaves infuse 33,6 mg/kgBW), experimental group 2 (bay leaves infuse 67,2 mg/kgBW), experimental group 3 (bay leaves infuse 134,4 mg/kgBW) and experimental group 4 (bay leaves infuse 268,8 mg/kgBW). Each group consists of five rats. All of experimental group were given bay leaves infuse per orally. On the eighth day, livers are taken on all groups sample and processed into histological stained with H&E to evaluate the hepatocytes observed with 40x objective lens magnification. The data were analyzed using one-way anova. **Result:** No hepatocytes finds that undergo hydropic degeneration, fatty degeneration and necrosis. **Conclusion:** bay leaves infuse toxic dose does not cause liver damage. **Keywords:** Bay leaves, liver, toxicity test

-
- 1) Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak, West Borneo.
 - 2) Department of Histology, Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak, West Borneo.
 - 3) Department of Biology and Patobiology, Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak, West Borneo.

PENDAHULUAN

Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan tanaman obat herbal yang dikenal masyarakat Indonesia sebagai bumbu masakan yang penggunaannya banyak ditemukan pada setiap masakan. Daun salam memiliki khasiat yang besar dalam dunia kesehatan. Tumbuhan herbal ini dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pencegahan terjadinya dislipidemia, antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antidiare, dan antihipertensi.¹ Kandungan kimia yang terdapat dalam daun salam adalah saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri yang terdiri dari sesquiterpen, lakton dan fenol.² Selain itu, daun salam juga mengandung selenium, vitamin A, vitamin C, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan daun salam yang dapat menurunkan kadar kolesterol darah adalah tanin, saponin, dan niacin.³⁻⁴

Tingkat kerusakan yang disebabkan oleh penggunaan obat tradisional dapat dinilai dengan uji toksisitas. Toksisitas merupakan kemampuan zat kimia dalam menimbulkan kerusakan pada organisme baik saat digunakan atau saat berada di lingkungan. Uji toksisitas terdiri dari uji toksisitas akut, uji toksisitas subakut dan uji toksisitas kronik. Uji toksisitas yang pertama kali dilakukan adalah toksisitas akut. Toksisitas akut melibatkan efek berbahaya pada suatu organisme melalui paparan jangka pendek. Dalam pengukuran toksisitas akut umumnya menggunakan parameter pengukuran *Lethal Doses* 50 (LD₅₀) dan gambaran histopatologi.⁵

Berdasarkan kandungan dan potensi daun salam dapat mengakibatkan efek toksik pada hepar, studi ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) dosis toksik terhadap gambaran histopatologi hepar tikus galur wistar.

BAHAN DAN METODE

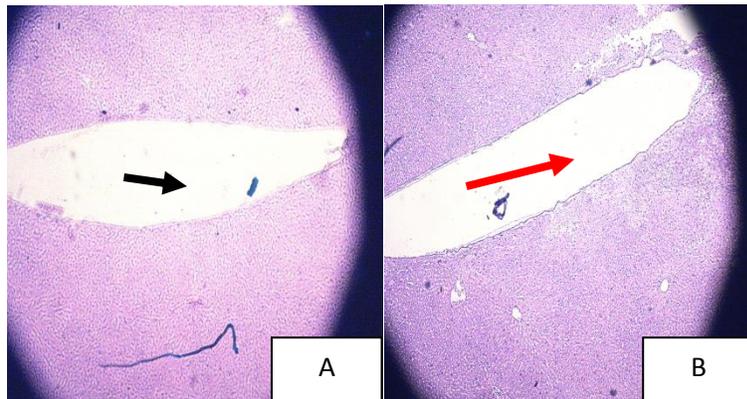
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design* menggunakan tikus wistar jantan sebagai sampel dan daun salam sebagai bahan yang akan digunakan. Jumlah sampel sebanyak 25 ekor, sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 5 ekor sebagai kontrol (Aquadest), 5 ekor sebagai perlakuan 1 (Infusa daun salam 33,6 mg/kgBB), 5 ekor sebagai perlakuan 2 (Infusa daun salam 67,2 mg/kgBB), 5 ekor lagi sebagai perlakuan 3 (Infusa daun salam 134,4 mg/kgBB), dan 5 ekor lagi sebagai perlakuan 4 (Infusa daun salam 268,8 mg/kgBB). Infusa daun salam diberikan secara peroral selama 7 hari berturut-turut, setelah sebelumnya tikus di inkubasi.

Pada hari ke-8 dilakukan pengambilan organ hepar dan dibuat preparat histologi dengan pewarnaan H&E kemudian diamati sel hepatosit pada perbesaran lensa objektif 40x sebanyak masing – masing 10 lapang pandang di bagian vena cava dan vena porta dengan menggunakan alat bantu *stereo microscope* dan menggunakan fasilitas pengukuran *length* pada aplikasi *AxioVision* Rel.4.8. Hasil pengukuran data tiap kelompok kemudian dianalisis secara statistis menggunakan program spss 20 dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

HASIL

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.)

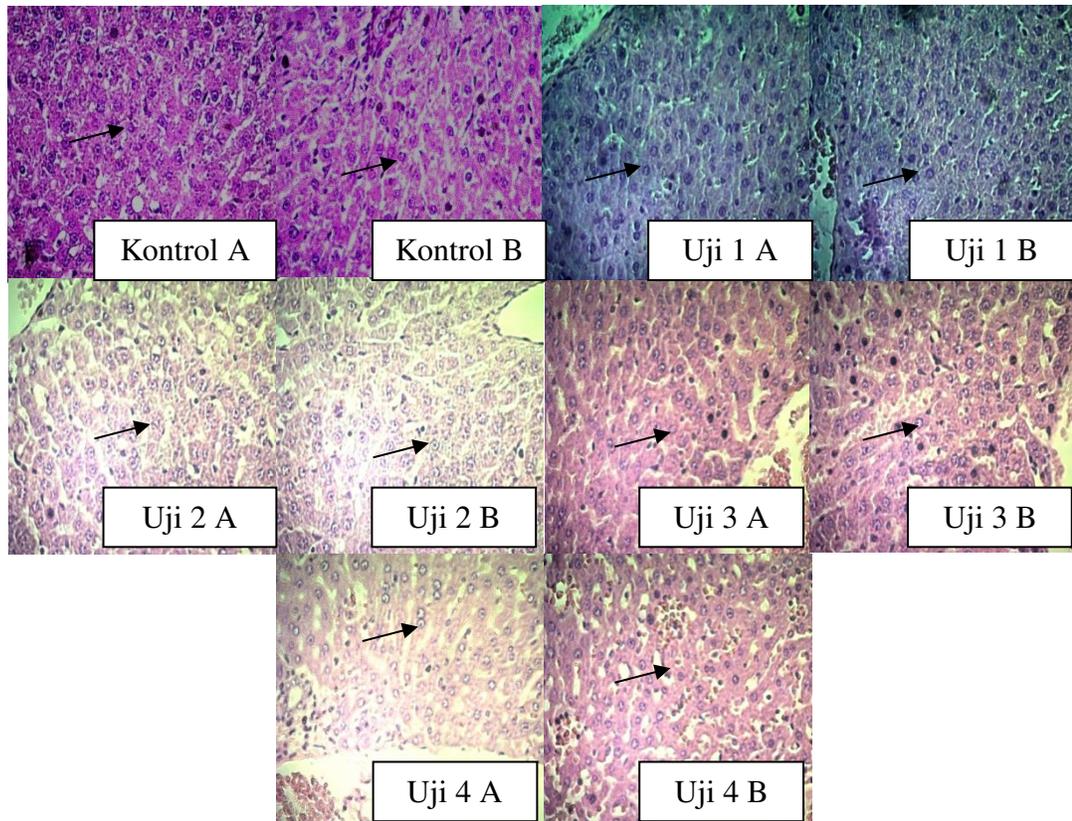
No	Pemeriksaan	Hasil	Keterangan
1	Flavonoid	+	(+): Warna kuning
2	Alkaloid	+	(+): Endapan putih
3	Saponin	+	(+): Terbentuk buih
4	Tanin	+	(+): Warna biru tua
5	Terpenoid	+	(+): Warna merah bata



Gambar 1. Gambaran pembuluh darah vena cava dan vena porta. Struktur histologis yang dapat diamati pada pembesaran 4x yaitu adalah pembuluh darah vena cava (panah hitam) , pembuluh darah vena porta (panah merah). Bagian yang diambil pada pembuluh darah cava (A) dan bagian yang diambil pada pembuluh darah vena porta (B). HE; perbesaran objektif 4x.

Pada tabel 1. Dapat dilihat hasil skrining fitokimia dimana didapat kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid hal tersebut sesuai dengan buku Acuan Sediaan Herbal yang dikeluarkan oleh BPOM (2006) dimana kandungan senyawa sekunder daun salam mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid.

Pada gambar 1. Dapat dilihat bahwa sediaan berasal dari hepar tikus yang diambil pada 2 pembuluh darah yaitu pembuluh darah vena cava (panah hitam) dan pembuluh darah vena porta (panah merah). Pada perbesaran objektif 4x tidak didapatkan kerusakan sel hepatosit.

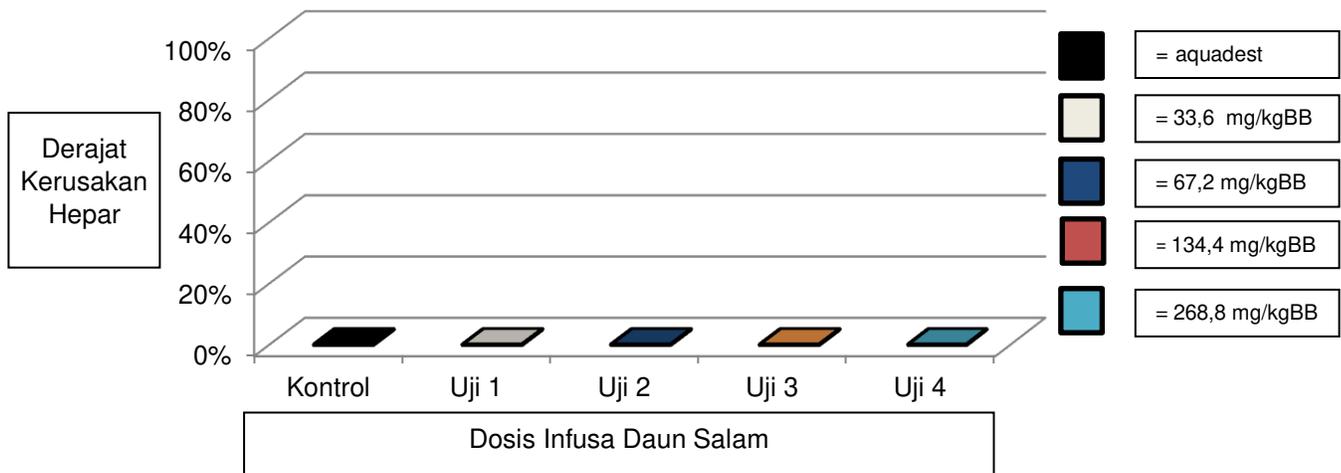


Gambar 2. Gambaran histologi jaringan hepar. Struktur histologis yang dapat diamati pada pembesaran 40x yaitu adalah struktur sel-sel hepatosit. Pada seluruh kelompok tidak didapatkannya derajat kerusakan sel hepatosit hepar tikus. Kelompok kontrol A dan B (Aquadest), kelompok Uji 1A dan 1B (33,6mg/kgBB), kelompok Uji 2A dan 2B (67,2mg/kgBB), kelompok Uji 3A dan 3B (134,4mg/kgBB), kelompok Uji 4A dan 4B (268,8mg/kgBB). Struktur sel hepatosit normal setelah perlakuan dapat dilihat pada (panah hitam) yang ditunjuk. HE; perbesaran objektif 40x.

Pada gambar 2. dilihat jaringan hepar dengan perbesaran 40x pada kelompok kontrol A dan B di mana pada kelompok normal hanya diberikan

makanan dan minuman standar . Pada kelompok uji 1 A dan B diberikan makanan standar dan di sonde infusa daun salam dosis 33,6 mg/kgBB selama 7 hari berturut-turut. Pada kelompok uji 2 A dan B diberikan makanan standar dan minuman berupa infusa daun salam dosis 67.2 mg/kgBB selama 7 hari berturut-turut. Pada kelompok uji 3 A dan B diberikan makanan standard dan minuman berupa infusa daun salam dosis 134,4 mg/kgBB selama 7 hari berturut-turut. Pada kelompok uji 4 A dan B diberikan makanan standard dan minuman berupa infusa daun salam dosis 268,8 mg/kgBB selama 7 hari berturut-turut. Setelah dilakukan pengamatan tidak ditemukan kerusakan sel hepatosit yang ditandai dengan tidak ditemukan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik , degenerasi lemak, maupun nekrosis pada seluruh kelompok uji.

Tabel 2. Analisis Derajat Kerusakan Hepar



Gambar 3. Kurva skoring kerusakan hepatosit. Setelah diberikan perlakuan tidak terjadi kerusakan sel-sel hepatosit pada kelompok kontrol maupun kelompok uji.

Pada saat melakukan perhitungan analisis data dengan menggunakan program *SPSS 20* didapatkan hasil bahwa dosis yang diberikan tidak

mempengaruhi derajat kerusakan hepar, itu dapat dilihat pada gambar diatas, menunjukkan hasil 0 dan ini menyatakan tidak terjadi kerusakan sel-sel hepar, dan tidak terjadi perubahan sel-sel hepatosit pada kelompok kontrol maupun kelompok uji.

PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan mikroskopik preparat jaringan hepar tikus dapat dilihat pada gambar 1 dan 2 . Struktur mikroskopik hepar normal berupa sel-sel hepatosit yang membentuk lempeng tersusun radier dari vena sentralis. Bentuk sel hepatosit polihedral dengan sitoplasma asidofilik, nukleus sel besar, bulat dan vesikuler dengan nukleolus yang menonjol. ⁶

Uji toksisitas akut dilakukan dengan cara mengamati sediaan preparat jaringan hepar tikus. Pengamatan preparat dilakukan dengan perbesaran objektif 40x untuk menilai kerusakan hepatosit akibat pemberian infusa daun salam yaitu dengan membandingkan hepatosit normal dengan hepatosit yang rusak. Kerusakan hepatosit yang dinilai meliputi degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan nekrosis.

Degenerasi hidropik merupakan suatu jejas reversibel yang terjadi sebagai respon terhadap cedera nonletal. Hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik memiliki ciri-ciri berupa pembengkakan hepatosit, vakuolisasi sitoplasma, penggumpalan filamen intermediet, pembengkakan mitokondria, dan *blebbing* membran sel. Apabila menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin degenerasi hidropik tampak sebagai bentuk membran plasma yang membulat, sitoplasma jernih, dan gumpalan material sitoplasma eosinofilik yang sebenarnya merupakan gumpalan filamen intermediet. Bahan-bahan toksik dapat menyebabkan degenerasi hidropik umumnya melalui peningkatan permeabilitas membran plasma terhadap natrium, dengan merusak pompa natrium-kalium ATPase pada membran atau dengan mengganggu sintesis ATP sehingga pompa tersebut tidak memperoleh

bahan bakar. Hepatosit mengalami degenerasi hidropik diduga terjadi karena terdapat gangguan pompa natrium-kalium pada membran sel akibat peroksidasi lipid membran, sehingga terjadi kondisi hipernatremia di dalam sel yang menyebabkan masuknya air ke dalam sel sehingga terjadi degenerasi hidropik.⁷

Degenerasi lemak atau steatosis merupakan akumulasi droplet lemak trigliserida di dalam hepatosit, yang dapat berupa gambaran adanya droplet kecil-kecil yang banyak. Hepatosit yang mengalami degenerasi lemak tampak sebagai sel yang memiliki vakuola kecil (mikrovesikular) di sitoplasmanya pada tahap awal dan akan berkembang menjadi vakuola yang berukuran lebih besar (makrovesikular) dikarenakan ketidakmampuan jaringan non lemak memetabolik sejumlah lemak sehingga menekan nukleus ke tepi.⁷

Nekrosis merupakan kematian sel yang meliputi terjadinya pembengkakan sel, vakuolisasi, karyolisis, dan pelepasan isi sel.⁴³ Nekrosis biasanya disebabkan karena stimulus patologis (cedera mekanis dan perubahan suhu). Jaringan nekrosis melibatkan perubahan sitoplasma dan inti menuju kematian sel. Biasanya inti sel yang mati menyusut, batas tidak teratur dan berwarna gelap, proses ini disebut piknosis. Inti dapat hancur dan meninggalkan pecahan-pecahan kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini disebut karyoreksis. Inti sel yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang, proses ini disebut karyolisis.⁸

Pada penelitian saat ini tidak ditemukan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik, maupun degenerasi lemak. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ngestiningsih (2012) menjelaskan bahwa dosis daun salam 9,6 mg/kgBB pada mencit tidak menimbulkan efek toksik pada hepar, Hal tersebut kemungkinan terjadi karena didalam tubuh terdapat hepar yang mempunyai fungsi yaitu fungsi pertahanan tubuh dimana hepar berfungsi dalam proses fagositosis dan imunitas, dimana yang berperan dalam hal ini

adalah sel Kupffer, yang merupakan saringan penting bagi bakteri dan bahan-bahan asing melalui proses fagositosis.⁹ Selain itu hepar juga berfungsi sebagai pusat detoksifikasi tubuh terhadap berbagai macam bahan seperti bakteri, virus, parasit, zat racun, logam berat dan obat over dosis. Kemampuan hepar untuk melakukan detoksifikasi dari bahan berbahaya tersebut karena hepar juga mengandung antioksidan dengan berat molekul rendah dan enzim yang merusak kelompok oksigen reaktif (ROS).¹⁰

Detoksifikasi adalah proses alami tubuh untuk menetralkan dan mengubah bentuk racun (toksin) dalam tubuh agar racun tersebut dapat dibuang ke luar tubuh. Organ tubuh yang berfungsi untuk membuang racun antara lain hepar (lever), ginjal, usus besar, paru-paru, dan kelenjar keringat di kulit. Detoksifikasi adalah proses penyaringan toksin dari sel-sel tubuh, organ, dan aliran darah; yang dilanjutkan dengan proses pembuangan (pembersihan) toksin dari dalam tubuh. Jika kedua proses itu berlangsung dengan baik, maka kesehatan yang baik akan tercapai. Namun jika toksin terus bertambah dan menumpuk di dalam tubuh, dan organ-organ tersebut tidak mampu mengeliminasi, maka penyakit kronis akan muncul.¹⁰

Dalam hepar zat kimia berbahaya dirubah menjadi tidak berbahaya dengan bantuan enzim Cytochrome P-450. Selama proses ini, dihasilkan radikal bebas, yang bila berlebih akan merusak sel-sel hepar. Kecukupan antioksidan (vitamin C, E, beta karotin, dll) sangat diperlukan untuk mengurangi kerusakan akibat radikal bebas. Vitamin seperti riboflavin, niacin, dan mineral seperti magnesium, besi dan seng dapat mendukung aktifitas sistem enzim pada phase ini. Sistem enzim P-450 dapat rusak karena banyaknya racun yang masuk kedalam tubuh.¹¹

Pada hepar zat kimia beracun ditambahkan substansi lain seperti (*cysteine, glycine* atau molekul sulfur) untuk dirubah menjadi molekul yang tidak berbahaya sehingga larut air dan dengan mudah dikeluarkan dari dalam tubuh melalui cairan seperti cairan empedu atau urin. Asam amino seperti

taurine , *cysteine*, *glycine*, *glutamine*, dan vitamin seperti *choline* dan *inositol* dibutuhkan bagi efisiensi detoksifikasi. Glutathione sebagai antioksidan dan pelindung hepar juga dibutuhkan untuk mendukung sistem enzim yang diperlukan dalam fase ini.

Menurut Prasetiawan (2013) , kandungan terpenoid dapat menyebabkan kerusakan hepar, namun pada penelitian ini tidak terjadi kerusakan hepar. Hal ini dapat disebabkan kandungan zat kimia sekunder berupa terpenoid yang terdapat dalam daun salam sedikit. Pada penelitian Sulistiyani (2014) kandungan flavonoid berlebih dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel. Daun salam dinyatakan tidak merusak hepar dan aman dikonsumsi sampai dengan dosis 15.052,8 mg/kgBB pada manusia.

KESIMPULAN

Berdasarkan data, analisa dan pembahasan dalam penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Infusa daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid.
2. Tidak ditemukan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan nekrosis sehingga daun salam aman dikonsumsi pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2006. Acuan Sediaan Herbal. Volume kedua edisi pertama. Jakarta.
2. Giri, LN. Potensi antioksidasi daun salam: kajian In Vivo pada tikus hiperkolesterolemia dan hiperglikemia. Program Studi Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor . Bogor. 2008.

3. Michael RP. Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver.[Abstract]. *Experimental Biology and Medicine* 231. 2006. p 1287 – 99.
4. Dewoto HR, Wardhini S. Vitamin dan mineral. Dalam : Ganiswara SG, editor. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1995: 714-37.
5. Soemardji. Toksisitas akut dan penentuan LD₅₀ oral ekstrak air daun gandarusa pada mencit swiss webster. Bandung. Departemen Farmasi FMIPA ITB . 2002.57-62.
6. Burt, AD, Portmann BC, Ferrel LD.. *MacSween's Pathology of the Liver*, Ed-6. China : Elsevier; 2012: 55-60.
7. Heirmayani. Toksikopatologi hati mencit (*Mus musculus*) pada pemberian parasetamol [Skripsi]. Bogor, Institut Pertanian Bogor; 2007.
8. Riantama, RI. Kajian patologi uji khasiat buah merah (*Pandanus conoideus*) sebagai hepatoprotektor [Skripsi]. Bogor, Institut Pertanian Bogor; 2008.
9. Kujovich JL. *Hemostatic defects in end stage liver disease*. *Journal Critical Care Clinic*. (21); 2005: 563-587.
10. Arief S. 2007. Radikal bebas. Surabaya: Bagian/SMF Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR/RSU Dr. Soetomo.
11. Zimmerman HJ. 1982. Chemical hepatic injury and its detection. In: *Toxicology of the Liver*. Eds. GL. Plaa and WR.Hewitt. New York :Raven Press.