

GAMBARAN HISTOLOGIS HEPAR MENCIT (*Mus musculus* L.) STRAIN DDW SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK N-HEKSAN BUAH ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) SELAMA MASA PRA IMPLANTASI DAN PASCA IMPLANTASI

Eka Prasetiawan¹, Erita Sabri² dan Syafruddin Ilyas²

¹ Mahasiswa Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara; ² Staf Pengajar Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara Jalan Bioteknologi No. 1 Kampus USU Padang Bulan Medan, Sumatera Utara 20155 E-mail: Prasetya_aBbay@yahoo.com

Abstract

Liver histological features of DDW mice (*Mus musculus* L.) treated with n-hexane extract of Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) fruit during pre- and post-implantation has been studied in Laboratory of Animal Structure, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, University of Sumatera Utara, Medan. Experiment used completely randomized design (CRD) consisted of 2 periods of treatment: pre-implantation (day 0-3; group A) and post-implantation (day 6-14; group B). For each group, mice were treated daily by oral gavage with 0, 1, 2, 4, or 6 % of andaliman extract in 0.3 ml of 1% CMC. The result showed, liver in treatment groups was pale and showed mottled surface texture. Hepatocyte damage in post-implantation group was higher than in pre implantation group ($p > 0.05$). We concluded that n-hexane extract of andaliman fruit appears to negatively affect liver histology of mice.

Keywords: liver histology, andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.), post implantation, pre implantation

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara pusat keragaman genetika dari tumbuhan rempah-rempah. Rempah-rempah selain digunakan sebagai obat-obatan tradisional, juga digunakan sebagai bumbu masakan untuk memberikan cita rasa dan membangkitkan selera makan. Salah satu jenis rempah-rempah tersebut adalah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). Buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) termasuk jenis rempah-rempah tradisional dan mempunyai aroma yang khas, seperti jeruk (Sukresnowati *et al.*, 2008). Buahnya mengandung senyawa aromatik dengan rasa pedas dan getir yang khas. Jika dimakan meninggalkan efek menggetarkan alat pengecap dan menyebabkan lidah terasa kebal

Sebagai rempah andaliman memiliki keistimewaan bahwa masakan khas Batak yang menggunakan andaliman umumnya memiliki daya awet yang lebih lama. Oleh karena itu, andaliman diduga mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba dan antioksidan.

Disamping itu, andaliman juga digunakan untuk menghilangkan bau amis dari ikan dan daging mentah (Sukresnowati *et al.*, 2008).

Konsumsi andaliman sangat berhubungan erat dengan proses pencernaan dalam tubuh. Hal ini berdasarkan atas pernyataan Gamiswarna *et al.*, (1995), bahwa secara farmakokinetik, setiap obat yang masuk ke dalam tubuh mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi. Demikian pula dengan andaliman akan diabsorpsi oleh usus, kemudian mengalami metabolisme di hepar. Diketahui hepar merupakan organ pertama yang dicapai oleh obat-obatan dan zat lain yang diabsorpsi usus melalui vena porta, sehingga disebutkan bahwa hepar adalah tempat utama metabolisme dan detoksifikasi obat. Penumpukan bahan-bahan toksik dalam parenkim hati dapat melukai sel hepatosit dan menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis yang bervariasi (Himawan, 1992).

Sejauh ini belum diketahui pengaruh senyawa buah andaliman terhadap sistem pencernaan terutama hepar. Sehingga perlu dilakukan

penelitian untuk mengetahui efek dari pemanfaatan buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) dengan konsentrasi dan interval waktu yang berbeda terhadap gambaran histologis hepar mencit (*Mus musculus* L.) strain DDW.

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 2 kelompok berdasarkan perbedaan konsentrasi dan interval waktu pemberian perlakuannya, yaitu kelompok pra implantasi 0-3 hari (A) dan kelompok pasca implantasi 6-14 hari (B). Masing-masing kelompok terdiri atas 5 perlakuan, yaitu perlakuan ekstrak n-heksan buah andaliman; perlakuan P₁ (2%), P₂ (4%), P₃ (6%) K0 (kontrol blank) dan KP (CMC 1%). Masing-masing perlakuan dan kontrol terdiri atas 6 ekor hewan uji sebagai ulangan.

Buah andaliman kering sebanyak 1000 gram diblender hingga menjadi simplisia. Selanjutnya dibuat ekstrak dengan metode maserasi dengan direndam dalam N-Heksan sebanyak 1000 ml selama 1 malam. Hasil maserasi diperkolasi sampai diperoleh cairan bening. Hasil perkolasi dipekatkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak andaliman tidak larut dalam air, maka untuk mendapat campuran yang homogen digunakan suatu pelarut yaitu CMC dengan konsentrasi 1% (1 mL CMC dilarutkan dalam 100 mL *aquadest*) sehingga dihasilkan ekstrak yang diinginkan. Lalu dibuat dosis yang telah dimodifikasi yaitu 2%, 4% dan 6% yang dilarutkan dalam 1% CMC.

Pemberian bahan uji dilakukan pada mencit betina (*Mus musculus* L.) Strain DDW yang sedang hamil dengan menggunakan jarum *gavage* sebanyak 0,3 mL/mencit/hari. Pada kelompok A diberikan selama masa pra implantasi 0-3 hari kebuntingan dan dibedah pada hari ke 3 kehamilan. Sedangkan pada kelompok B diberikan selama masa pasca implantasi 6-14 hari kebuntingan dan dibedah pada saat mencapai 18 hari kebuntingan. Organ hati dan diamati gambaran morfologinya meliputi warna dan tekstur permukaan hepar. Organ hati lalu dicuci dalam larutan fisiologis, dimasukkan ke dalam larutan Bouin dan dibuat preparat histologis.

Preparat histologis hati diamati di bawah mikroskop cahaya dalam lima lapangan pandang yang berbeda, dengan perbesaran 400 kali. Setiap lapangan pandang dihitung 20 sel secara acak sehingga dalam 1 preparat tersebut teramati 100 sel hati. Kemudian dihitung rerata bobot skor perubahan histopatologi hepar dari lima lapangan pandang dari masing-masing mencit dengan model *Skoring Histopathology Manja Roenigk*. Kemudian dicatat dan dihitung jumlah persentase kerusakan yang terjadi.

Tabel 1. Kriteria penilaian derajat histopatologi sel hepar model *Skoring Histopathology Manja Roenigk*.

Tingkat Perubahan	Nilai
Normal	1
Degenerasi parenkimatosa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

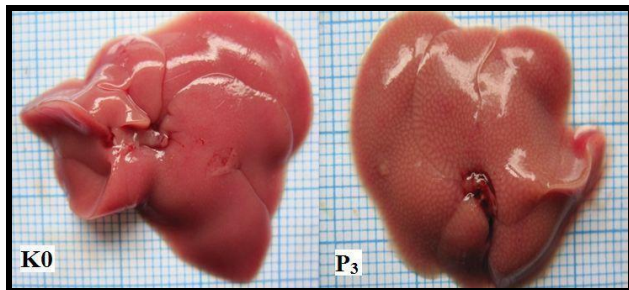
Data yang didapat dari setiap parameter pengamatan dicatat dan disusun ke dalam bentuk tabel. Data diuji kemaknaannya terhadap pengaruh kelompok perlakuan dengan bantuan program *SPSS release 15*.

Hasil dan Pembahasan

a. Gambaran Morfologi Hepar Mencit

Hasil pengamatan terhadap gambaran morfologi hepar mencit (Gambar 1; Tabel 2) menunjukkan bahwa pada perlakuan K0A dan K0B tidak ditemukan adanya perubahan pada warna dan permukaan hepar. Sebaliknya, pada perlakuan KPA, KPB, PA₁, PB₁, PA₂, PB₂, PA₃, dan PB₃ ditemukan adanya perubahan seperti hepar pucat dan hepar dengan permukaan berbintik. Menurut Robins & Kumar (1992), hati yang normal memiliki permukaan rata dan halus serta berwarna merah kecoklatan, sedangkan hati yang abnormal memiliki permukaan seperti berupa jaringan ikat, kista maupun bintik-bintik dan mengalami perubahan warna. Perubahan morfologis hepar yang terjadi diduga diakibatkan oleh senyawa terpenoid dan steroid yang terkandung dalam ekstrak n-heksan buah andaliman. Sebagaimana yang dikatakan Indriani (2007) bahwa steroid banyak ditemukan di alam, yaitu pada tumbuhan dan hewan. Steroid pada jaringan tumbuhan disebut sitosterol yang biasanya terdapat pada lapisan lilin daun yang berfungsi sebagai pelindung tanaman dari serangan serangga

(insektisida). Selain itu, perbedaan konsentrasi ekstrak yang diberikan dengan intensitas pemberian yang berbeda juga dapat berpengaruh



Gambar 1. (a) Morfologi Hepar Mencit Setelah Pemberian Ekstrak N-Heksan Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) (a) Hepar normal dengan warna merah kecoklatan (b) Hepar abnormal dengan warna pucat dan permukaan berbintik

Tabel 2. Data Morfologi Hepar Mencit Setelah Pemberian Ekstrak N-Heksan Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

Kelompok	Perlakuan	Pengamatan	
		Warna (%)	Permukaan (%)
Pra Implantasi 0-3 Hari	K0A	100 (N)	100 (N)
	KPA	83,33 (N)	83,33 (N)
		16,67 (A)	16,67 (A)
	PA ₁	50 (N)	66,66 (N)
		50 (A)	33,33 (A)
	PA ₂	50 (N)	66,66 (N)
		50 (A)	33,33 (A)
Pasca Implantasi 6-14 Hari	PA ₃	33,33 (N)	50 (N)
		66,66 (A)	50 (A)
	K0B	100 (N)	83,33 (N)
			16,67 (A)
	KPB	83,33 (N)	83,33 (N)
		16,67 (A)	16,67 (A)
	PB ₁	50 (N)	50 (N)
		50 (A)	50 (A)
	PB ₂	50 (N)	66,66 (N)
		50 (A)	33,33 (A)
	PB ₃	33,33 (N)	33,33 (N)
		66,66 (A)	66,66 (A)

Keterangan:

Warna : Normal (N) dan Abnormal (A)

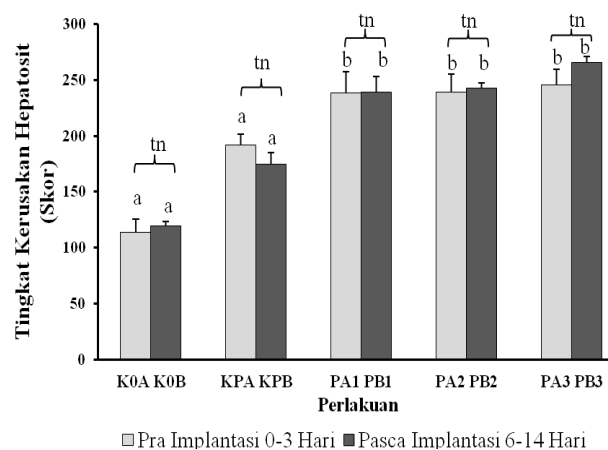
Permukaan : Normal (N) dan Abnormal (A)

terhadap kondisi morfologi hepar. Menurut Astusti *et al.*, (2006), jika intensitas paparan suatu zat terhadap suatu organ ditingkatkan maka akan

menimbulkan perubahan morfologis dan fungsi, perubahan tersebut umumnya bersifat *reversible*.

b. Tingkat Kerusakan Hepatosit Mencit

Hasil analisis terhadap tingkat kerusakan hepatosit pada kelompok pemberian Pra Implantasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Dimana antara PA₁ (238,16), PA₂ (239,11), dan PA₃ (245,77) menunjukkan perbedaan nyata terhadap peningkatan kerusakan hepatosit bila dibandingkan dengan KPA (191,55) dan K0A (113,83). Sedangkan pada kelompok pemberian Pasca Implantasi 6-14 Hari menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Nilai kerusakan pada masing-masing perlakuan; PB₁ (239,05), PB₂ (242,49), dan PB₃ (265,89) menunjukkan perbedaan nyata terhadap peningkatan kerusakan hepatosit bila dibandingkan dengan KPA (174,50) dan K0A (119,83). Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Tingkat Kerusakan Hepatosit Antara Kelompok Pra Implantasi (A) dan Pasca Implantasi (B). K0 = kontrol blank; KP = kontrol pelarut CMC 1%; P₁, P₂, dan P₃ = ekstrak n-heksan buah andaliman masing-masing konsentrasi 2%, 4%, dan 6%. Huruf yang sama pada perlakuan yang berbeda menyatakan tidak berbeda nyata pada taraf 5%. (tn = p>0,05)

Berdasarkan Gambar 2 tersebut di atas dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak n-heksan buah andaliman selama masa pra implantasi 0-3 hari sudah mempengaruhi tingkat kerusakan hepatosit. Peningkatan kerusakan hepatosit yang terjadi kemungkinan besar diakibatkan oleh senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak n-heksan buah andaliman seperti steroid, yang menurut Indriani (2007) bahwa steroid banyak ditemukan

di alam, yaitu pada tumbuhan dan hewan. Steroid pada jaringan tumbuhan disebut dengan sitosterol yang biasanya terdapat pada lapisan lilin daun yang berfungsi sebagai pelindung tanaman dari serangan serangga (insektisida).

Hasil uji statistik terhadap perbandingan tingkat kerusakan hepatosit setelah diberikan ekstrak n-heksan buah andaliman antara kelompok pemberian selama masa pra implantasi 0-3 hari dan pasca implantasi 6-14 hari menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Akan tetapi terjadi peningkatan kerusakan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak dan lamanya waktu pemberian. Hal ini berarti, senyawa yang dikandung dalam ekstrak n-heksan buah andaliman yang umumnya merupakan senyawa steroid dan terpenoid, sehingga memungkinkan terjadinya kerusakan hepar, disebabkan oleh paparan senyawa steroid dan terpenoid yang intensitas pemberiannya cukup lama. Hal tersebut didukung oleh penelitian Wijaya *et al.*, (1999) bahwa senyawa yang paling banyak dikandung dalam ekstrak andaliman adalah terpenoid. Menurut Robbinson (1995), bahwa senyawa terpenoid dapat digunakan sebagai insektisida dan berdaya racun terhadap hewan tinggi.

Kerusakan hepar karena zat toksik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis zat kimia, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut seperti akut, subkronik atau kronik. Semakin tinggi konsentrasi suatu senyawa yang diberikan maka respon toksik yang ditimbulkan semakin besar. Kerusakan hepar dapat terjadi segera atau setelah beberapa minggu sampai beberapa bulan. Kerusakan dapat berbentuk nekrosis hepatosit, kolestasis, atau timbulnya disfungsi hepar secara perlahan-lahan (Amalina, 2009).

Hepatotoksitas akibat senyawa kimia merupakan komplikasi potensial yang hampir selalu ada pada setiap senyawa kimia yang diberikan karena hepar merupakan pusat disposisi metabolik dari semua obat dan bahan asing yang masuk termasuk andaliman. Sebagaimana yang dinyatakan Robins & Kumar (1992) bahwa kerusakan sel hepar jarang disebabkan oleh suatu substansi secara langsung, melainkan seringkali oleh metabolit toksik dari substansi yang bersangkutan.

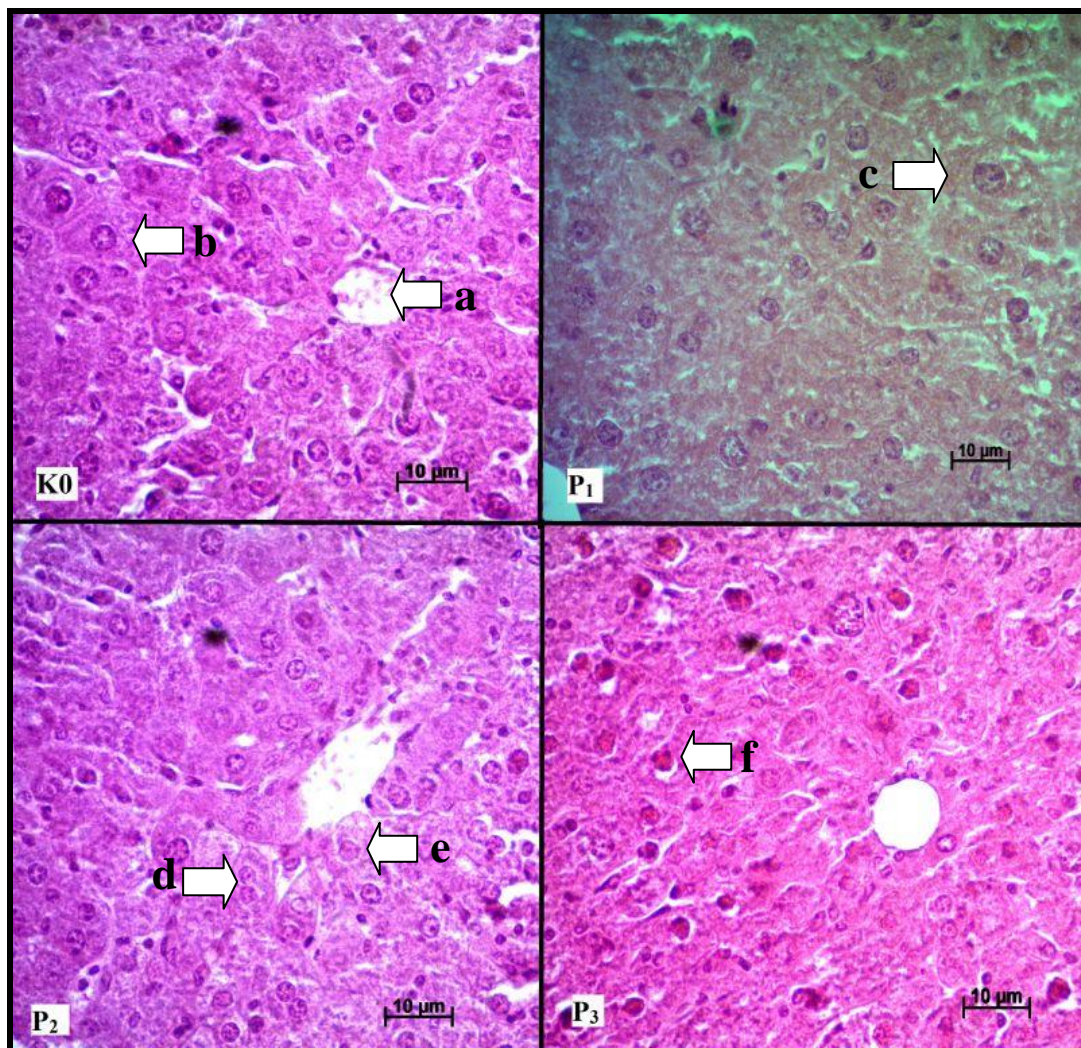
Hati merupakan organ paling sering rusak (Lu 1995). Karena metabolisme obat/ berbagai senyawa terutama terjadi dalam hati, sehingga kemungkinan terjadinya kerusakan organ ini menjadi sangat besar (Powel & piper, 1989). Apabila proses metabolisme tidak berjalan dengan normal, maka akan menimbulkan berbagai penyakit, salah satunya adalah penyakit yang terjadi di hepar. Sel-sel yang terdapat di hati akan terdeposit sehingga akan mengalami perubahan (Jayanti, 2011). Selain itu, hepar juga mempunyai kemampuan untuk mengeluarkan toksikan dengan kapasitasnya yang lebih tinggi dalam proses biotransformasi toksikan. Akan tetapi paparan oleh berbagai bahan toksik secara berlebih dapat menyebabkan kerusakan hepar.

c. Gambaran Mikroskopis Hepatosit

Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap gambaran mikroskopis hepar yang diberi perlakuan ekstrak n-heksan buah andaliman pada masa pra implantasi 0-3 hari dan masa pasca implantasi 6-14 hari ditemukan adanya hepatosit normal dan hepatosit yang mengalami perubahan berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis.

Menurut Bhara (2004), kerusakan hepar berhubungan erat dengan perdarahannya dan suatu susunan unit yang lebih kecil yaitu asinus hepar, yang merupakan konsep terbaru dari unit fungsional hepar terkecil. Hepatosit merupakan sel dengan bentuk polihedral yang mempunyai permukaan 6 atau lebih, dengan membran sel yang jelas dan inti bulat di tengah.

Menurut Robins & Kumar (1992), kerusakan hepar akibat senyawa kimia ditandai dengan lesi biokimiawi yang memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur. Beberapa perubahan struktur hepar akibat senyawa kimia yang dapat tampak dalam pengamatan mikroskopis seperti, radang, fibrosis, degenerasi, dan nekrosis. Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti sel yang mati terlihat lebih kecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat. Inti menjadi lebih padat dan kemudian sel menjadi eosinofilik (kariolisis) (Kasno, 2003).



Gambar 3. Gambaran Mikroskopis Hepatosit Setelah Pemberian Ekstrak N-Heksan Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) dengan Pewarnaan HE dan Perbesaran 400X. a. Vena Centralis, b. Sel Hepatosit Normal, c. Degenerasi Parenkimatososa, d. Binuklear, e. Degenerasi Hidropik, f. Nekrosis

Menurut Cheville (1999 dalam Wardanela, 2008), meskipun nekrosis sel hati juga terjadi pada kelompok kontrol namun tidak termasuk dalam kejadian patologi karena dalam keadaan normal nekrosis juga dapat terjadi.

Disimpulkan, ekstrak n-heksan buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang

diberikan selama masa pra implantasi 0-3 hari dan pasca implantasi 6-14 hari berpengaruh negatif terhadap hepar mencit (*Mus musculus* L.) strain DDW berupa perubahan warna dan tekstur permukaan hepar, serta peningkatan kerusakan hepatosit.

Daftar Pustaka

Amalina, N. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (Valeriana Officinalis) Terhadap Hepar Mencit Balb/C*. Karya Tulis Ilmiah.

Semarang: Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro.
Astuti, U.N.W., Dewi, R., Siska, H., Susilo, H.S.
2006. *Pemanfaatan Mindi (Melia*

- azedarach L.) Sebagai Anti Parasit Trypanosoma evansi Dan Dampaknya Terhadap struktur Jaringan Hepar Dan Ginjal Mencit.* Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM. hlm. 293.
- Bhara, M. 2004. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari Terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Wistar. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah. Semarang: FK Universitas Diponegoro. hlm. 22-28.
- Gamiswarna, S. G., Rianto, S., Suyatna, F. D., Purwastyastuti, dan Nafrialdi. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hlm. 2.
- Himawan, S. 1992. *Patologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 86.
- Indriani, N. 2007. *Aktivitas Antibakteri Daun Senggugu (Clerodendron serratum [L.] Spr)*. Skripsi. Bogor: IPB
- Jayanti, D.P. 2011. *Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Diet Kolesterol Terhadap Perlemakan Hati (Fatty Liver) Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Skripsi. Malang: FST Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. hlm. 38-39.
- Kasno, P. A. 2008. *Patologi Hati dan Saluran Empedu Ekstra Hepatik*. Semarang: Balai Penerbit Universitas Diponegoro.
- Lu, F. C. 1994. *Toksikologi Dasar*. Edisi Kedua. Jakarta: Universitas Indonesia Press. hlm. 206-214.
- Powell, L.W. dan Piper, D.W. 1989. *Dasar Gastroenterologi Hepatologi*, Edisi 4. Jakarta: PT.Pharos.
- Robbins, S. L. dan Kumar, V. 1992. *Buku Ajar Patologi I*. Surabaya: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 14-17.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB. hlm. 141
- Sukresnowati, Edi, S., Sri, R., Hardjono, S., dan Trenggono. 2008. *Efek Ekstrak Buah Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.) Terhadap Fotooksidasi Ikan Mas Selama Penyimpanan Dingin*. Prosiding seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia. Jakarta.
- Wardanella, M. 2008. *Studi Histopatologi Pengaruh Pemberian Enteroksin Enterobacter sakazakii Pada Mencit (Mus musculus) Neonatus*. Skripsi. FKH Institut Pertanian Bogor. hlm. 58-62.
- Wijaya, C. H. 1999. Andaliman, Rempah Tradisional Sumatera Utara Dengan Antioksidan dan Antimikroba. *Teknologi dan Industri Pangan*. 2(10): 59-61.