

## **HISTOPATOLOGI HATI MENCIT PASCA PEMBERIAN SUSPENSI KEPEL (*Stelechocarpus burahol*) SECARA INTRAGASTRIK SELAMA 14 HARI**

### ***The Histopathology of Mice Liver Treated by Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Suspension Intragastrically for 14 days***

Eva Harlina<sup>1</sup>, Siti Sa'diah<sup>2</sup>, Huda S Darusman<sup>2</sup> dan Gita Alvernita<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bagian Patologi, Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi, FKH IPB,

<sup>2</sup>Bagian Farmakologi dan Toksikologi, Departemen Anatomi,  
Farmakologi dan Fisiologi, FKH IPB,

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran Hewan IPB

Email : [evapato2006@yahoo.com](mailto:evapato2006@yahoo.com)

### **ABSTRACT**

This aim of this study was to examine the effect of Kepel (*Stelechocarpus burahol*) to the mice hepatocytes. Thirty male mice of 4 week aged were divided into three groups; control group was treated by aquadest, Dose 1x group was treated by 2.6 mg/g BW/day kepel powder (0.5 ml kepel suspension/day), and Dose 5x group was treated by 13 mg/g BW/day kepel powder (1.0 ml kepel suspension/day). The treatment was intragastrically for 14 days. The mice were euthanized and necropsy followed by the liver collection for histopathology assay. The histopathological examination of liver showed hydropic degeneration, cell death and extramedullary hematopoietic observed on mice hepatocytes. The ANOVA analysis showed that kepel caused increase significantly ( $p < 0.05$ ) of hydropic degeneration and decrease significantly ( $p < 0.05$ ) of cell death of mice hepatocytes.

**Key words:** *Stelechocarpus burahol*, hydropic degeneration, cell death, extramedullary hematopoietic

### **PENDAHULUAN**

Indonesia memiliki lebih dari 30.000 jenis spesies tumbuhan, dan 960 spesies diantaranya telah tercatat sebagai tumbuhan berkhasiat serta 283 jenis diantaranya merupakan tumbuhan yang penting bagi industri obat tradisional (Kusuma & Zaky, 2005). Salah satu tanaman asli Indonesia yang biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman khas asal Yogyakarta yang sering disebut dengan kepel (*Stelechocarpus burahol*).

Kepel merupakan tanaman berkayu yang berbuah mulai usia 6-8 tahun, buah berbentuk bulat berwarna kecokelatan dengan diameter 5-6,3 cm, berdaun lonjong berwarna hijau kehitaman dan mengkilat. Buah kepel memiliki biji yang cukup besar dibandingkan ukuran buah keseluruhannya, dan daging buah memiliki kandungan air sebesar 10% (Darusman, 2010). Kepel dikategorikan sebagai salah satu tanaman langka Indonesia yang telah digunakan secara tradisional sebagai deodoran oral bagi masyarakat Keraton, Yogyakarta. Daun kepel mengandung zat sitotoksik

bagi sel kanker (Wuart, 2007), dan mengandung senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan (Sunarni *et al.*, 2007). Bunga kepel diketahui memiliki efek antiimplantasi sehingga dapat digunakan sebagai kontrasepsi (Warningsih, 1995), sedangkan kulit batangnya diketahui sebagai antiagregasi platelet (Sunardi *et al.*, 2007). Banyaknya potensi obat yang dimiliki kepel berbanding terbalik dengan keberadaannya. Kurangnya nilai ekonomis dan hanya berbuah setahun sekali menyebabkan masyarakat kurang berminat membudidayakannya. Adanya publikasi ilmiah mengenai potensi kepel diharapkan menarik minat masyarakat untuk membudidayakan dan mengkonsumsinya.

Berdasarkan data empiris yang diperoleh dari masyarakat Keraton, mengkonsumsi 2 buah kepel setiap hari dapat memberikan efek wangi pada produk ekskresi manusia seperti keringat, urin dan feses. Hasil penelitian sebelumnya dengan pemberian intragastrik pada hewan tikus dan mencit terbukti secara signifikan mampu menurunkan kadar amonia, fenol dan trimetilamin pada feses hewan. Untuk keamanan penggunaan kepel dalam jangka waktu panjang perlu dilakukan pengamatan salah satunya pada organ hati. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari gambaran histopatologi organ hati mencit terhadap pemberian suspensi daging buah kepel karena hati merupakan organ interna pertama yang terkena efek toksik dari suatu substansi yang masuk ke dalam tubuh.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Buah kepel (*Stelechocarpus burahol*), dan mencit sebanyak 30 ekor.

### Alat

Lensa kamera Webcam<sup>®</sup> dan lensa objektif mikroskop 40x.

## Cara Kerja

Mencit dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan Dosis 1x dan Dosis 5x. Kelompok kontrol hanya dicekok akuades 0,5 mL/hari, sedangkan kelompok perlakuan dosis 1x dan dosis 5x masing-masing dicekok serbuk daging buah kepel yang dilarutkan dalam akuades (selanjutnya disebut suspensi kepel) sebanyak 2,6 mg/kg BB/hari dan 13 mg/kg BB/hari selama 14 hari. Penentuan dosis pada mencit berdasarkan hasil konversi dosis empiris pada manusia (2 buah kepel sehari) terhadap mencit, dengan faktor konversi 0,0026. Pada akhir perlakuan mencit dieuthanasi kemudian diambil hatinya untuk dibuat sediaan histopatologi dan diwarnai dengan Haematoxillin-Eosin.

Evaluasi histopatologi hati dilakukan dengan menghitung jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi hidropis dan kematian sel pada 20 lapang pandang foto. Foto histopatologi hati menggunakan lensa kamera Webcam<sup>®</sup> dan lensa objektif mikroskop 40x, sedangkan penghitungan hepatosit menggunakan software *ImageJ*. Selain itu dilakukan pula penghitungan jumlah fokus *extramedullary hematopoiesis* (EMH) pada seluruh lapang pandang hati. Hasil penghitungan hepatosit dianalisis menggunakan analisis sidik ragam acak lengkap (ANOVA) dengan uji lanjutan Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Pemberian Suspensi Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hati

Pada pengamatan seluruh sediaan histopatologi hati mencit perlakuan umumnya ditemukan kelainan hepatosit berupa degenerasi hidropis (Gambar 1a) dan kematian sel (Gambar 1b). Selain itu ditemukan pula fokus-fokus sel radang myeloblast dan eristroblast di sinusoid, di

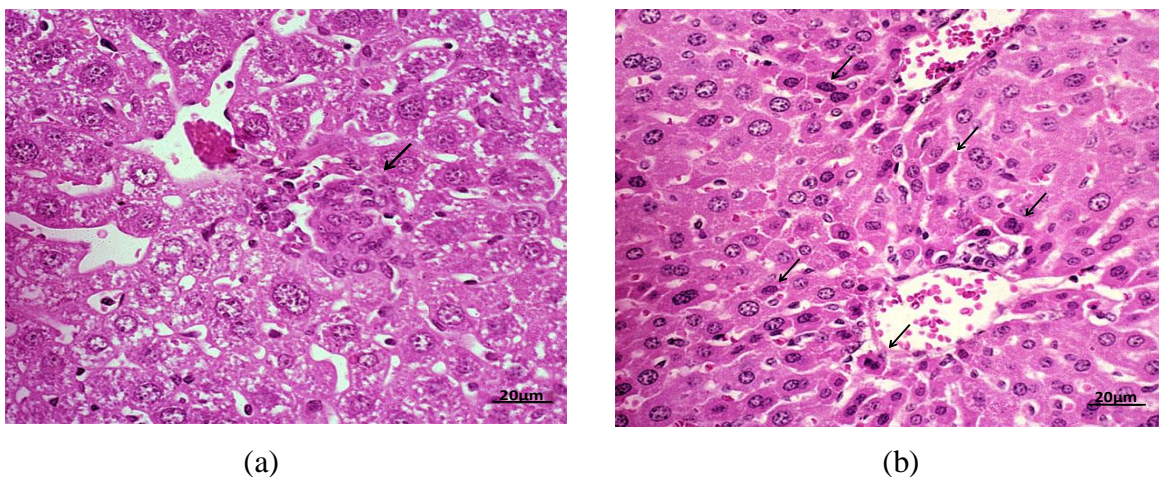
daerah segitiga Kiernan maupun di tepi-tepi vena sentralis yang disebut *extramedullary hematopoiesis* (Gambar 1a) (Marchiori *et al.*, 2007). Degenerasi hidropis ditandai dengan pembengkakan dan adanya ruang-ruang kosong di sitoplasma sehingga sitoplasma tampak seolah robek-robek, sedangkan inti tampak

normal. Kematian sel dicirikan oleh sitoplasma hepatosit yang berwarna lebih merah sedangkan inti mengecil dan memadat sehingga berwarna lebih gelap. Hasil analisis statistik persentase hepatosit menciit yang mengalami degenerasi hidropis dan kematian sel disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Persentase perubahan hepatosit menciit pasca pemberian suspensi kepel (*Stelechocarpus burahol*)**

Kelompok	Persentase (%) Hepatosit		
	Hepatosit Normal	Degenerasi Hidropis	Hepatosit mati
Kontrol	38.79 ± 15.00 <sup>a</sup>	36.05 ± 12.50 <sup>a</sup>	25.16 ± 13.57 <sup>a</sup>
Dosis 1x	36.89 ± 12.67 <sup>a</sup>	41.45 ± 13.07 <sup>b</sup>	21.66 ± 7.757 <sup>b</sup>
Dosis 5x	30.17 ± 11.73 <sup>b</sup>	57.70 ± 12.57 <sup>c</sup>	12.13 ± 6.47 <sup>c</sup>

Keterangan: Huruf berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata pada taraf  $\alpha$  0.05



**Gambar 1. Histopatologi Hati Mencit**

Keterangan: Seluruh hepatosit mengalami degenerasi hidropis disertai adanya fokus *extramedullary hematopoiesis* (tanda panah) pada hati kelompok dosis 5x (a); Kematian hepatosit yang dicirikan oleh sitoplasma berwarna lebih merah dan inti yang mengecil (tanda panah) (b). Pewarnaan HE, bar:20  $\mu$ m.

Hasil analisis statistik persentase hepatosit yang mengalami degenerasi hidropis pada kelompok perlakuan (dosis 5x dan 1x) lebih tinggi dan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol, dan kelompok dosis 5x lebih tinggi dan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok dosis 1x. Peningkatan

persentase degenerasi hidropis sejalan dengan meningkatnya dosis pemberian suspensi kepel, sehingga degenerasi hidropis hepatosit disebabkan oleh pemberian suspensi kepel.

Degenerasi hidropis merupakan kerusakan sel yang disebabkan oleh iskemia yang menyebabkan kerusakan

membran sel. Iskemia juga menyebabkan penurunan fosforilasi oksidatif yang berakibat menurunkan ATP sehingga menurunkan kerja pompa Na. Adanya kerusakan membran sel menyebabkan ion  $K^+$  keluar dari sel sedangkan air, ion  $Na^+$  dan ion  $Ca^{2+}$  masuk ke dalam sel secara berlebihan sehingga mengakibatkan pembengkakan sel. Penurunan ATP juga mengakibatkan peningkatan glikolisis sehingga pH sel akan mengalami penurunan. Penurunan pH mengakibatkan benang khromatin pada inti sel menjadi menebal dan pada akhirnya menjadi rusak. Hal ini dapat menyebabkan hilangnya benang khromatin dan protein sel sehingga apabila berlanjut akan berujung pada nekrosis sel (Hanna, 2011). Degenerasi hidropis merupakan respon awal sel terhadap bahan-bahan yang bersifat toksik yang masuk ke hati melalui aliran darah. Oleh karena itu degenerasi hidropis biasanya dimulai dari hepatosit yang berada di tepi lobuler yang kemudian menyebar ke sentra lobuler (Talukder, 2001). Selain itu, degenerasi hidropis juga dapat terjadi pada hewan yang mengalami hipoksia. Pemberian oksigen yang cukup serta penghentian paparan bahan toksik dapat memulihkan sel yang mengalami degenerasi hidropis.

Kepel termasuk ke dalam famili *Annonaceae* yang memiliki satu metabolit yang khas yaitu acetogennin atau sering disebut *Annonaceous acetogennin* (ACGs) (Alali *et al.*, 1999). Menurut Liang *et al.* (2009) derivat ACGs yang paling berbahaya adalah bullatacin. Kandungan ACGs dalam daging buah kepel diduga penyebab degenerasi hidropis hepatosit.

Hasil analisis statistik persentase hepatosit yang mengalami kematian sel berbanding terbalik dengan degenerasi hidropis. Persentase kematian sel pada kelompok perlakuan (Dosis 5x dan 1x) lebih rendah dan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok kontrol, dan

kelompok dosis 5x lebih rendah dan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok Dosis 1x.

Sel mati terdiri atas sel yang mengalami apoptosis maupun nekrosis. Untuk membedakan keduanya diperlukan pewarnaan jaringan khusus menggunakan metoda imunohistokimia. Pada penelitian ini hanya menggunakan pewarnaan rutin HE (Haematoksilin-Eosin), sehingga sel dengan inti yang piknotis dan sitoplasma yang berwarna lebih eosinofilik dikategorikan ke dalam kelompok sel yang mati. Apoptosis merupakan suatu bentuk kematian sel terprogram yang bersifat aktif yang ditandai dengan adanya kondensasi kromatin dan fragmentasi kromosom. Pada kematian sel sel berperan aktif dalam proses terminasi diri dan tidak diikuti oleh peradangan. Menurut Dash (2011), kematian sel dapat terjadi akibat berbagai macam stimuli seperti ionisasi radiasi benang kromatin, infeksi virus, ekspresi gen prokematian sel melalui aktivasi enzim *caspase*, dan tekanan pada sel seperti deplesi faktor pertumbuhan, tekanan pada sitoplasma, dan radikal bebas.

Apoptosis secara normal muncul selama proses perkembangan dan penuaan sebagai mekanisme homeostasis untuk menjaga populasi sel dalam jaringan. Sekitar 10 miliar sel hati dibuat setiap harinya untuk menyeimbangkan sel-sel hati yang mengalami kematian sel, yang diistilahkan dengan regenerasi sel (Renehan *et al.*, 2001 dalam Elmore, 2007). Kematian sel juga muncul sebagai mekanisme pertahanan seperti reaksi tanggap kebal atau saat sel rusak akibat penyakit dan agen radikal bebas yang menyebabkan stress oksidatif (Norbury & Hickson 2001 dalam Elmore 2007). Menurut Kresno (2001), kematian sel merupakan upaya sel dalam menjaga homeostasis dengan mengeliminasi sel-sel yang mengalami kerusakan pada proliferasi fisiologis. Selama kematian sel

mitokondria juga mengaktifkan enzim-enzim prokematian sel seperti *caspase activator* dan *procaspase* yang dapat memicu kerusakan membran mitokondria sehingga merangsang sel melakukan kematian sel (Fleury *et al.*, 2002).

Sel nekrosis adalah sel yang telah mengalami proses patologis sehingga menyebabkan mitokondria dan sitoplasma membengkak serta robeknya dinding sel. Nekrosis pada sel dapat disebabkan oleh berbagai hal diantaranya hipoksia sehingga menyebabkan kematian sel. Sel mati karena nekrosis melibatkan sekumpulan sel yang kemudian membentuk berbagai kategori nekrosis dan mengundang reaksi radang (Cheville, 2006).

Daging buah kepel mengandung flavonoid tertinggi dibandingkan bagian buah lainnya yaitu 29,12 ppm, sedangkan standar flavonoid pada vitamin C sebesar 5,35 ppm (Tisnadjaja *et al.*, 2006). Flavonoid merupakan senyawa pigmen paling umum di dunia tanaman dan merupakan senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas (Marcheix *et al.*, 1990 dalam Tisnadjaja *et al.*, 2006). Persentase sel mati yang lebih rendah pada kelompok perlakuan (Dosis 5x dan 1x) dibandingkan kelompok kontrol diduga disebabkan oleh aktivitas senyawa antioksidan yang terkandung pada buah kepel. Secara umum antioksidan akan bekerja pada membran sel yang rusak akibat peroksidasi lemak membran oleh radikal bebas (Cheville, 2006).

Di tepi-tepi vena sentralis, vena porta dan di sinusoid ditemukan fokus-fokus sel-sel mononuklear yang disebut *extramedullary hematopoiesis* (EMH) (Gambar 1a). EMH terbentuk terutama bila hewan mengalami anemia, sehingga untuk mengatasinya sel basofilik maupun myelosit yang belum matang dilepaskan dari sumsum tulang ke dalam darah. EMH biasanya ditemukan di organ hati, limpa dan limfonodus. Fokus EMH terdiri atas

sel basofilik dan sel-sel myelosit yang belum matang maupun yang matang (NIEHS, 2011).

Anemia pada mencit percobaan dapat dikaitkan dengan kandungan tanin pada kepel. Menurut Darusman (2010), daging buah kepel mengandung senyawa tanin, walaupun jenis dan kadarnya belum diketahui. Menurut Makkar (2003) dan Herlina (2007) tanin tidak bersifat toksik namun bersifat antinutrisi. Adanya senyawa tersebut dapat mengikat protein pakan sehingga mencit mengalami hipoproteinemia yang pada akhirnya berujung pada anemia. Fokus-fokus EMH ditemukan di seluruh kelompok perlakuan, dan terbanyak pada kelompok Dosis 5x. Hal ini dikarenakan semakin tinggi dosis suspensi kepel yang diberikan maka semakin tinggi kadar tanin yang dikonsumsi sehingga mencit semakin menderita anemia.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pemberian suspensi kepel (*Stelechocarpus burahol*) menginduksi terjadinya degenerasi hidropis, kematian sel dan *extramedullary hematopoiesis* pada hati mencit.

### Saran

Perlu dilakukan uji toksisitas bertingkat hingga uji LD<sub>50</sub> dengan variabel pengujian yang lebih banyak untuk mengetahui dosis aman hingga dosis lethal dari suspensi Kepek (*Stelechocarpus burahol*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Alali, F.Q., Liu, X.X., McLaughlin, J.L. 1999. Annonaceous acetogenins: recent progress. *J. Nat. Prod.* 62:504-540.
- Cheville, N.F. 2006. Introduction to Veterinary Pathology. 3th edition. 2006. Wiley-Blackwell.

- Darusman, H.S. 2010. Aktivitas Farmakologis Tanaman Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) Sebagai Deodoran Topikal dan Oral. [Thesis]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Fleury, C., Mignotte, B., Vayssiere, J.L. 2002. Mitochondrial reactive oxygen species in signaling cell death. *Biochim* 84: 2-3. [abstrak]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030090840201369X>. [2 Oktober 2011].
- Hanna, P. 2011. Cellular pathology. [terhubung berkala]. <http://people.uepei.ca/hanna/>. [2 Oktober 2011]
- Harlina, E. 2007. Toksikopatologi dan Biotransformasi Senyawa Toksik lamtoro merah (*Acacia villosa*) pada Tikus. (Disertasi). Bogor. Institut Pertanian Bogor, Fakultas kedokteran Hewan.
- Kusuma, F.R., Zaky, M.B. 2005. *Tumbuhan Liar Berkhasiat Obat*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Liang, Y.J., Zhang, X., Dai, C.L., Zhang, J.Y., Yan, Y.Y., Zeng, M.S., Chen, L.M., Fu, L.W. 2009. Bullatacin ABCB1-overexpressing cell kematian sel via the mitochondrial dependent pathways. *J Biomed Biotechnol* [terhubung berkala]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2715821/>. [12 September 2011].
- Makkar, H.P.S. 2003. Effect and Fate of Tannin in Ruminant Animals, Adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effect of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Res* 49:241-256
- Marcheix, J.J., Fleuriet, A., Billiot, J. 1990. *Fruit Phenolics*. Boca Raton: CRC Press.
- Marchiori, E., Escuisato, D.L., Irion, K.L., Zanetti, G., Rodrigues, R.S., Meirelles, G.S., Hochegger, B. 2007. Extramedullary hematopoiesis: findings on computed tomography scans of the chest in 6 patients. *Jor. Bras. Pneum.* [terhubung berkala]. <http://www.scielo.br/scielo>. [12 September 2011].
- NIEHS. National Institute of Environmental Health Sciences. 2011. The Digitized Atlas of Mouse Liver Lesions: Extramedullary Hematopoiesis.[terhubung berkala]. <http://www.niehs.nih.gov/research/atniehs/labs/lep/path-support/core-support/liverpath/miscellaneous.cfm> [6 Oktober 2011].
- Norbury, C.J., Hickson, I.D. 2001. ( dalam Elmore 2007) Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41:367-401.
- Renehan, A.G., Booth, C., Potten, C.S. 2001. What is kematian sel, and why is it important?. *BMJ* 322:1536-8.
- Sunardi, C.S.A., Padmawinata, K., Kardono, L.B.S., Gana, A. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Kulit Batang Burahol (Stelechocarpus burahol) Terhadap sel Leukimia* [disertasi]. Bandung : Institut Teknologi Bandung,
- Sunarni, T., Pramono, S., Asmah, R. 2007. *Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (Stelechocarpus burahol)*. *Majalah Farmasi Indonesia* ; 18(3).
- Talukder, S.I. 2001. Lecture notes on pathology of hepatobiliary system. [terhubung berkala]. [http://www.talukderbd.com/lectures/hepatobiliary\\_system\\_note.pdf](http://www.talukderbd.com/lectures/hepatobiliary_system_note.pdf) [6 September 2011].
- Tisnadjaja, D., Saliman, E., Silvia, Simanjuntak, P. 2006. Pengkajian

- Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) sebagai buah yang memiliki kandungan senyawa antioksidan. *Biodiv.* 7 (2): 199-202.
- Warningsih. 1995. *Uji fitokimia dan efek antiimplantasi ekstrak etanol bunga hibiscus rosa-sinensis, buah Piper nigrum, dan buah Stelechocarpus burahol* [abstrak].
- Wuart, C. 2007. *Goniothalamus* species: A source of drugs for the treatment of cancers and bacterial infections. *eCAM.* 4(23):299-311.